



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO):  
ATIVIDADES DESENVOLVIDAS EM REPRODUÇÃO EQUINA**

**JONAS NÓBREGA SILVA**

**Recife, 2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO):  
ATIVIDADES DESENVOLVIDAS EM REPRODUÇÃO EQUINA**

Trabalho realizado como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária, sob supervisão do Médico Veterinário José Roberto Clício e orientação do Prof. Dr. Cláudio Coutinho.

**Recife, 2018**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço muito a minha mãe, Lúcia, por ter me ajudado em todos os sentidos e de todas as formas possíveis, através de conselhos, orientações e orações, durante toda essa trajetória difícil, de muita luta, onde tive que associar trabalho e estudo. Bem como agradeço a ajuda e auxílios dos meus irmãos, irmã e cunhadas (Jessé e Marina, Lucas e Fabrícia, Camila, Gustavo). De modo especial queria agradecer a minha maravilhosa esposa e companheira, Simone, por estar comigo diariamente me acompanhando, apoiando, conversando, em todos os momentos difíceis e felizes das nossas vidas. Amo-te muito meu amor! Não posso esquecer o meu primo Robson, que hoje esta nos braços de papai do céu olhando por mim.

Gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Cláudio Coutinho, por ser uma pessoa inestimável e compreensiva, uma pessoa superacessível a todos. Agradeço por ter me orientado e por abrir portas para aprender, estagiar e ter mais vivência nessa área da veterinária, a qual pretendo seguir. Agradeço aos Med. Veterinários José Roberto Clício e Eugênio Kung, por terem me recebido e ensinado abertamente todos os seus conhecimentos de anos de experiência na reprodução equina, os quais levarei e irei por em prática por toda minha vida. Agradeço aos demais veterinários autônomos, Leonardo Veiga e Rizete Campos, técnicos da UFRPE, Alcir e Joana, e todos os residentes que contribuíram com a minha formação. Além de todos os amigos que fiz durante todo o curso e que serão para **a vida toda**. Obrigado a todos!

## RESUMO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) em Medicina Veterinária tem por objetivo interligar o ensino acadêmico com a prática no campo, é neste momento que temos a possibilidade de obter uma visão técnica e abrangente da futura profissão, pois é um complemento para o nosso aprendizado acadêmico. O estágio foi realizado no período de 18 de abril a 02 de julho, somando 424 horas, as atividades foram desempenhadas na cidade de Vitória da Conquista - Bahia, com o acompanhamento reprodutivo em haras da região. Foram desenvolvidas as principais práticas da rotina de reprodução equina, como a palpação e ultrassonografia transretais, tratamentos hormonais, inseminação artificial e transferência de embrião. Foi observada a influência da sazonalidade em éguas receptoras de embrião, em virtude da baixa temperatura e luminosidade no início do inverno. Durante o estágio pudemos ter uma visão técnica e abrangente da futura profissão, pois é um complemento para o nosso aprendizado acadêmico.

**Palavras-chave:** Estágio. Reprodução Equina. Sazonalidade.

## **ABSTRACT**

The objective of mandatory supervised practice in Veterinary Medicine is connecting academic teaching with fieldwork; this is the moment that is possible to gain a technical and extensive view from the future profession because it is a complement for the academic learning. The internship was between 18 April and 2 July, \_\_\_ 424 hours, the activities were developed in Vitoria da Conquista – Bahia, by experiencing reproductive management in equine farms. Important practices from equine reproduction were developed through palpation and transrectal ultrasonography, hormonal treatments, artificial insemination and embryo transfer. Embryo recipient mares due to weather low temperatures and low luminosity of early winter were temporally out of breeding in early winter. During the internship it was possible to obtain a technical and extensive overview from the future career that is a complement for the academic knowledge.

**Key words:** Internship. Equine Reproduction. Seasonality.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Componentes da V.A, (1) Tubo Rígido, (2) Mucosa de Latex, (3) Mucosa Plástica, (4) Anéis de Latex, (5) Camisa interna, (6) Copo coletor e (7) tampa (A). V.A montada (B). .....	13
<b>Figura 2</b> - Lâmina para análise da motilidade (A) e Câmara de Neubauer para contagem espermática (B). .....	14
<b>Figura 3</b> - Palhetas envasadas (A) e geladeira com termômetro (B). .....	15
<b>Figura 4</b> - Palhetas, bandeja, racks na caixa de isopor submersos em N <sub>2</sub> (A) e botijão de N <sub>2</sub> (B). .....	16
<b>Figura 5</b> - Ilustração da técnica Intra-cornual profunda. ....	18
<b>Figura 6</b> - Sexagem fetal do macho com setas apontadas para o mediastino (A) e sexagem fetal da fêmea com setas delimitando o halo circular ecogênico (B). .....	21
<b>Figura 7</b> - Hormônio Benzoato de Estradiol (A). Imagem ultrassonográfica de edema uterino 3 (B).. .....	27
<b>Figura 8</b> - Dispositivo intravaginal de progesterona. ....	28
<b>Figura 9</b> - Imagem ultrassonográfica de útero na fase progesterônica. ....	28
<b>Figura 10</b> - Ficha de controle de embriões inovulados, indicando que a receptora recebe aplicação de P4. ....	28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Principais atividades desenvolvidas durante o ESO. ....	12
<b>Tabela 2</b> - Controle de sêmen congelado. ....	16

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Total de receptoras cíclicas e acíclicas.....	29
<b>Gráfico 2</b> - Horário do nascer e pôr do sol com horas de luz mensal. ....	30
<b>Gráfico 3</b> - Temperatura máxima, mínima e média mensal. ....	30

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

BA	Bahia
BE2	Benzoato de Estradiol
CL	Corpo Lúteo
cm	Centímetro
ESO	Estágio Supervisionado Obrigatório
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IAs	Inseminações Artificiais
LH	Hormônio Luteinizante
LUX	Lúmen
m	Metro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
N2	Nitrogênio
P4	Progesterona
PGF2 $\alpha$	Prostaglandina F-2-alfa
RPM	Rotação Por Minuto
TE	Transferência de Embrião
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
VA	Vagina Artificial
X	Vezes
$\geq$	Maior ou Igual que
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
$\mu$ g	Micrograma
$\mu$ L	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS .....</b>	<b>12</b>
2.1. COLETA DE SÊMEN .....	12
2.2. CONGELAMENTO DE SÊMEN .....	14
2.3. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	17
2.4. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO.....	19
2.5. DIAGNÓSTICOS DE PREENHEZ.....	20
2.6. SEXAGEM FETAL .....	21
<b>3. INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA CICLICIDADE DE ÉGUAS RECEPTORAS .....</b>	<b>22</b>
3.1. REVISÃO DE LITERATURA .....	22
3.1.1. Ciclo estral da égua.....	22
3.1.2. Sazonalidade .....	23
3.1.3. Melatonina .....	24
3.1.4. Fotoperíodo Artificial .....	25
3.2. RELATO DE CASO.....	26
3.3. DISCUSSÃO .....	28
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>33</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), em Medicina Veterinária, foi realizado na região sudoeste do estado da Bahia, sendo a maior parte da rotina em atendimentos a mais de 20 haras, localizados na cidade de Vitória da Conquista, Bahia (BA) e cidades vizinhas. O ESO faz parte da grade curricular do curso de Medicina Veterinária, e ocorreu durante o período de 18 de abril a 02 de julho de 2018, totalizando 424 horas.

Durante o estágio acadêmico temos a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos obtidos na graduação, é neste momento que temos uma visão técnica e abrangente da caminhada para a nossa futura profissão, pois o estágio curricular é um complemento para o aprendizado. Neste período realizamos o acompanhamento de palpções retais e exames, com aparelho ultrassonográfico, com a finalidade de diagnóstico de prenhez, acompanhamento folicular, avaliação uterina e sexagem fetal, coleta de sêmen para uso a fresco, resfriado para transporte e para congelamento.

