

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITOS AMBIENTAIS SOBRE A VELOCIDADE DE CRESCIMENTO
E O DIÂMETRO FOLICULAR DE ÉGUAS**

Edmêe Aparecida Fleury Curado
Orientador: Dr. Marco Antônio de Oliveira Viu

GOIÂNIA
2017



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Edmêe Aparecida Fleury Curado

Título do trabalho: Efeitos ambientais sobre a velocidade de crescimento e o diâmetro folicular de éguas.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento **SIM** **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Edmêe A. F. Curado
Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Alano Antônio de O. Ven
Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 29 / 01 / 2018

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

EDMÊE APARECIDA FLEURY CURADO

**EFEITOS AMBIENTAIS SOBRE A VELOCIDADE DE CRESCIMENTO
E O DIÂMETRO FOLICULAR DE ÉGUAS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de concentração:

Produção Animal

Linha de pesquisa:

Interface entre desempenho produtivo, reprodutivo, aspectos genéticos e ambientais na produção animal.

Orientador:

Prof. Dr. Marco Antônio de Oliveira Viu – UFG

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dra. Maria Lúcia Gambarini Meirinhos –
UFG

Prof. Dr. Dyomar Toledo Lopes – UFG

GOIÂNIA

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Curado, Edmee Aparecida Fleury
EFEITOS AMBIENTAIS SOBRE A VELOCIDADE DE
CRESCIMENTO E O DIÂMETRO FOLICULAR DE ÉGUAS [manuscrito]
/ Edmee Aparecida Fleury Curado. - 2017.
xii, 30 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio de Oliveira Viu; co-orientadora
Dra. Maria Lúcia Gambarini; co-orientador Dr. Dyomar Toledo Lopes.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, Goiânia, 2017.

Inclui abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

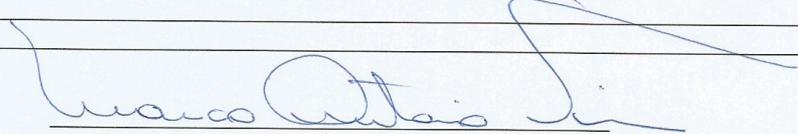
1. Extrato de hipófise inverno. 2. Extrato de hipófise verão. 3. Indução
do estro. 4. Reprodução de equinos. 5. Tratamento hormonal. I. Viu,
Marco Antônio de Oliveira, orient. II. Título.

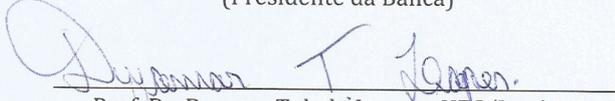
CDU 639.09

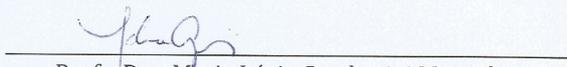
1 ATA NÚMERO 46 DA SESSÃO DE JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
2 MESTRADO DO (A) ALUNO **Edmêe Aparecida Fleury Curado** do Programa de Pós-
3 Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de
4 Goiás. Aos **20/10/2017**, a partir das **14h00min**, na sala de Reuniões do Departamento
5 de Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, nesta
6 Capital, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada "**Efeitos
7 ambientais sobre a velocidade de crescimento e o diâmetro folicular de éguas**",
8 apresentado para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia**, junto à área de
9 Concentração: Produção Animal. Os trabalhos foram instalados pelo (a) Presidente da
10 Comissão Julgadora, Orientador (a) **Prof. Dr. Marco Antonio de Oliveira Viu -**
11 **UFG/Jataí-GO**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora, **Prof. Dr.**
12 **Dyomar Toledo Lopes - UFG/Jataí-GO** e **Profa. Dra. Maria Lúcia Gambarini**
13 **Meirinhos**. Iniciando os trabalhos, a Presidente concedeu a palavra ao (a) candidato (a)
14 **Edmêe Aparecida Fleury Curado**, para exposição em **QUARENTA MINUTOS** do seu
15 trabalho. A seguir, o senhor Presidente concedeu a palavra, pela ordem, aos demais
16 membros da banca, os quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo
17 máximo de **VINTE MINUTOS**, assegurando-se ao mesmo, igual prazo para responder aos
18 Senhores Membros da Banca Examinadora. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos
19 termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento,
20 considerando o (a) candidato (a) Aprovada (aprovado/reprovado) pelos seus
21 membros. Proclamados os resultados da Banca Examinadora, foram encerrados os
22 trabalhos e, para constar lavrou-se a presente ata que, após lida e achada conforme vai
23 assinada pelos membros da Banca Examinadora.

