



## Pontos críticos na produção de embriões equinos com enfoque na doadora

*Critical points in the production of equine embryos with a donor approach*

**Gustavo Mendes Gomes e Leticia Patrão de Macedo Gomes**

Curso de Medicina Veterinária Univassouras, RJ

### Resumo

Inúmeras são as vantagens da utilização da técnica de transferência de embriões (TE) em equinos. No entanto, alguns fatores podem afetar a taxa de recuperação embrionária: dia da colheita do embrião; condição uterina e idade da doadora; manejos reprodutivo, sanitário e nutricional; garanhão/qualidade do sêmen; habilidade do técnico; condições climáticas, número de ovulações e adaptação da doadora. O objetivo deste artigo é revisar os fatores que podem exercer influência sobre a taxa de recuperação embrionária tendo impacto direto nos índices reprodutivos de um programa de TE.

**Palavras chave:** Transferência de embriões; éguas; taxa de recuperação

### Abstract

*There are countless advantages of using the embryo transfer (ET) technique in horses. However, some factors may affect the embryonic recovery rate: day of embryo collection; uterine condition and donor age; reproductive, health and nutritional management; stallion/ semen quality; skill of the technician; climatic conditions, number of ovulations and adaptation of the donor. The objective of this article is to review those factors that can influence the embryonic recovery rate, having a direct impact on the reproductive rates of an ET program.*

**Key words:** embryo transfer; equine; recovery rates

### Introdução

O uso da técnica de transferência de embriões (TE) em equinos tem crescido muito nos últimos anos. O Brasil lidera a produção de embriões coletados representando 50% da produção mundial (Losinno & Urosevic, 2015). Apesar dos grandes benefícios que a transferência de embrião traz para a equideocultura, a taxa de recuperação embrionária pode ser influenciada por fatores relacionados à égua doadora de embriões em questão.

O presente artigo tem como objetivo abordar os principais fatores que podem afetar a recuperação embrionária em programas de transferência de embriões equinos.

### Fatores que influenciam a taxa de recuperação embrionária

O sucesso de um programa de transferência de embriões pode ser determinado pela recuperação embrionária e pelas taxas de prenhez. A taxa de recuperação de embriões é influenciada por características intrínsecas da doadora (idade, status e manejo reprodutivo), do sêmen utilizado e do dia da coleta do embrião. Já a taxa de prenhez é afetada por características da doadora, do embrião e, principalmente, da receptora utilizada.

A taxa de recuperação embrionária é um fator determinante para o sucesso na de um programa de TE e pode ser influenciada por vários fatores, que serão discutidos a seguir.

### Dia da colheita

Geralmente a recuperação embrionária é realizada entre os dias 7 (D7) e 8 (D8) após a ovulação (D0), exceto quando se deseja congelar o embrião. Neste caso específico, a recuperação embrionária deverá ser realizada no 6º dia (D6) após a ovulação, entretanto há um decréscimo de 10% a 15% no índice de recuperação embrionária (Squires et al, 1999). O D8 é considerado o dia ideal para a coleta, entretanto recomenda-se o D6 ou D7 para doadoras que apresentam infecção uterina e D9 para éguas idosas.



### **A doadora de embriões**

Características da própria doadora, como a condição uterina e a idade, são fatores importantes e que influenciam na taxa de recuperação embrionária.

As éguas idosas podem constituir uma grande parte do contingente de doadoras de embriões, principalmente quando se trata de éguas de genética superior previamente comprovada na reprodução pela progênie apresentada (Alonso et al., 2005).

Em relação à taxa de recuperação de embriões, observa-se uma queda de acordo com a idade da doadora. Em éguas jovens (2 a 4 anos) a média de recuperação embrionária é de 85%; em éguas adultas (4 a 18 anos) de 64,4% e para éguas velhas de 24,1% (Squires, 1995).

Há uma significativa redução na taxa de recuperação embrionária de éguas sub-férteis em relação às clinicamente normais. Normalmente, um potro vale o dobro do custo da transferência de embrião, e em caso de éguas sub-férteis e/ou idosas, esse custo pode ser três vezes maior. Estudos comprovaram que embriões recuperados de éguas sub-férteis são menores e possuem mais defeitos morfológicos do que os embriões de éguas férteis. Normalmente, as falhas reprodutivas observadas em éguas velhas estão associadas a distúrbios da ovulação e maturação oocitária concomitante ou não à endometrite crônica, bem como distúrbios hormonais (deficiência de FSH, LH, E2, T4, etc.). Os sinais mais frequentes são as endometrites crônicas, distúrbios de ovulação, obesidade (metabolismo baixo), baixa recuperação embrionária, perdas embrionárias precoces, associadas ou não a idade avançada de acordo com Gomes e Gomes (2008).