Outra prática da rotina é a utilização de tratamentos hormonais para sincronizar o ciclo estral, induzir a ovulação, reestabelecer a função uterina para receptoras e causar a luteólise. Estes procedimentos servem como base para outras práticas como a inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado e congelado, coleta e avaliação de embrião, e inovulação.

## 2. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

No Estágio Supervisionado Obrigatório do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), realizado na cidade de Vitória da Conquista e algumas cidades próximas, na região sudoeste da Bahia (Latitude 14° 51' 58"S – Longitude 40° 50' 22"W – Altitude 923m) onde foram desenvolvidas atividades que são primordiais na rotina da reprodução equina (Tabela 1).

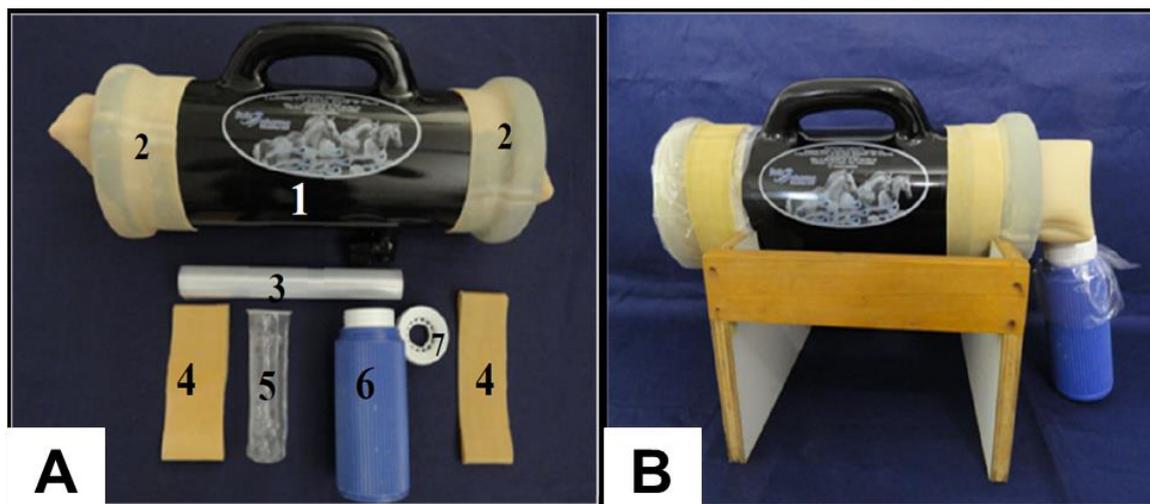
**Tabela 1** - Principais atividades desenvolvidas durante o ESO.

Atividades	Nº de casos	Percentual %
Coleta de sêmen	16	7,2
Congelamento de sêmen	04	1,8
Inseminação artificial	42	18,8
Transferência de embrião	34	15,3
Diagnóstico de gestação	118	52,9
Sexagem fetal	9	4
<b>Total de atividades</b>	<b>223</b>	<b>100</b>

### 2.1. COLETA DE SÊMEN

A coleta de sêmen é realizada após o exame andrológico externo do garanhão. Neste procedimento, avaliamos o estado geral do animal, os aprumos, os órgãos genitais, a textura e circunferência testicular, temperatura e sensibilidade. Estando o animal em boas condições para realizar a cobertura, fazemos a montagem da Vagina Artificial (VA), modelo Botucatu.

Realiza-se a montagem da VA colocando uma mucosa descartável, um copo coletor revestido com um saco plástico transparente, onde o sêmen é represado - e um filtro de nylon para separar a fração gel (Figura 1A). São aquecidos aproximadamente cinco litros de água a 55°C, onde uma parte será utilizada dentro da VA, e o restante para aquecer o diluidor de sêmen.



**Figura 1** – Componentes da V.A. (1) Tubo Rígido, (2) Mucosa de Latex, (3) Mucosa Plástica, (4) Anéis de Latex, (5) Camisa interna, (6) Copo coletor e (7) tampa (A). V.A montada (B).

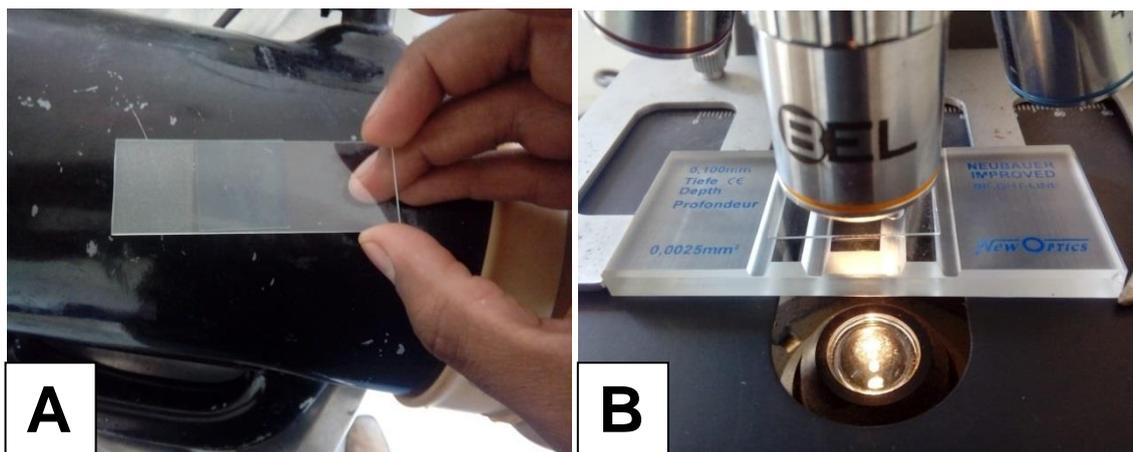
**Fonte:** Manual de Andrologia e Manipulação de Sêmen Equino, 2014, p.60.

Após a montagem da VA (Figura 1B), é escolhido um local onde o piso não seja liso e que não contenha terra, evitando levantar partículas que contribuam para a contaminação durante a coleta. Em seguida, é escolhida uma fêmea no cio e devidamente contida para servir de manequim. O garanhão é colocado próximo à fêmea para estimulá-lo à cópula, e neste momento, ele expõe o pênis fazendo o Reflexo de Flehmen. Se necessário, o pênis é lavado com água corrente para retirada do esmegma. Quando ocorre a monta o pênis é desviado para a vagina artificial, a ejaculação é sentida pelas pulsações na base do pênis, seguida do relaxamento do garanhão ainda sobre a fêmea. Por fim, é aberta a válvula da VA para diminuir a pressão interna e facilitar a saída do pênis.

Após a coleta, o sêmen é levado para o laboratório, retiramos o filtro, descartamos a fração gel e avaliamos alguns aspectos macroscópicos como o volume, cor, odor e densidade. Em seguida, retiramos uma alíquota e colocamos numa lâmina (Figura 2A) para avaliarmos microscopicamente a motilidade e vigor da amostra, com auxílio de microscópio (20X).

A motilidade espermática é analisada segundo uma escala de porcentagem, variando de 0 a 100%, comparando a quantidade de espermatozoides móveis e imóveis, avaliando no mínimo três campos da lâmina. O vigor espermático é avaliado numa escala de 0 a 5: quanto maior a velocidade, maior o valor, sendo o valor ideal  $\geq 3$ .

Para a concentração espermática é retirada outra alíquota para ser adicionada num eppendorf com água, numa proporção de uma gota de sêmen para 19 gotas de água (10 $\mu$ L: 190 $\mu$ L). Na câmara de Neubauer (Figura 2B) é feita uma contagem por amostragem dos espermatozoides, onde são contados os quadrados das extremidades e do centro. Faz-se o cálculo da concentração espermática e o ejaculado é diluído de acordo com a dose inseminante a ser utilizada.