24 A Banca Examinadora aprovou a seguinte modificação no título da dissertação:

25 _____
26 _____
27 _____
28 _____
29 _____


Prof. Dr. Marco Antonio de Oliveira Viu - UFG/Jataí-GO
(Presidente da Banca)


Prof. Dr. Dyomar Toledo Lopes - UFG/Jataí-GO


Profa. Dra. Maria Lúcia Gambarini Meirinhos

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, por eu só ter a dar graças.

Ao Abner, meu filho, que foi privado de minha presença, por longas horas desde pequeno.

Ao meu marido, Alexandre, pela presença como pai e paciência como marido de mãe mestranda.

Aos meus pais, João Luiz e Dora, pelo exemplo e total desejo em ajudar aos filhos. Cuidando do neto bebê e ainda dispondo de seus próprios animais para realização do meu mestrado.

Aos meus sogros, Adelcio e Angela, que cuidaram com amor incondicional de seu neto, sempre que necessário.

Ao meu orientador Marco Antônio de Oliveira Viu, pela oportunidade e disposição.

A professora Maria Lúcia, pela amizade, paciência, orientação, confiança e exemplo. Faltam palavras para agradecer todo empenho.

Aos professores Rodrigo Arruda e Cely Marini, pelos ensinamentos e acessibilidade.

Aos estagiários do setor: Barbara, Carol, Isabelle, João, Joel, Marcelo, Morgana e Renata, nada disso seria possível sem vocês.

Ao Sr. Orlando e Nenen, pela sempre boa ajuda com os animais.

A UFG, por mais esta oportunidade.

A CAPES pelo auxílio financeiro tão necessário

Enfim, aos animais, pela motivação e oportunidade que me proporcionam.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO — CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1	Ciclo estral da égua.....	3
2.2	Indutores de ovulação.....	11
2.2.1	PGF _{2α}	11
2.2.2	Extrato de pituitária equina - EPE.....	12
3	MATERIAL E METODOS.....	17
3.1	Local, período e animais.....	17
3.2	Manejo dos animais.....	17
3.2.1	Avaliações reprodutivas.....	17
3.2.2	Tratamentos.....	18
3.3	Análise estatística.....	19
4	RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	20
5	CONCLUSÕES.....	25
6	REFERÊNCIAS.....	26

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Eixo hipotalâmico hipofisário gonadal.....4
FIGURA 2 - Perfis hormonais e relações temporais com desenvolvimento folicular e lúteo durante o ciclo estral na égua.....10
FIGURA 3 - Hemisfério cerebral demonstrando a ligação entre o hipotálamo e a hipófise.. .13

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Número de ovulações, diâmetro do folículo ovulatório e horas/luz/dia, referentes aos meses de Dezembro de 2016 a Março de 2017.....	20
TABELA 2 - Relação de Índice de Temperatura e Umidade (ITU), Temperatura, Umidade, Ponto de orvalho, e Radiação Solar, nos meses de Dezembro de 2016 a Março de 2017.....	22
TABELA 3 - Número de dias que o folículo ovulatório levou até a ovulação e o seu diâmetro médio no dia da ovulação.....	23

LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS

CL	- Corpo lúteo
E ₂	- Estradiol-17 β
EPE	- Extrato de Pituitária Equina
EV	- Endo venoso
FSH	- Hormônio Folículo-estimulante
GH	- Hormônio de crescimento
GnRH	- Hormônio Liberador das Gonadotrofinas
GnRH _a	- Antagonista do Hormônio liberador de Gonadotrofinas
HCG	- Gonadotrofina Coriônica Humana
IGF ₁	- Fator de crescimento semelhante a insulina,
ITU	- Índice de Temperatura e Umidade
LH	- Hormônio Luteinizante
PGF _{2α}	- Prostaglândina F _{2α}
TRT	- Tratamento
UI	- Unidades Internacionais
VEGF	- Fator de crescimento endotelial vascular