### **Manejo reprodutivo**

O controle folicular eficiente tem papel fundamental em um programa de TE. É necessário que seja diário para as doadoras, podendo ser a cada 48 horas para as receptoras. O uso do aparelho de ultrassonografia é recomendado para se detectar com exatidão o momento da ovulação. Visando obter bons índices de recuperação de embriões, recomenda-se o uso de inseminação artificial (IA) com sêmen fresco que seja realizada a cada 48 horas, para o sêmen refrigerado a cada 24 horas e preferencialmente utilizar sêmen com até 24 horas de refrigeração. O ideal é induzir a ovulação, pois desta forma apenas uma IA é necessária, antes da ovulação ou eventualmente até 6 horas após, especialmente quando se utiliza sêmen congelado.

O exame detalhado através da ultrassonografia é necessário para detectar a ovulação, bem como avaliar se há resquício ou excesso de resposta inflamatória (fluido uterino) após a I.A.

Tratamentos uterinos e um controle folicular eficiente são extremamente importantes para obter índices acima da média em relação a lavados uterinos positivos.

### **Garanhão e acondicionamento do sêmen**

O garanhão tem uma grande influência em relação à recuperação embrionária, uma vez que alguns animais irão apresentar sêmen de melhor qualidade e fertilidade quando comparado a outros (Gomes e Gomes, 2008). Outro fator que contribui para esse fato é que raramente a seleção de um reprodutor é feita levando em consideração sua capacidade fertilizante, sendo na maioria das vezes por suas características morfológicas e atléticas (Camargo et. al., 2013).

Os efeitos do garanhão podem ser minimizados com utilização de reprodutores com fertilidade comprovada. Se a opção é utilizar um garanhão de fertilidade conhecidamente baixa recomenda-se esclarecer desde o início ao proprietário que os índices podem ser abaixo da média. Se não houver conhecimento prévio da fertilidade do garanhão e por ventura ocorrerem dois lavados negativos sucessivos (sem recuperação de embrião), recomenda-se substituir o garanhão para se eliminar a suspeita de que o reprodutor em questão seja o problema.

Outro fator de grande influência na fertilidade se refere ao sistema que se encontra acondicionado o sêmen que será utilizado, seja sêmen fresco, refrigerado ou congelado. No Brasil, por suas características geográficas (dimensão continental) o uso do sêmen refrigerado e congelado se torna cada vez mais necessário, principalmente pelo número de proprietários que apresentam condomínios de garanhões.

Alvarenga e Tongu (2017) apontaram alguns dos principais erros em relação ao uso do sêmen refrigerado no Brasil, como o não respeito às regras básicas para processamento, o não respeito às limitações do garanhão e momentos de inseminações artificiais inadequados. Em relação à qualidade do sêmen e seu acondicionamento, Squires et. al. (1999), relataram que o sêmen fresco, geralmente, gera



melhores resultados de recuperação embrionária quando comparado ao sêmen refrigerado ou congelado, aspecto que deve ser ponderado quando se trata do uso em éguas idosas ou subfêrteis, pois estar associando problemas que afetaram no sucesso da Técnica.

### **Técnico**

O técnico tem influência direta nos resultados do programa de transferência de embriões principalmente em relação à experiência, os conhecimentos e à destreza em relação à realização da técnica.

### **Exercício físico**

De acordo com revisão feita por Jacob et al. em 2019, autores relataram que éguas doadoras submetidas à intensa atividade física têm baixa taxa de recuperação embrionária, produzem embriões de baixa qualidade e mostram baixas taxas de gestação nas receptoras. Além disso, tem sido relatado que os níveis moderados de exercício em éguas cíclicas aumentam as concentrações de cortisol, diminuem a concentração plasmática de LH e acarretam alterações na dinâmica folicular, resultando em um aumento no período interovulatório quando comparado a éguas que não estavam em treinamento (Kelley et al., 2011).

Entretanto Vazquez et al., (2010) e Pessoa et al.(2011) puderam concluir que, em condições normais de treinamento, o exercício não afetou negativamente a eficiência TE em éguas em competição.

### **Nutrição**

A má nutrição ou a obesidade de uma égua afeta diretamente nos resultados reprodutivos da mesma. A deficiência de minerais e vitaminas na dieta tem sido relacionada ao aumento da incidência de problemas reprodutivos como o atraso da idade a puberdade, a redução das taxas de concepção e prenhez, o período de serviço elevado, bem como o alto índice de repetição de cio e abortos (Pinheiro, 2009).