**Figura 2** - Lâmina para análise da motilidade (A) e Câmara de Neubauer para contagem espermática (B).

## 2.2. CONGELAMENTO DE SÊMEN

Em virtude de se realizar os procedimentos a campo, é necessário separar os materiais previamente para alcançarmos um bom resultado após o descongelamento. Um dos primeiros procedimentos é ajustar a potência da geladeira, ou outro aparelho que faça o resfriamento do sêmen. Com o auxílio do termômetro (Figura 3B), verificamos a temperatura para realizar a curva de resfriamento necessária.

Após a coleta, o ejaculado é levado ao laboratório para ser avaliado o vigor, a motilidade, e a contagem de células na câmara de Neubauer. Após a avaliação, o ejaculado é diluído numa proporção de 1:1, colocado numa proveta e centrifugado (2.200 RPM, durante 10 minutos), ocorrendo à sedimentação dos espermatozoides.

Então, é feito um cálculo para saber a quantidade de palhetas e o volume de crioprotetor a serem utilizados. Sendo levado em consideração que cada palheta haverá aproximadamente 100 milhões de espermatozoides, para tanto utilizamos a seguinte fórmula:

**Nº SPTZ x Vol. Ejaculado x Motilidade = Nº de Doses**  
**100**

Nº SPTZ = número de espermatozoides contados na câmara de Neubauer.

Vol. Ejaculado = Volume do ejaculado verificado em mL.

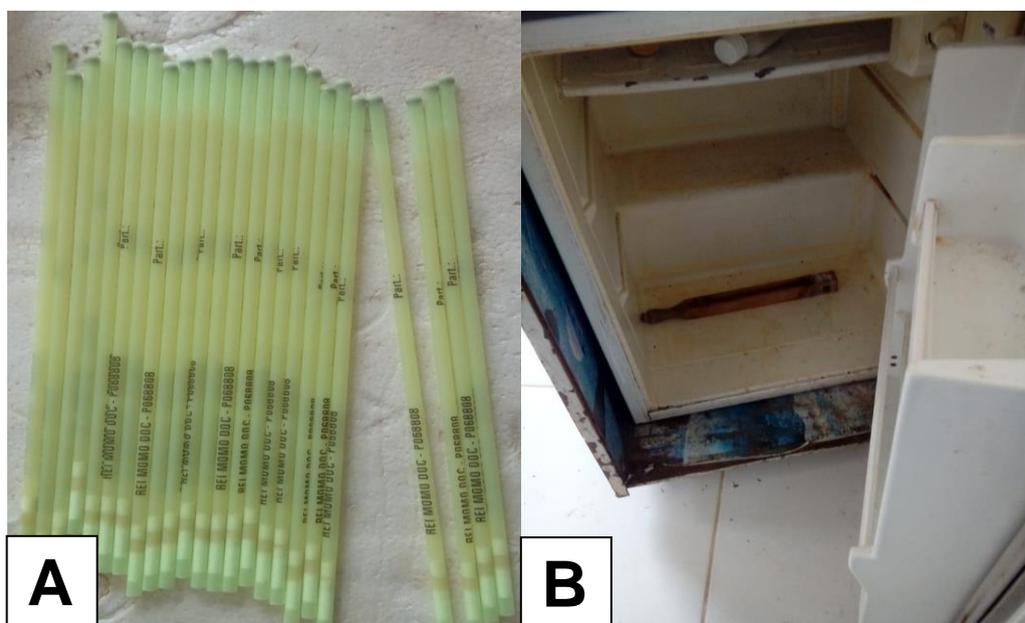
Motilidade = Dado em porcentagem (Ex.: 80% = 0,8)

100 = 100 milhões de espermatozoides por palheta

Nº de Doses = Número de palhetas

Em seguida, multiplicamos o volume da palheta (0,5mL) pela quantidade de doses que obtivemos no cálculo anterior, resultando no volume de crioprotetor necessário para ressuspender os espermatozoides. Retira-se a quantidade de crioprotetor desejado e aquece em banho-maria a 37°C.

Após a centrifugação é retirado e descartado o sobrenadante (líquido seminal + diluente) e adicionado o crioprotetor. Todo o conteúdo é envasado nas palhetas, deixando sempre um quinto (1/5) desta vazia, para serem lacradas com esferas metálicas na extremidade (Figura 3A). Após o lacre, deixa-se o espaço vazio ao centro. As palhetas são contadas, enxugadas, colocadas numa bandeja metálica com o fundo telado e levadas para o resfriamento lento, à temperatura entre 5°C a 10°C por 20 minutos.



**Figura 3** - Palhetas envasadas (A) e geladeira com termômetro (B).

Enquanto ocorre o resfriamento lento na geladeira, é colocado nitrogênio líquido numa caixa de isopor (45x36x38cm), numa altura de 3cm do fundo da caixa.

Colocamos dentro da caixa o suporte da bandeja (6cm) e as racks identificadas com o nome do garanhão.

Ao final do resfriamento das palhetas, a bandeja é colocada dentro do isopor sobre o suporte metálico (Figura 4A) e a caixa é fechada por 10 minutos (resfriamento rápido no vapor de nitrogênio). Depois retiramos o suporte, mergulhamos a bandeja de palhetas no nitrogênio líquido e armazenamos dentro das racks, com o auxílio de uma pinça metálica, e as racks são transferidas para as canecas (tubos) do botijão de nitrogênio (Figura 4B).



**Figura 4** - Palhetas, bandeja, racks na caixa de isopor submersos em  $N_2$  (A) e botijão de  $N_2$  (B).

Por fim, devemos reservar uma palheta para descongelar e este sêmen ser avaliado quanto à motilidade, vigor e concentração, além de anotar algumas informações como: data do congelamento, motilidade após o descongelamento (%) e a quantidade de palhetas congeladas no dia, de acordo com a TABELA 2.

**Tabela 2** - Controle de sêmen congelado.

DATA	MOTILIDADE	Nº PALHETAS
20/04/2018	60%	24
22/04/2018	50%	28
24/04/2018	50%	30
30/04/2018	55%	25
20/05/2018	50%	35
24/05/2018	60%	27
28/05/2018	55%	33

### 2.3. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Antes de iniciar qualquer procedimento reprodutivo na égua é necessário fazer uma avaliação externa, como observar o escore corporal do animal, a presença de ectoparasitas, lesões e, no sistema reprodutor, examinar a região do períneo e sua integridade. Já o exame dos órgãos reprodutivos é realizado por palpação retal avaliando-se o tônus e o tamanho uterino e com o auxílio da ultrassonografia visualiza-se a presença de cistos e conteúdos intrauterinos. Já nos ovários, são observados o tamanho e atividade.

Para realizar a Inseminação Artificial (IA) nas éguas, é feito acompanhamento da dinâmica folicular e resposta uterina, por meio de palpação e ultrassonografia transretal. As reprodutoras que contêm um folículo na imagem ultrassonográfica maior que 35 mm, presença de dobras endometriais e não têm corpo lúteo (CL), são induzidas a ovulação.

No protocolo de ovulação usava-se a Histrelina, que é um análogo sintético do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), numa dose de 250µg (1mL) intramuscular. A Histrelina tem ação na hipófise como análogo do GnRH, que estimula a secreção do Hormônio Luteinizante (LH) e do Hormônio Folículo Estimulante (FSH). Em média, a ovulação ocorre em 36 horas após a indução.