Resumo

Devido ao atual comércio e tecnologia empregada na criação de equinos, existe procura por métodos reprodutivos efetivos, buscando a otimização dos recursos proporcionados pelo animal e pelo ambiente. Características hormonais da égua já conhecidas e usadas com efeito reprodutivo positivo, como o uso do extrato de pituitária equina (EPE) para induzir ovulação, pode ser melhor empregado se eliminarmos a heterogenicidade das amostras no momento da coleta. Este experimento foi conduzido com o objetivo de induzir o estro e a ovulação em éguas no final da estação de monta, com o uso de EPE coletado separadamente em diferentes épocas do ano - verão e inverno. Foram submetidas aos protocolos, 14 éguas sem raça definida, sendo 7 delas submetidas ao tratamento com EPE coletado no verão e as outras com EPE coletado no inverno. Todos estes animais foram inicialmente tratados como grupo controle, isto é, sendo monitoradas diariamente quanto as modificações ovarianas, uterinas e comportamentais, desde o início da Estação de Monta. A partir do início de março de 2017 (03/03/2017), estes animais foram randomicamente divididos para um dos tratamentos, que consistiram em uma aplicação por via intramuscular de 125 UI de EPE a cada 12 horas, até a verificação de um ou mais folículos com 34/35 mm, quando então cada uma recebia uma única aplicação de EPE via endovenosa contendo 500 UI, para induzir a ovulação, sendo a única diferença entre os grupos a época de coleta do EPE. Os resultados obtidos neste experimento permitiram concluir que a redução da incidência luminosa após o solstício de verão reduz o diâmetro do folículo ovulatório. Além de que o EPE-verão foi mais eficaz quando utilizado com o objetivo de manter o crescimento folicular em éguas durante o final da estação reprodutiva, resultando em folículos ovulatórios maiores.

Palavras-chave: Extrato de hipófise inverno, extrato de hipófise verão, indução do estro, reprodução de equinos, tratamento hormonal.

Abstract

Due to the current trade and technology used in equine breeding, there is a search for effective reproductive methods, seeking to optimize the resources provided by the animal and the environment. Hormonal mare characteristics already known and used with a positive reproductive effect, such as the use of equine pituitary extract (EPE) to induce ovulation, may be better employed if we eliminate the heterogeneity of the samples at the moment of collection. This experiment was conducted with the objective of inducing estrus and ovulation in mares at the end of the mating season, with the use of EPE collected separately at different times of the year - summer and winter. The protocols were 14 cross bred mares, of which 7 were submitted to treatment with EPE collected in the summer and the others with EPE collected in the winter. All of these animals were initially treated as a control group, that is, being monitored daily for ovarian, uterine and behavioral changes from the start of the breeding season. From the beginning of March 2017 (03/03/2017), these animals were randomly assigned to one of the treatments, which consisted of an intramuscular application of 125 IU EPE every 12 hours, until one or more follicles with 34/35 mm, when each one received a single intravenous EPE application containing 500 IU to induce ovulation. The only difference between the groups was the EPE collection season. The results obtained in this experiment allowed to conclude that the reduction of the light incidence after the summer solstice reduces the diameter of the ovulatory follicle. In addition, EPE-summer was more effective when used with the objective of maintaining follicular growth in mares during the end of the breeding season, resulting in larger ovulatory follicles.

Keywords: Winter pituitary gland, summer pituitary extract, estrus induction, equine reproduction, hormonal treatment.

1 INTRODUÇÃO — CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

A criação de equinos no Brasil vem apresentando números significantes e segundo dados do Ministério da Agricultura em 2013 foram movimentados R\$ 7,3 bilhões com o agronegócio associado aos equinos. Segundo a mesma fonte são oito milhões de cabeças, somando muares e asininos, empregando 3,2 milhões de pessoas. A inseminação artificial com sêmen refrigerado e transportado é, sem dúvida, a biotécnica mais utilizada na reprodução de equídeos no Brasil². Esta biotecnologia, junto com a transferência de embrião possibilita o maior desenvolvimento do setor através do ganho na eficiência reprodutiva e no incremento do melhoramento genético, favorecendo o aprimoramento das raças e seus cruzamentos³.