A avaliação do escore corporal (ECC) das éguas é uma ferramenta importante. O escore corporal estará diretamente correlacionado com a capacidade reprodutiva, influenciando as taxas de concepção, intervalo entre partos, duração da gestação, número de ciclos, duração do ciclo estral e perdas embrionárias (Gastal et. al., 2004).

### **Condições Climáticas**

Em relação à influência da temperatura na recuperação de embrião equino, Nogueira et. al., (2011) obtiveram uma taxa de recuperação embrionária de 52,8% em dias de temperatura superior a 25°C e uma taxa de 81,8% em dias de temperatura inferior a 25°C. Em um estudo realizado em 2015, Oliveira e colaboradores observaram uma maior taxa de recuperação embrionária (71%) a 26°C e redução significativa à temperatura de 29°C com uma taxa de 51,4%.

Em 2015 em um estudo realizado em Vassouras (RJ), foram registradas diariamente a taxa precipitação com auxílio de um pluviômetro e a temperatura com termômetro ambiente. Foram analisadas temperaturas médias, amplitude térmica (diferença na temperatura às 8 horas e às 16 horas) e incidência de chuva em três momentos distintos do ciclo estral das éguas: D0 (dia da ovulação da doadora), D5 e D8. Não foi observada influência das temperaturas médias e amplitude térmica em relação à produção de embriões ( $p=0,6$ ), mesmo em dias de grande amplitude térmica. Porém, houve influência da chuva sobre a taxa de recuperação embrionária ( $p=0,0958$ ), sendo que em dias sem chuvas a probabilidade de recuperação foi de 91,46% e na ocorrência de chuva nos momentos avaliados a taxa de sucesso foi reduzida para apenas 12,54% (Ribeiro et al. 2015).

Gomes e Gomes, (2008) estudaram a influência das chuvas na recuperação embrionária equina, comparando as taxas de lavados positivos entre os meses de índices pluviométricos dentro da média e os meses com chuvas acima das médias e obtiveram taxas de 66% de recuperação embrionária nos meses com chuvas dentro das médias, e de 45% nos meses mais chuvosos. Outro fato observado foi o aumento da incidência de folículos hemorrágicos nos meses de maiores precipitações, onde se destacou o mês de fevereiro de 2007 com 11,7% de ocorrência. Os autores acreditam que essa maior ocorrência de folículos hemorrágicos possam ter ocorridos em função das chuvas acima da média, uma vez que McCue & Squires, (2002) já haviam relatado que os períodos mais chuvosos podem aumentar a incidência de folículos hemorrágicos nas fêmeas equinas. De acordo com esses autores, o índice de formação de folículo



hemorrágico varia de 2 a 8% sendo observado com maior incidência no início e no final da estação de monta.

### Número de ovulações

Os protocolos superovulatórios têm se mostrado eficientes em induzir múltiplas ovulações (4 a 5 ovulações/égua), contudo a recuperação embrionária é baixa, com uma média de 30% embriões/ovulação de acordo com revisão feita por Alvarenga e Tongu (2017). Durante o processo de múltiplas ovulações podem ocorrer falhas na captação dos ovócitos para o oviduto em éguas.

Nagao et al. (2012) demonstraram que o uso de baixas doses de acetato de deslorelina próximo a dominância folicular, induzem duplas ovulações em éguas da raça brasileira de Hipismo e melhoram as taxas de recuperação embrionária. Segabinazzi et al. (2015) compararam 2 protocolos, com e sem acompanhamento folicular durante o tratamento com deslorrelina (Sincrorrelin® - Ouro Fino, Brasil) e obtiveram taxas de 91% e 44% de duplas ovulações, respectivamente.

### Adaptação à central de embriões ou haras

Em determinados momentos, existe a necessidade de mudança de local da doadora de embriões, seja por sociedade entre criadores de cavalos, ou por falta de estrutura na fazenda para realização da transferência de embriões ou chegada após compra de um animal específico. Desta forma, a égua necessita de um período de adaptação às novas condições em que foi alojada, seja em relação ao novo manejo e/ou diferença de clima do local de onde veio (Gomes e Gomes, 2008). Em alguns casos é necessário um período longo de até um ano, o que pode levar a perda da estação de monta. Nas adaptações mais prolongadas o animal apresenta ciclos irregulares, baixo índice de recuperação embrionária e em casos extremos pode entrar em anestro.