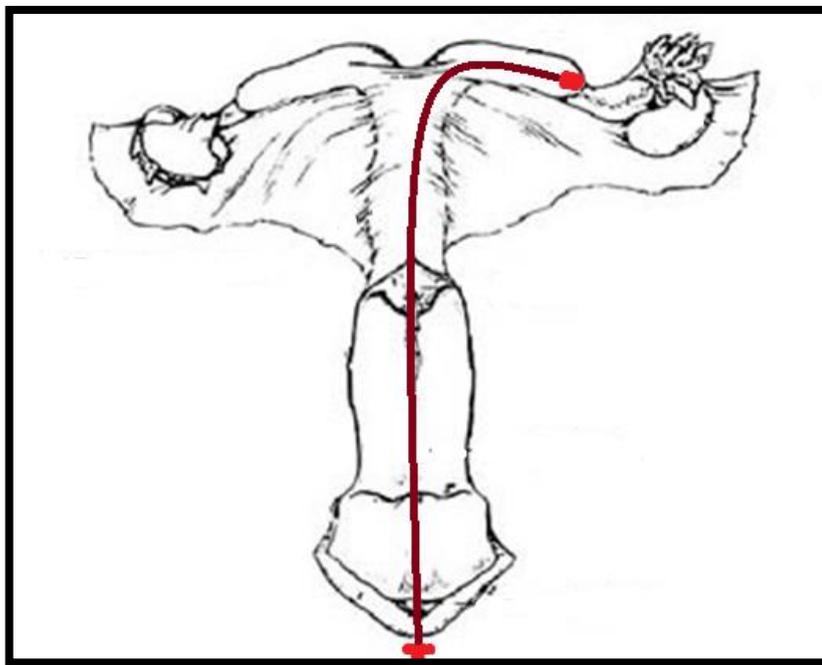
Todos os dados do exame são anotados num caderno de acompanhamento, onde se registra o dia, nome do animal, tamanho do folículo, o ovário que possuía o folículo ou CL, presença de edema uterino numa classificação de 1 a 4 e, se foi realizado algum procedimento.

Quando se usa o sêmen fresco ou refrigerado, as IAs são realizadas 24 horas após a indução da ovulação. Esses sêmens tem uma melhor qualidade por não sofrerem alterações de temperatura, além de ter uma maior concentração espermática na dose inseminante. Após 24 horas da indução, faz-se a IA, onde a égua é contida no brete, suspende-se a cauda, faz-se a higienização da região perianal com iodopolvidine-degermante e enxuga-se com papel toalha. Neste caso, o sêmen é depositado através de uma pipeta rígida para inseminação, no início da divisão dos cornos uterinos, ipsilateral ao ovário da ovulação. No dia posterior a IA,

realiza-se outro exame ultrassonográfico para confirma a ovulação, caso não tenha ocorrido, a fêmea é induzida novamente e inseminada.

Observamos que, quando utilizado o sêmen congelado, o acompanhamento folicular é mais frequente após 30 horas da indução. Este acompanhamento é realizado a cada 2 horas, onde avaliamos as mudanças nas imagens relacionadas à diminuição do edema uterino, as células da Granulosa hipercóicas, o formato irregular do folículo pré-ovulatório e maior flutuação, além da sensibilidade ao ser tocado. A ovulação é detectada quando há formação de uma massa homogênea, hipercóica (Corpo Hemorrágico) no lugar do folículo.

Somente após a confirmação da ovulação é realizada a IA. O procedimento de higienização da égua é igual ao do sêmen fresco ou refrigerado. Neste processo, o material e a técnica são diferentes: é usada uma pipeta flexível específica para a palheta de 0,5mL e utiliza-se também, um mandril. A técnica é a Intra-cornual profunda (Figura 5), que consiste em direcionar a pipeta de inseminação pelo corno uterino ipsilateral ao ovário desejado e depositar o sêmen o mais próximo possível do final do corno uterino.



**Figura 5** - Ilustração da técnica Intra-cornual profunda.

**Adaptado:** Informativo equestre.

Para esta técnica são utilizadas três ou quatro palhetas, descongeladas em banho-maria a 37°C por 30 segundos, enxugadas e cortadas na extremidade que foi

envasada. Quando a pipeta esta no local desejado, insere-se a palheta e pressiona-se o mandril por toda a pipeta, depositando o sêmen o mais próximo do ovário.

#### 2.4. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Durante o estágio, as coletas de embrião foram programadas para ocorrer no oitavo dia pós-ovulação, podendo variar  $\pm 1$  dia. Dávamos início ao procedimento com a preparação das doadoras, fazendo o exame ultrassonográfico que avalia a presença de CL, tônus uterino, edema uterino e homogeneidade uterina. Logo após, agendávamos a ovulação, seguida da inseminação.

Juntamente, realizávamos a preparação das receptoras, onde usávamos, no mínimo, três receptoras para cada doadora, além de analisar os mesmos parâmetros, e agendávamos a ovulação das receptoras com dois a três dias, após a ovulação da doadora. Caso a receptora estivesse acíclica, era feito um protocolo com Benzoato de Estradiol ( $BE_2$ ) com dispositivo intravaginal de Progesterona ( $P_4$ ).

Todos os materiais necessários eram previamente esterilizados e separados para evitar o mínimo de contaminação durante todo o procedimento. A recuperação do embrião inicia-se com a contenção da cauda, limpeza do reto da doadora e higienização da região do perianal com iodo-polvidine degermante. Usando uma sonda de silicone introduzimos sua extremidade na vagina, e com o dedo indicador localizamos a cervix e transpassamos a sonda. O balão é inflado com 40 a 50 mL e a sonda é fixada entre o útero e a cervix. Na outra extremidade da sonda, adaptamos um extensor de mangueira de silicone e uma trava para controlar o fluxo durante a lavagem uterina.

Para essa lavagem uterina, conectamos a sonda na bolsa com o meio (Ringer com Lactato<sup>1</sup>), abrimos a trava injetando-o para o interior do útero. Em seguida, introduzimos a mão no reto e fazemos massagens no útero para o meio se espalhar pelos cornos. Posterior às massagens fecha-se a trava, conecta a sonda na tampa do copo coletor de embrião e a embalagem do meio Ringer com Lactato no fundo do copo coletor, liberando o fluxo da lavagem. Visualizando-se o embrião no copo coletor, a lavagem uterina é finalizada, e quando não, realiza-se esse

---

<sup>1</sup> De modo geral, um litro de Ringer Lactato é suficiente para preencher todo o útero.

procedimento de lavagem, no máximo, por mais três vezes. Reutilizando-se o meio recuperado na lavagem.

O conteúdo da lavagem que fica no copo coletor é passado para uma placa de Petri com riscos no fundo, para facilitar a procura do embrião por regiões na placa com o auxílio de um estereoscópio (10X). Encontrando-se o embrião, o mesmo é recuperado com o auxílio de uma palheta<sup>2</sup> de sêmen estéril acoplada a uma seringa. Quando recuperado, é passado para outra placa estéril com seis gotas de meio para cultivo celular, onde cinco gotas são utilizadas para lavagem e um para análise do embrião. Após ser depositado nessa nova placa troca-se a palheta de captura.

Após a lavagem e análise, o embrião é colocado numa palheta de sêmen ou pipeta de inseminação na seguinte ordem: meio-ar-meio+embrião-ar-meio. É imprescindível a utilização da camisa sanitária para assegurar a não contaminação uterina e boas taxas de prenhez.

Para o procedimento de inovulação do embrião, avaliam-se as receptoras que foram preparadas, seleciona-se a que tiver maior tônus uterino, uma imagem ultrassonográfica uterina homogênea e um CL grande e delimitado. O modo de inovular é idêntico à técnica intra-cornual profunda da IA, depositando o embrião o mais próximo da ponta do corno uterino para facilitar o reconhecimento materno durante sua decida para o corpo do útero. No entanto, pode ser realizado em ambos os cornos. Ao finalizar anotamos os dados referentes à doadora, à receptora, ao garanhão e o embrião.

## 2.5. DIAGNÓSTICOS DE PRENHEZ

O diagnóstico de prenhez foi realizado em todas as éguas que foram inseminadas (15 dias pós-ovulação) e nas receptoras foi feito o acompanhamento da prenhez aos embriões atingirem 15, 45 e 60 dias. Nesse diagnóstico usamos a ultrassonografia percorrendo os cornos uterinos, buscando encontrar a vesícula embrionária precocemente.