Quanto à metodologia de Inseminação Artificial a ser empregada, diversos fatores devem ser considerados, uma vez que podem ser muitas as variáveis envolvidas, desde a determinação do melhor momento para inseminar (pré e/ou pós-ovulação), a reposta inflamatória uterina da égua a ser inseminada e características individuais de qualidade do sêmen do garanhão, entre outros fatores⁴. O ideal é que se faça o controle folicular com acompanhamento ultra sonográfico em programas de inseminação de equinos, a fim de prever a ovulação e decidir o melhor momento para inseminação, limitando assim o número de inseminações⁵.

O comportamento reprodutivo padrão dos equinos é poliéstrico estacional, com os animais apresentando maior atividade estral essencialmente entre a primavera e o verão no hemisfério sul⁶. A duração do anestro varia entre éguas e, para a mesma fêmea entre anos. Esta variação se deve aos fatores inibidores como a nutrição, condição corporal, ganho ou perda de peso, inteiração social, temperatura ambiente e histórico reprodutivo⁷. Durante a transição do anestro para o poliestro fisiológico, a égua apresentará períodos variáveis de sinais comportamentais de estro sem efetivamente desenvolver estruturas foliculares significantes ou ovular⁸.

A duração média do ciclo estral de éguas da raça Árabe criadas na região Sudeste do Brasil foi de $24,24 \pm 6,00$ dias com $7,50 \pm 4,16$ dias de estro⁹. Intervalos muito curtos ou muito extensos podem ser considerados anormalidades⁸. A maioria das éguas ovulam 24 a 48 horas antes do fim do estro¹⁰. A inseminação na maioria das vezes é feita em dias alternados, inviabilizando economicamente a prática desta técnica⁹. Muitas éguas são cobertas ou inseminadas após a ovulação simplesmente porque ainda demonstram sinais de estro⁸.

Vários parâmetros sintomáticos e exploratórios para determinar a hora da

ovulação são usados na prática com equinos; no entanto, a complexidade dos mecanismos de ovulação e a duração do estro, sintomatologia estral e momento variável de ovulação são responsáveis pela falta de exatidão quanto à previsão do momento mais próximo de ovulação¹¹. A ultra sonografia é o meio mais objetivo para avaliar e monitorizar o desenvolvimento folicular, começando com folículos tão pequenos como os de 2 mm¹¹. Entretanto, apesar destes parâmetros estarem estabelecidos para a maioria das raças de equinos, o diâmetro folicular pré-ovulatório assim como a duração do ciclo estral é amplamente variável¹².

Para aumentar a taxa reprodutiva e os ganhos de produção, técnicas de reprodução assistida como a transferência de embriões vem sendo empregada, em especial em éguas de alto valor da progênie esperada, ocupação de um dos pais, ou problemas reprodutivos de um destes, como ambiente uterino hostil ou baixa fertilidade do macho⁸. A utilização de hormonioterapia para indução da ovulação permite a previsão do momento desta em um intervalo de tempo específico, permitindo planejamento e agendamentos dos serviços¹³.

Muitos são os hormônios usados com o intuito de otimizar a eficiência reprodutiva desta espécie, entre eles os tidos como indutores de ovulação em éguas como a Gonadotrofina Coriônica Humana - HCG, Hormônio Liberador das Gonadotrofinas - GnRH e seus análogos, Prostaglândina F2 α e seus análogos e o Extrato de Pituitária Equina - EPE¹⁴. O insucesso normalmente está ligado a utilização desses agentes em momento inadequado¹⁴.

Esse experimento foi desenvolvido com os objetivos de estudar variáveis relacionadas com duração do período de crescimento folicular e o uso de EPE em éguas durante o período de transição do verão para o outono, na região Centro Oeste do Brasil. Procurando uma estratégia para éguas ainda vazias no final da estação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ciclo estral da égua

A égua é poliéstrica estacional, apresentando maior atividade estral essencialmente entre a primavera (21 de setembro a 21 de dezembro) e o verão (21 de dezembro a 21 de março) no hemisfério sul, estações de dias longos⁶. Durante a estação reprodutiva, a égua não prenhe têm recorrentes ciclos estrais¹⁵. Isso ocorre devido às características fotossensíveis da espécie, que depende da luminosidade (fotoperíodo) para ativar o sistema neuro-endócrino através do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e assim desencadear a atividade reprodutiva¹⁶.