Taveiros et. al. (2008), mudando as éguas doadoras de uma central no sudeste para o nordeste, puderam observar uma diminuição na atividade reprodutiva das mesmas, principalmente nos primeiros meses, e eles associaram o ocorrido ao estresse do deslocamento e a adaptação dessas fêmeas ao novo ambiente e manejo.

### Considerações finais

É necessário estar atento aos fatores que podem afetar os índices de recuperação embrionária, pois eles podem ser decisivos em relação ao sucesso da estação de monta de uma determinada doadora. Alguns destes fatores são difíceis de serem contornados, entretanto, outros fatores como o manejo nutricional, a frequência ou intensidade da atividade física, bem como aspectos ligados à técnica em si (intensidade do monitoramento reprodutivo, dia de colheita do embrião, tipo de sêmen usado) podem e devem ser adaptados para favorecer um melhor resultado em relação à reprodução das doadoras e, com isso, aumentar as chances de recuperação embrionária, principalmente no caso de doadoras idosas ou subfêrteis e quando do uso de sêmen refrigerado ou congelado.

### Referências

- Alonso, MA.** et al. Efeito da idade da égua doadora na taxa de perda embrionária. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.204, 2005.
- Alvarenga MA, Tongu EA.** Estratégias para melhorar a eficiência produtiva em programas de transferências de embrião de equinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.19-24, 2017.
- Camargo CE, et al.** Aspectos relacionados com a recuperação embrionária em éguas da raça brasileiro de hipismo, utilizadas em programa comercial de transferência de embrião. *Veterinária e Zootecnia*, v.20, n.1, p.74-83, 2013.
- Gastal MO, Gastal EL, Spinelli V, Ginther OJ.** Relationship between body condition and follicle development in mares. *Animal Reproduction*, v.1, n.1, p.115-121, 2004
- Gomes GM, Gomes LPM.** Fatores que influenciam a produção de embriões em éguas doadoras. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 36, p. 199-206, 2008.
- Jacob JCF, Guerson YB, Ferraz PJ.** Como melhorar os índices reprodutivos em um programa de transferência de embrião. In: *Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Gramado, 2019.



- Kelley DE, et al.** Exercise affects both ovarian follicular dynamics and hormone concentrations in mares. *Theriogenology*, v.76, n.4, p.615-622, 2011.
- Losinno L, Urosevic IM.** Equine embryo transfer. Technical and practical considerations for application on horse production programs. *Proceedings...19th Int. Congress on Biot. in Anim. Reprod. (ICBAR)*. Novi Sad, Serbia, p.23-30, 2015.
- McCue PM, Squires EL.** Persistent anovulatory follicles in the mare. *Theriogenology*, v.58, p.541-43, 2002.
- Nagao JF et al.** Induction of double ovulation in mares using deslorelin acetate. *Anim Reprod Sci*, v.136,p. 69-73, 2012.
- Nogueira, IV, et al.** Influência do clima na recuperação embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador no município de Vassouras RJ. *Rev. Saúde,v.2, p.27-34,2011.*
- Pessoa MA, Cannizza AP, Righini MFS, Alvarenga MA.** Embryo Transfer Efficiency of Quarter Horse Athletic Mares. *J Equine Vet Sci*, 31, 703-705, 2011.
- Pinheiro EM.** A importância da égua receptora nos programas de transferência de embriões em equinos. <http://hdl.handle.net/10183/133647>, 2015.
- Ribeiro LR, Crespilho AM, Macedo LP; Diogo SCC, Gomes GM.** Influência da temperatura ambiente sobre a recuperação de embriões equino. In: V ENICT-JR - USS, 2015. *Anais do XIV ENIC. VASSOURAS: USS, 2015. v. 14. p. 98-260.*
- Segabinazzi LG et al.** Indução de múltiplas ovulações em éguas com baixas doses de acetato de deslorelina sem acompanhamento folicular prévio. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, v.11, p.1488-1494, 2015.
- Squires EL, McCue PM, Vanderwall P.** The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*. v. 51, p. 91-104, 1999.
- Taveiros AW et al.** Perda de conceito em programa de inseminação artificial e de transferência de embriões em equino da raça Mangalarga Marchador. *Med. Vet. (Brasil)*, v.2, p.28-33, 2008.
- Vazquez JJ, et al.** Influence of environmental temperature, exercise, semen type and ovulation characteristics on reproductive performance in a commercial embryo transfer program. *Anim Reprod Sci*, v.121S, p.284-5, 2010.
-