Por volta dos 15 dias à vesícula embrionária tem o tamanho que pode variar de 13 a 18 mm de diâmetro. É importante ao detectar a vesícula embrionária,

---

<sup>2</sup> Quando o embrião é muito grande se utilizava uma pipeta de inseminar cadela.

visualizar a presença de corpo lúteo, avaliar o tônus uterino, os parâmetros de útero e ovários.

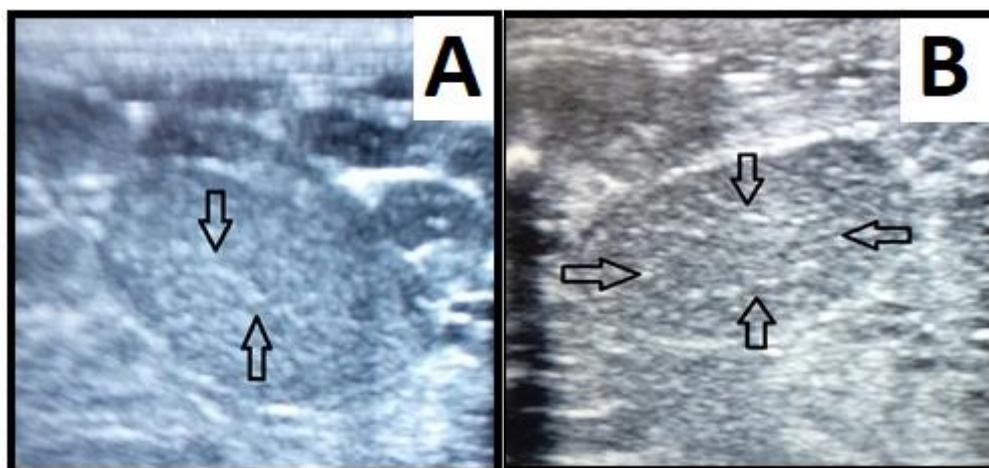
O diagnóstico de gestação realizado em torno dos 45 dias busca avaliar a localização do embrião na vesícula embrionária, batimentos cardíacos e o corpo lúteo funcional.

Aos 60 dias o feto se localiza na base da vesícula e está totalmente envolvido pelo alantóide e suspenso pelo cordão umbilical. Nesta fase, é possível visualizar a cabeça, o globo ocular, a caixa craniana e os membros.

## 2.6. SEXAGEM FETAL

O tempo ideal para realizar a sexagem fetal é próximo aos 120 dias de gestação. Nesse período, as gônadas fetais e a genitália externa são bastante visíveis na imagem ultrassonográfica, devido ao desenvolvimento e posicionamento nesta fase.

É observada a gônada, tanto masculina quanto feminina, em formato oval e medindo cerca de 5 cm de diâmetro. No macho, em sua camada medular é visualizada uma massa homogênea que apresenta uma linha fina ecogênica (mediastino) ao centro da camada medular (Figura 6A). Já a gônada feminina é diferenciada devido à ausência da linha ecogênica (mediastino) e por ter uma estrutura circular ecogênica que circunda uma linha hipocogênica (Figura 6B).



**Figura 6** - Sexagem fetal do macho com setas apontadas para o mediastino (A) e sexagem fetal da fêmea com setas delimitando o halo circular ecogênico (B).

### **3. RELATO DE CASO: INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA CICLICIDADE DE ÉGUAS RECEPTORAS**

#### **3.1. REVISÃO DE LITERATURA**

A sazonalidade reprodutiva da égua tem importantes consequências para a criação comercial equina. Criadores pertencentes às associações de raças que adotam a idade hípica como critério de nivelamento de potros nascidos na mesma temporada procuram acasalar as éguas o mais cedo possível, para obter vantagem de idade sobre os produtos nascidos mais tarde (DAVID, 2010).

##### **3.1.1. Ciclo estral da égua**

A égua é um animal poliéstrico estacional, com duração do ciclo estral de 20 a 21 dias. Sua atividade reprodutiva é regulada, principalmente, pela quantidade de luz (fotoperíodo), mas também por fatores nutricionais e climáticos (SAMPER, 2008).

A fase folicular, que compreende o pró-estro e estro, varia entre quatro a sete dias, na égua. É acompanhada pelo crescimento folicular, seleção, maturação e ovulação, resultando num rápido decréscimo das concentrações plasmáticas de estrógeno. A fase luteal, que abrange o diestro e metaestro, possui cerca de 14 a 15 dias de duração e é variável de acordo com o estro. Ela se inicia com a ovulação, através da formação do corpo lúteo e com a consequente secreção de progesterona (GINTHER, 1979; MURRELL, 2003).

A regularidade do ciclo estral é determinada pelo balanço dos hormônios produzidos pela glândula pineal, hipotálamo, hipófise, ovários e endométrio. O hipotálamo, considerado ponto chave do comando reprodutivo, produz o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), sendo este liberado no sistema porta hipotalâmico-hipofisário, afim de estimular a síntese e a liberação de gonadotrofinas: hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), responsáveis pela maturação folicular, produção de estrógeno, ovulação e luteinização do corpo lúteo (CL) (ALJARRAH, 2004).

O FSH é responsável pelo desenvolvimento dos folículos ovarianos. A sua liberação é bifásica, apresentando níveis mais elevados entre os dias nove e doze do ciclo estral, como também próximo da ovulação, quando o estradiol produzido pelo folículo dominante diminui, o que permite completar o desenvolvimento final do folículo pré-ovulatório e iniciar o desenvolvimento de novos folículos. O declínio dos

níveis de FSH ocorre com o aumento do hormônio Inibina, produzido pelos folículos maiores que 13 mm (GINTHER et al. 2008).

Na égua, tem sido referida a existência de um número elevado de receptores de LH nos folículos dominantes, em contraste com o observado em folículos menores (GOUDET et al., 1999). No estro, a concentração de LH aumenta até atingir um pico pré-ovulatório, aproximadamente dois dias antes da ovulação, resultando na formação do CL que irá produzir P4 tendo efeito inibitório na liberação de gonadotrofinas. Os níveis de P4 aumentam entre 24 e 48 horas no período pós-ovulatório e mantêm-se durante 14 – 15 dias do ciclo estral (FERREIRA, 2009).

Ainda segundo Ferreira (2009) se a égua não estiver gestante, por volta do 15º – 16º dia ocorre diminuição da concentração de P4, permanecendo em níveis basais durante o estro. Esse declínio deve-se à secreção de PGF2 $\alpha$  a partir do endométrio entre os dias 13 e 16 pós-ovulação, que induz a regressão do CL. A secreção de PGF2 $\alpha$  precede a diminuição da concentração plasmática de P4 em três ou quatro horas

Os sinais de estro são induzidos pela concentração elevada de estrógeno na circulação, proveniente do folículo dominante, que secreta mais de 80% dessa substância e pelos níveis decrescentes de progesterona. O CL é o local de produção da P4, que promove o encerramento dos sintomas de estro, mantém a fêmea não receptiva ao macho e prepara o útero para a recepção do embrião. Diferentes níveis plasmáticos de P4 durante o ciclo estral têm sido reportados, considerando durante o estro, níveis inferiores a 1 ng/mL. Apesar da importância da existência e funcionalidade do CL durante o ciclo estral e gestação, a presença e o estágio da glândula luteínica não podem ser avaliados com precisão por meio de palpação retal. As dosagens de P4 e estrógeno são mais eficientes para indicar a atividade da glândula luteínica e do folículo dominante, respectivamente (TAROUCO, 2013).

### 3.1.2. Sazonalidade

A mudança anual no fotoperíodo é o fator ambiental primário usado para regular o ciclo estral da égua, modulando a atividade reprodutiva, via glândula pineal, por meio da melatonina que regula a secreção GnRH, sendo liberada na ausência de luz. Quando o comprimento do dia é curto (inverno), ocorre maior

liberação da melatonina suprimindo a síntese e liberação de GnRH. Contudo, no verão, com os dias tendo maior comprimento da fase clara, a secreção de melatonina é menor e sua influência inibitória, sobre a reprodução, é removida (ALJARRAH, 2004).