O principal tradutor do fotoperíodo é a glândula pineal, que produz melatonina em resposta à escuridão¹⁷. A melatonina é um dos reguladores do trajeto da retina para o Sistema Nervoso Central, chamado de trato retino-hipotalâmico⁸. O hipotálamo é o órgão responsável por converter os sinais neurológicos originados em estímulos externos e internos em descargas hormonais, e um de seus produtos é o GnRH¹⁸. O impulso nervoso é transportado através do nervo óptico para o núcleo supraquiasmático e depois para o gânglio cervical superior, o qual tem terminações neuronais adrenérgicas atingindo a glândula pineal onde o neurotransmissor serotonina é liberado e transformado em normelatonina e juntamente com a N-acetilserotonina o-metiltransferase (ASMT) sintetiza a melatonina¹⁹.

A melatonina, quando liberada, inibe a produção de gonadotrofina (GnRH) no hipotálamo e é a modulação da frequência e da amplitude da liberação do GnRH que afeta a produção hipofisária e libera os hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH)⁸. A secreção de GnRH é contínua, pulsada a cada hora durante o estro e a cada duas horas em diestrus¹⁹. As gonadotrofinas também são secretadas de maneira pulsátil em resposta ao modo de liberação do GnRH²⁰. Na égua, as gonadotrofinas LH e FSH são consideradas sob controle somente do GnRH²¹, como demonstrado na Figura 1.