O início do anestro pode ocorrer por três formas distintas: 1) após um prolongamento espontâneo do corpo lúteo; 2) após a luteólise de um corpo lúteo regular; 3) ou após atresia folicular. O anestro verdadeiro é o período de inatividade ovariana sem ovulação, com baixos níveis séricos de P4, perda do tônus uterino e atrofia gonadal. O anestro ocorre como resultado de uma redução na concentração de GnRH no hipotálamo, conseqüentemente do LH na hipófise anterior. Induzida por uma série de sistemas neuronais inibitórios que fazem a transmissão de fatores externos e internos como fotoperíodo, nutrição, temperatura e ritmo endógeno circanual (BISOL, 2007).

A melatonina influencia a liberação de GnRH em pontos diferentes do cérebro, segundo o modelo estudado, podendo ser encontrada próxima da área mediobasal do hipotálamo em carneiros, na área supraquiasmática em hamsters e na porção da *pars tuberalis* em equídeos (GERLACH E AURICH, 2000).

### 3.1.3. Melatonina

Em mamíferos, são descritos dois principais tipos de receptores de melatonina acoplados à membrana celular: MT1 e MT2. Ambos são pertencentes à família de receptores ligados à proteína G, os quais possuem estruturas moleculares, características farmacológicas e localizações cromossômicas distintas entre si (SLAUGENHAUPT et al., 1995; REPERT et al., 1996; DUBOCOVICH et al., 1997).

Na espécie equina, os dados com relação aos neurotransmissores, ainda são escassos. Alguns estudos com peptídeos opióides endógenos (POEs) determinaram que sua ação ocorre, primariamente, no sistema nervoso central (SNC), por meio da sensibilização dos receptores  $\mu$ -,  $\delta$ - e  $\kappa$ -opióide, nas áreas pré-óptica e hipotalâmica. Tais peptídeos transmitem as informações do ambiente esteroideal aos neurônios de GnRH, através da inibição de interneurônios (COSGROVE et al., 1993; SMITH e JENNES, 2001), modulando, assim, a liberação de LH em fêmeas cíclicas (AURICH et al., 1996).

Os receptores MT1 e MT2 são constituídos pelas proteínas heterotriméricas Gi:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . A ativação destes receptores promove a dissociação das proteínas G em dímeros  $\alpha$  e  $\beta\gamma$ , que interagem com várias moléculas efetoras envolvidas na transmissão da sinalização celular (MASANA et al., 2001). Os efeitos incluem mudanças em nucleotídeos cíclicos intracelulares (cAMP, cGMP) e níveis de cálcio, ativação de certos subtipos de proteínas quinases C, localização intracelular de receptores de hormônios esteróides e a regulação de proteínas G sinalizadoras (PANDI-PERUMAL et al., 2008). Alguns sistemas efetores envolvidos na sinalização dos receptores de melatonina incluem adenilil ciclase, fosfolipase C, fosfolipase A2, canais de potássio e cálcio e guanilil ciclase (DUBOCOVICH & MARKOWSKA, 2005).

Na glândula pineal, a via biossintética da melatonina inicia com a conversão do triptofano em 5-hidroxitriptofano, por intermédio da ação da triptofano-5-hidroxilase (T-5-H). Seguindo a rota, a enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilase (5-HTD) catalisa a oxidação do 5-hidroxitriptofano em serotonina. Sequencialmente, a serotonina é convertida em N-acetilserotonina, através de uma reação de acetilação da enzima N-acetiltransferase (NAT) e por fim, a enzima citosólica hidroxindol-O-metiltransferase, atualmente denominada acetilserotonina O-metiltransferase (ASOMT) (REITER et al., 2009), catalisa a reação de metilação para a formação da melatonina.

#### 3.1.4. Fotoperíodo Artificial

Os estudos sobre a sazonalidade reprodutiva equina têm sido desenvolvidos, em sua grande maioria, com dados obtidos a partir de zonas temperadas, aproximadamente, onde a diferença no comprimento entre o maior e menor dia é cerca de duas horas (GINTHER et al., 2006) Cerca de 20% das éguas apresentam um período anovulatório de inverno, mesmo em latitudes tão altas quanto 61° N (BISOL, 2007).

O fotoperíodo artificial é uma prática amplamente utilizada em criatórios de equinos, com objetivo de antecipar a atividade ovariana (NAGY et al., 2000). Éguas em anestro expostas a um fotoperíodo crescente durante o inverno ovulam mais cedo que éguas expostas ao fotoperíodo natural (BURKHARDT, 1947). A

fotoestimulação clássica é realizada em éguas, no anestro outonal submetidas a um período de 14,5 a 16 horas de luz (100 LUX). O tratamento tem início no solstício de inverno e a ciclicidade é obtida em aproximadamente 70 dias (GUILLAUME et al., 2000).

Éguas submetidas a um fotoperíodo constante, de 15 horas e 23 minutos de incidência de luz diária, durante o ano atrasam o início do anestro e antecipam o início da estação de monta, conseqüentemente aumentando a duração do período ovulatório e diminuindo o período de anestro. Os resultados indicam que o início e o fim da estação reprodutiva em éguas não são pré-determinado sendo controlado principalmente pelo fotoperíodo (KOOISTRA e GINTHER, 1975).

### 3.2. DESCRIÇÃO DO CASO

Durante o período do estágio foi observado, por meio de exames ultrassonográficos transretal, que o número de fêmeas equinas usadas como receptoras de embrião, sem atividade ovariana, aumentava com a chegada do inverno. O banco de receptoras recebia o mesmo manejo: pastejo em piquetes com diversas variedades de capins, sem suplementação de sal mineralizado ou ração concentrada e acesso à água *ad libitum*.

Na preparação de éguas receptoras acíclicas<sup>3</sup>, utiliza-se um protocolo hormonal a base de Benzoato de Estradiol (Figura 7A) e dispositivo de Progesterona (P4). Neste protocolo aplica-se o BE2 (D0), e após dois dias (D2) é avaliada a resposta uterina (Figura 7B). Havendo resposta com baixo tônus e edema 3 ou 4 (numa escala de 1 a 4), colocava-se o dispositivo intravaginal de progesterona (Figura 8). Essas éguas estariam habitas para serem inovuladas entre o 4º e 6º (D6 e D8) dia após a introdução do dispositivo de P4, sendo o 5º dia o momento ideal para ter um bom resultado. Para se realizar a inovulação, as receptoras são reavaliadas e escolhe-se a que apresentar uma imagem ultrassonográfica mais homogênea e com maior tônus uterino.

Porém, a imagem ultrassonográfica homogênea, que representa o útero na fase progesterônica (Figura 9), está associada ao edema uterino estimulado anteriormente pelo estrógeno, logo, se não houver um bom edema uterino inicial,

---

<sup>3</sup> São preparadas no mínimo três éguas receptoras para cada égua doadora.

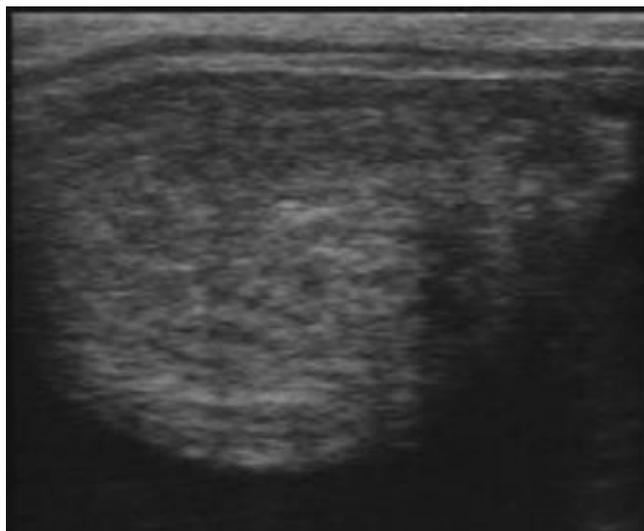
não haverá tônus, nem a imagem homogênea, que não é o desejado para a implantação do embrião.