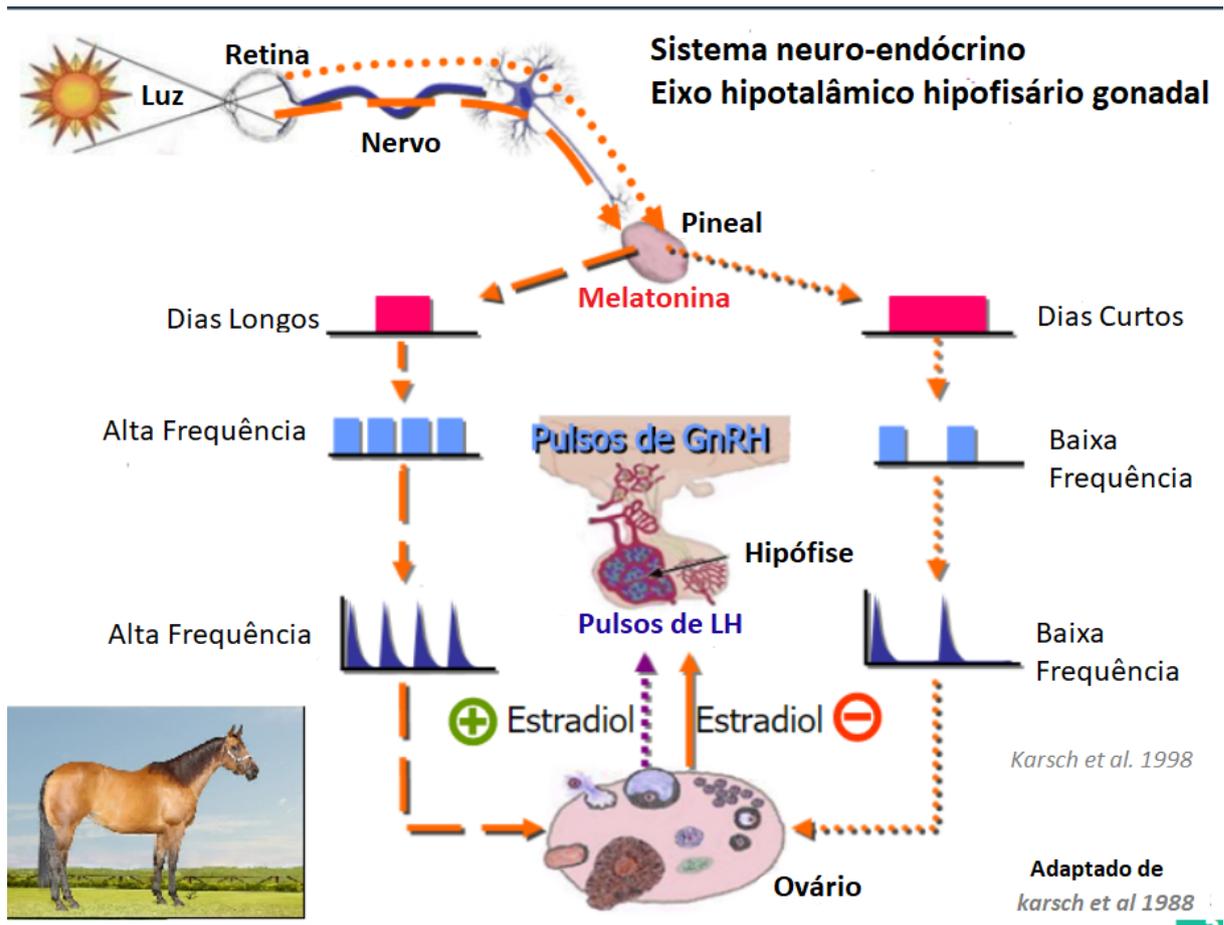


FIGURA 1 - Eixo hipotalâmico hipofisário gonadal.

Fonte: Karsch²²

O GnRH, quando produzido, entra no sistema vascular do portal hipotálamo-hipófise e é transportado para a adenohipófise, onde os hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) são sintetizados¹⁷. Estes hormônios, FSH e LH são sinérgicos no desenvolvimento dos folículos ovarianos e na ovulação, exercendo o controle do eixo hipotálamo-hipófise por mecanismo de retroalimentação determinante no ciclo estral da égua²⁴.

O FSH atua nas células da granulosa do folículo estimulando o crescimento, maturação folicular, formação do fluido folicular e a biossíntese de estrógeno, além de induzir a sensibilidade das células da granulosa ao LH, aumentando seu número de receptores^{17, 20}. Uma elevação dos níveis de FSH plasmático promove o recrutamento, ou seja, a continuidade do crescimento folicular²⁵. A emergência de cada onda folicular é temporariamente associada com um aumento de FSH²¹. O platô de FSH é alcançado quando o maior folículo atinge um tamanho maior que 13 mm de diâmetro²¹.

O LH se mantém a concentrações constantes durante o início da fase folicular e aumenta antes da ovulação, agindo nos estágios finais da maturação folicular através da maturação dos oócitos, na ovulação, e no estabelecimento e manutenção do corpo lúteo^{20, 17}. Durante o período pré-ovulatório, a frequência média de pulsos de gonadotrofina detectados na circulação periférica aumenta para aproximadamente um pulso por hora, enquanto durante a fase luteal a frequência de pulso cai para 0,1 pulsos por hora²¹. A bioatividade máxima de LH ocorre pouco antes da ovulação, com 1,9 pulsos por hora no momento da ovulação²¹.

Os fotorreceptores da retina capturam informação de estímulo da luz e a transformam em impulsos nervoso¹⁹. Em ambiente natural, períodos de 15 a 16 horas de duração do dia ou de estímulo luminoso, atuam sobre o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal para interromper a produção de melatonina⁸.

No início da primavera, as éguas entram em um “período de transição” entre a estação anovulatória e a primeira ovulação da estação; este período é caracterizado por ciclo estral irregular e alta incidência de regressão de folículo dominante². Baixos níveis de estradiol-17 β (E2) e inibina, devido à ausência de folículos pré-ovulatórios, inibem simultaneamente a retroalimentação negativa sobre o FSH, de modo que o seu nível permanece elevado¹⁹. As ondas foliculares vão se tornando maiores e com maior número de folículos, as concentrações crescentes de E2 do folículo pré-ovulatório induzirão aumento de LH, levando a primeira ovulação¹⁹. O período de transição para primavera tem um comprimento variável de 30 a 90 dias²¹. O fator mais importante para a reinicialização da atividade ovulatória no final da fase de transição é a ocorrência de picos de LH na circulação²¹.

No hemisfério norte, os primeiros cio da estação, do fim do inverno e do começo da primavera, são menos notáveis do que os do fim do ano (outubro a dezembro), quando os dias se tornam mais longos e as pastagens mais exuberantes²⁴. O comprimento do dia em qualquer parte do ano é também determinado pela latitude⁶. A duração do dia (natural ou induzido) é o determinante primário para a sazonalidade, a proximidade da linha do equador faz os equinos tenderem a perder a maior parte, se não toda, a sazonalidade⁸.

O ciclo estral consiste da fase folicular ou estro que envolve o processo ovulatório (onde a égua é sexualmente receptiva ao garanhão, e o trato genital é preparado para aceitar e transportar o esperma para o oviduto para fertilização) e fase lútea ou diestro (onde a égua não é receptiva ao macho, e o trato genital é preparado para aceitar e nutrir o concepto)¹⁵. Uma vez concluído o processo ovulatório, as concentrações de E₂ retornam aos níveis basais e, ao

mesmo tempo, completam o comportamento do estro em éguas¹⁹.

O comprimento médio do ciclo estral em éguas durante a estação de reprodução fisiológica é de 21 a 22 dias (intervalo, entre 18 a 24 dias), com estro compreendendo 4 a 7 destes dias⁸. Segundo Satué e Gordon¹⁹, a duração do estro varia essencialmente com a época do ano e é inversamente proporcional ao comprimento do dia, o que significa que se torna mais curto no pico da estação de monta.

Em éguas não prenhes, a prostaglandina F2 alfa ($PGF_{2\alpha}$) é secretada pelo endométrio entre os dias 13 e 16 depois da ovulação, induzindo a regressão do corpo lúteo e diminuição das concentrações de progesterona (P_4)²⁶. A $PGF_{2\alpha}$ uterina controla a vida útil do corpo lúteo, que, em contra partida, regula a extensão do ciclo²⁰. O diestro termina com a regressão do corpo lúteo, iniciando a próxima fase folicular e o comportamento estral¹⁵. Folículos grandes presentes na regressão do corpo lúteo tipicamente ovulam mais cedo, reduzindo assim o período estral associado²⁰.

A endocrinologia do ciclo estral envolve um balanço entre os hormônios produzidos pela glândula pineal, hipotálamo, glândula pituitária, ovários e endométrio¹⁹. O folículo é a estrutura ovariana que permite ao ovário desenvolver suas duas funções: a gametogênese e a esteroidogênese²⁰. Muitos folículos estão continuamente em crescimento e regressão, independente dos eventos hormonais, mas um grupo se torna responsivo e, dependente das gonadotrofinas, principalmente FSH, para continuar seu crescimento e diferenciação, o denominado recrutamento⁸.

A regulação de cada onda e seleção folicular envolve interações entre gonadotropinas circulantes específicas e fatores intrafoliculares, garantindo que cada folículo seja devidamente estimulado para crescer ou regredir em qualquer estágio de desenvolvimento¹⁹. Embora vários folículos possam estar presentes nos ovários, normalmente somente um ou dois crescem um diâmetro de 35 mm ou mais, são selecionados, estabelecem a dominância e chegam a ovular, os subordinados sofrem atresia^{27, 8}. No hemisfério Norte, os folículos atingem um tamanho de 8,5 mm maior na primavera do que no verão ou no outono e são 4,9 mm menores em ovulações múltiplas em comparação com sozinho¹⁹.

Durante a fase folicular há crescimento e produção de estrógeno, que resultam no comportamento de estro¹⁵. Em folículos antrais grandes, o fluido folicular contém concentrações marcadamente elevadas de estradiol 17β na fase folicular, e progesterona com a aproximação da ovulação²⁰. Folículos ovarianos viáveis também acumulam e secretam uma série de compostos não-esteróides ativos: fator inibidor da maturação ovocitária, inibidor da

luteinização, proteína inibidora, relaxina e inibina²⁰. O fluido folicular constitui o microambiente em que ocorre o desenvolvimento do oócito e maturação final e reflete o status fisiológico do folículo²⁸.

O folículo de maior tamanho é responsável pela maior quantidade de estrógeno secretado pelo ovário durante o cio, sendo que essa secreção decresce rapidamente durante o pico de LH²⁰. Os estrógenos têm um efeito de retroalimentação positiva sobre as células da granulosa, estimulando-as à divisão mitótica, e assim o folículo cresce quando a granulosa se prolifera em resposta ao seu próprio produto de secreção¹⁷. Os folículos que alcançam a dominância produzem inibina e estradiol e ambos suprimem a secreção do FSH, que aumenta a síntese de inibina e estradiol, assim, direta ou indiretamente, causam a regressão de outros folículos de sua própria onda e, mais tarde, evitam a emergência de folículos adicionais de uma nova onda⁸.