Com a inovulação realizada, o dispositivo de P4 permanecia por mais sete dias e, posteriormente, a fêmea recebia aplicações de P4 durante os quatro meses iniciais da gestação, usando-se algum dos seguintes protocolos: 1 mL diária, ou 5 mL semanal, ou 10 mL quinzenal. A confirmação da prenhez era realizada nos dias 15, 45 e 60 pós-ovulação, anotando-se todos os dados numa ficha de controle de transferência de embrião (Figura 10).



**Figura 7** - Hormônio Benzoato de Estradiol (A). Imagem ultrassonográfica de edema uterino 3 (B). Fonte: Confederação Brasileira de Hipismo (B).





**Figura 9** - Imagem ultrassonográfica de útero na fase progesterônica.

Ficha de Controle da Receptora e/ou Embriões Transplantados

Nome: VARÃO Nº 25 Pelagem: P/B

Data da ovulação: 22/05/18 Nº D 6 CL OD OE OE

Tipo de ovulação: sem indução  C/ HCG  GNRH  Progesterona  Nº dias         

Classificação da receptora: Ótima  Boa  Regular  Infante

Classificação do transplante: Ótimo  Bom  Regular

OBS: APresentar q 25, 25/05/18, 26

Embrião grau: 5/1 Doadora: PACISS Garanhão: MISUAL

Transportado  12/5 Meio: 2/1/1/1/2 Resfriado: sim ( ) não (  )

Ultra com 15 dias confirmação 45 dias          60 dias         

Destino da Receptora:          Tel: ( )         

ANUS 061

**Figura 10** - Ficha de controle de embriões inovulados, indicando que a receptora recebe aplicação de P4.

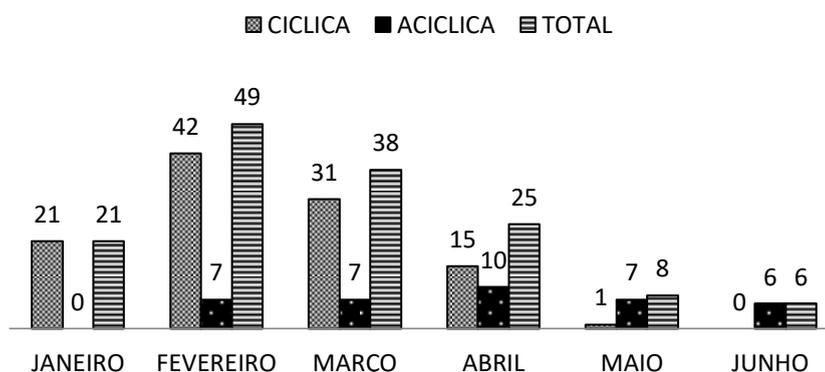
### 3.3. DISCUSSÃO

Usando o caderno de anotações como base, foram contabilizadas 147 transferências de embriões sendo 110 em receptoras cíclicas<sup>4</sup> e 37 em receptoras acíclicas<sup>5</sup> entre os meses de janeiro a junho de 2018 (Gráfico 1).

<sup>4</sup> Todas as éguas receptoras que não receberam aplicações de P4 após a inovulação.

<sup>5</sup> Todas as éguas receptoras que receberam aplicações de P4 durante quatro meses após a inovulação.

## Receptoras de Embrião



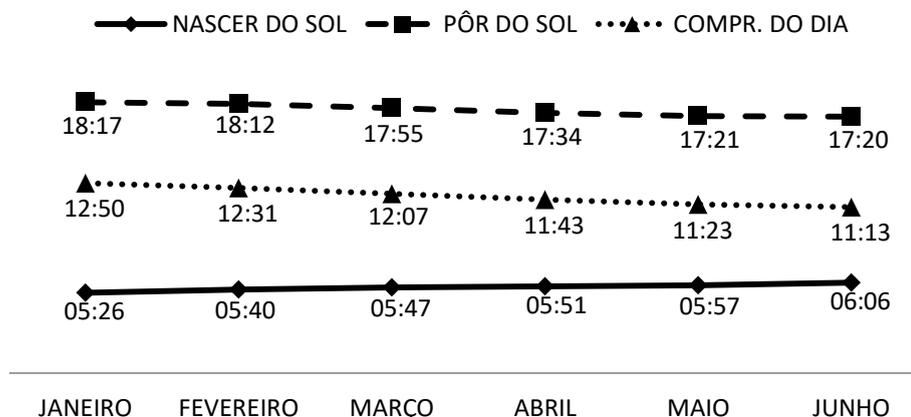
**Gráfico 1** - Total de receptoras cíclicas e acíclicas.

A partir do gráfico, podemos observar que a proporção de receptoras cíclicas no início do semestre é maior em relação às receptoras acíclicas. No mês de janeiro, todas as receptoras utilizadas estavam ciclando, e não houve a necessidade de usar o protocolo de BE2+P4. Já nos meses de fevereiro e março, aconteceu o maior número de transferências. Mesmo assim, a proporção de éguas que foram utilizadas com o protocolo foi relativamente pequeno, 14,28% e 18,42%, respectivamente. A acíclicidade destes animais se deve ao período de transição e ao balanço energético negativo, principalmente quando são oriundos de outras propriedades.

Observa-se que a partir da metade do primeiro semestre o volume de embriões transferidos diminuiu, e a proporção de receptoras acíclica aumentou. Em abril, a proporção elevou-se para 40% e no mês seguinte, subiu para 80%. Esse evento acontece justamente no final do outono e o início do inverno, momento em que as mudanças climáticas são mais evidentes - o céu fica encoberto por nuvens na maior parte do dia, as chuvas e neblinas são mais constantes, e com isso, a luminosidade diária (Gráfico 2) e a temperatura são reduzidas (Gráfico 3).

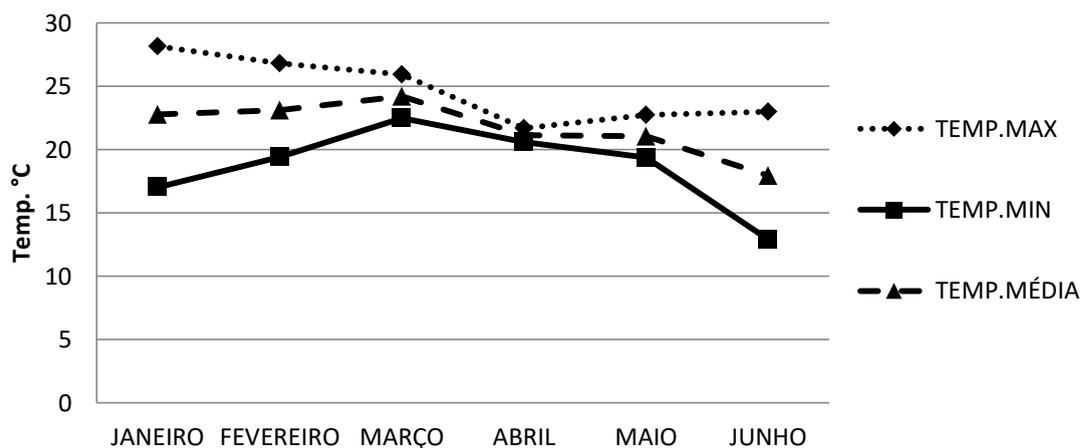
Foi observado que a confirmação da prenhez entre as éguas receptoras se deu da seguinte forma, entre as acíclicas 78,37% confirmaram a prenhez, enquanto que nas éguas cíclicas essa percentagem foi de 68,18%. Totalizando 104 (70,75%) embriões confirmados após sua inovulação e perda embrionária de 29,25% antes dos 60 dias de gestação.

## Comprimento do Dia



**Gráfico 2** - Horário do nascer e pôr do sol com horas de luz mensal.  
**Fonte dos dados:** Sunrise and Sunset, 2018.

## Temperatura



**Gráfico 3** - Temperatura máxima, mínima e média mensal.  
**Fonte dos dados:** Accuweather, 2018.

Portanto, os gráficos nos mostram que a luminosidade diária diminui em média 21,4 minutos por mês, tendo entre os meses de janeiro a junho uma perda de 1h e 37min de luz diária. No entanto, este valor pode ser maior devido aos dias chuvosos, onde o céu fica encoberto por nuvens, aumentando o tempo com ausência de luz. A temperatura média em janeiro foi de 22,7°C e subiu nos meses de fevereiro e março, passando a cair a partir do mês de abril para 21,1°C, com outra queda mais acentuada no mês de junho (17,9°C). Após o mês de março, a redução da temperatura foi constante, chegando a uma diferença de 6°C entre março e junho.

Com essas mudanças climáticas, os animais sazonais sofrem gradualmente uma mudança no ciclo circadiano. Devido ao aumento do tempo às escuras e diminuição da luz, ocorre uma maior liberação de Melatonina que inibe a produção de GnRH nas éguas. A falta de estímulo hormonal nas gônadas leva a uma inatividade e redução do estroma ovariano. Esta influência pode ser comprovada pelo aumento da necessidade de aplicação do protocolo hormonal para receptoras acíclicas, onde foi necessário usá-lo em todas as inovulações no final do semestre.

Devido à sazonalidade, os criadores de raças que não utilizam a idade hípica concentram suas estações de monta durante o primeiro trimestre do ano, assim, com a chegada do inverno, evitam-se maiores gastos com o manejo de luz artificial, alimentação e tratador. Já os criadores que utilizam a idade hípica são mais prejudicados com a acíclicidade no inverno, necessitando utilizar luz artificial nas éguas doadoras, por no mínimo 30 dias antes do início da estação de monta, para restaurar a função reprodutiva. Quando as receptoras que são criadas a pasto e não têm o manejo de luz artificial estiverem acíclicas, será utilizado o protocolo hormonal.

#### **4. CONCLUSÃO**

Com a construção desse trabalho podemos apreender que as mudanças ambientais como, a redução de 6°C de temperatura e a diminuição de 1 hora e 37 minutos de luminosidade diária observados entre o meses de janeiro a junho, foram suficientes para afetar a ciclicidade das éguas da região, sendo verificada a diminuição do volume das transferências de embriões por causa da aciclia das doadoras, junto ao aumento do uso do protocolo hormonal nas éguas receptoras.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A vivência na área de reprodução equina mostrou a importância da dedicação diária do acompanhamento aos animais: a atenção com os colaboradores que nos auxiliam nos haras, o cuidado e a seriedade durante os procedimentos, o conhecimento sobre o mercado de cavalo, além do profissionalismo com os criadores e clientes.

É através da junção de pequenos pontos importantes, aliados a todos os aprendizados durante a graduação, seja dentro ou fora da universidade, que nos tornamos um profissional de excelente qualidade, e com um bom reconhecimento por onde prestarmos nossos serviços.

São nos momentos práticos que observamos as teorias passadas pelos mestres em sala de aula. Somando todas as experiências, e sabendo usá-las, seremos profissionais preparados para enfrentarmos o mercado de trabalho, que está cada vez mais exigente e competitivo.

O estágio serviu para obter uma abordagem prática e experiente na vida profissional. Sendo todo o estudo gerado para a elaboração desse trabalho, tem grande relevância para minha formação, pois é a confirmação dos conhecimentos e a certeza da área que pretendo seguir em minha carreira profissional, como médico veterinário.

## 6. REFERÊNCIAS

ALJARRAH, A. H. **Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares**. 2004. 65f. (Dissertation) - Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA.

AURICH, C.; BURGMANN, F.; HOPPE, H. Opioid regulation of luteinising hormone and prolactin release in the horse-identical or independent endocrine pathways? **Animal Reproduction Science**, v. 44, n. 2, p. 127- 134, 1996b.

BISOL, J. F. W. **Fotoperíodo artificial sobre a atividade reprodutiva de éguas durante a transição outonal**. 2007. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2007.

BRADSHAW, W. E.; HOLZAPFEL, C. M. **Evolution of animal photoperiodism. Annual review of ecology, evolution and systematics**, v. 38, p. 1-25, 2007.

DAVID, F. F. A. **Fotoperíodo artificial no verão podeevitar anestro estacional na égua?** 2010. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2010.

Dubocovich M.L., Masana M.I., Iacob, S. & Sauri, D.M. 1997. Melatonin receptor antagonists that differentiate between the human Mel1a and Mel1b recombinant subtypes are used to assess the pharmacological profile of the rabbit retina ML1 presynaptic heteroreceptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 355 (3): 365-375.

Dubocovich M.L. & Markowska M. 2005. Functional MT1 and MT2 Melatonin Receptors in Mammals. *Endocrine*. 27 (2): 101–110.

FERREIRA, A. I. T. **Reprodução equina**. 2009. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Porto, Porto, 2009.

GERLACH, T; AURICH, J. E. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. **Animal Reproduction Science**, v. 58, n. 3-4, p. 197–213, 2000.

GINTHER, O. J. In: **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI, USA, p 137-144, 1979.

GOUDET, G. et al. Intrafollicular content of luteinizing hormone receptor, a-inhibin, and aromatase in relation to follicular growth, estrous cycle stage, and oocyte competence for in vitro Maturation in the Mare. **Biology of Reproduction**, v. 60, p.1120–1127, 1999.

GINTHER, O. J. et al. Characterisation of pulses of 13,14- dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub>α (PGFM) and relationships between PGFM pulses and luteal blood flow before, during, and after luteolysis in mares. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 684-693, 2008.

GUILLAUME, D. et al. Determination of the minimum light treatment required for photostimulation of winter anoestrous mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 56, p. 205-216. 2000.

KOOISTRA, L. H., GINTHER, O. J. Effect of photoperiod on reproductive activity and hair in mares. **Am. J. Vet. Res.** 36, p. 1413-1419. 1975.

Masana M.I. & Dubocovich M.L. 2001. Melatonin Receptor Signaling: **Finding the Path Through the Dark**. Science-Signal Transduction Knowledge Environment. 107: pe39.

MURRELL, S. L. **Efficacy of oral altrenogest for postponing ovulation in the mare**. 2003. 86f. (Master of Science). Texas A&M University, Texas, USA.

Reiter R.J., Tan D.X., Manchester L.C., Paredes S.D., Mayo J.C. & Sainz R.M. 2009. Melatonin and reproduction revised. **Biology of Reproduction**. 81 (3): 445-456.

Reppert S.M., Weaver D.R. & Godson C. 1996. Melatonin receptors step into the light: cloning and classifications of subtypes. **Trends in Pharmacological Sciences**. 107: 100-102.

SAMPER, J. C. Artificial insemination with fresh and cooled semen. In: SAMPER, J. . **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. 2. ed. Estados Unidos: Elsevier Health Sciences, p. 165-174, 2008.

Slaughaupt S.A., Roca A.L., Liebert C.B., Altherr M.R., Gusella J.F. & Reppert S.M. 1995. Mapping of the gene for the Mel1a-melatonin receptor to human chromosome 4 (MTNR1A) and mouse chromosome 8 (Mtnr1a). **Genomics**. 27(2): 355–357.

SMITH, M. J.; JENNES, L. Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. **Reproduction**, v. 122, n. 1, p 1–10, 2001.

TAROUCO, K. A. **Fisiologia reprodutiva da égua**. Estacionalidade Reprodutiva: A Estacionalidade dos acasalamentos, na maioria das espécies. Disponível em: <https://xa.yimg.com/kq/.../FISIOLOGIAREPRODUTIVADAEGUA.doc>. Acesso em: 22/09/2013.