A inibição do crescimento de folículos menores não depende de mecanismos inibitórios folículo por folículo, mas envolve importantes mudanças no maior folículo, o aumento na sensibilidade a concentração de FSH circulante, mudanças na ecotextura e aumento do fluxo sanguíneo na parede^{21,29}. Um dia antes do desvio do diâmetro dos folículos, há um aumento intra-folicular no futuro folículo dominante do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF₁), o qual aumenta a sensibilidade das células deste folículo ao FSH, e assim como também há um aumento do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o qual aumenta a perfusão vascular da parede do folículo²⁹.

O futuro folículo dominante emerge no dia 10 a 6 mm, em média um dia antes do futuro folículo secundário, estes dois folículos crescem aproximadamente em paralelo durante a fase de crescimento comum até o desvio²⁹. O desvio ocorre 6 dias depois da emergência e o diâmetro médio deste e do folículo secundário no dia do desvio é 23 e 20 mm, respectivamente, equivalendo a diferença de diâmetro de um dia²⁹.

O desenvolvimento folicular tipicamente ocorre em duas ondas foliculares maiores durante o ciclo estral¹⁵. O padrão bimodal ocorre especificamente no início da estação ovulatória, enquanto o meio ou o final deste período apresentaram um padrão unimodal¹¹. Em contraste com o período de transição, caracterizado por ondas foliculares inferiores, na época de reprodução as ondas foliculares se desenvolvem, levando à formação de um folículo dominante¹⁹. A onda folicular na égua esta associada ao aumento de FSH, com um pico três dias antes do desvio, cerca de 13 dias pós-ovulação, quando os folículos em crescimento estão com cerca de 13 mm²⁹.

No final da estação reprodutiva, a diminuição da influência do fotoperíodo levam o FSH a apresentar um padrão bimodal novamente, como no início da estação de reprodução, com uma taxa de descarga de um pulso a cada dois dias³⁰. Deste modo, o diâmetro do folículo maior diminui gradualmente à medida que o período avança e com ele a síntese de E_2 ³⁰. Esta diminuição dos estrógenos inibe o aumento pre-ovulatório do LH que culmina na ausência de crescimento folicular e inibição de ovulação no início do inverno¹⁹.

A progesterona (P_4) também é secretada pelas células correspondentes à granulosa no corpo lúteo, desde o início da luteinização, logo após a ovulação³¹. Os níveis contínuos de P_4 durante diestro reduzem a frequência e a intensidade dos pulsos de GnRH por mecanismo de retroalimentação¹⁹. O corpo lúteo é formado por dois tipos celulares esteroideogênicos; as células luteínicas pequenas que secretam pouca progesterona estimuladas pelo LH e as células luteínicas grandes que secretam progesterona espontaneamente em alta proporção²⁰. No entanto, como os pulsos de FSH são superiores aos do LH, uma nova onda folicular é desenvolvida durante esse período¹⁹. A progesterona prepara o endométrio para implantação embrionária e manutenção da gestação aumentando a atividade secretora das glândulas endométrio, inibindo a contratilidade miometrial e o estro e mantém a liberação pulsátil basal de LH²⁰.

Durante o ciclo estral, o útero, a vagina e o endométrio da égua sofrem mudanças pronunciadas relacionadas às variações no meio endócrino²¹. Os estrógenos estimulam o crescimento uterino por meio de um mecanismo que envolve a interação do hormônio com receptores e o aumento dos processos de síntese dentro das células²⁰. Altas concentrações de estrogênio e baixas concentrações de progesterona contribuem para o aumento do edema da parede uterina, combinando a abertura do colo do útero e a atenuação do útero e da vagina²¹.

No estro as pregas uterinas tornam-se edematosas, com aparência de “torta fatiada”, vista na ultrassonografia, com alternância de linhas ecogênicas e anecoicas, projetando dentro do lúmen do corno uterino, relacionadas ao aumento do estrogênio³¹. As áreas ecogênicas correspondem às porções internas das dobras endometriais enquanto as porções anecoicas são indicativas da presença de edema na submucosa¹⁹. Aparentemente, um dos principais fatores que regula a presença e dissipação do edema endometrial é o equilíbrio entre as concentrações circulantes de estradiol e progesterona³².

Esta fase é dominada por um ou mais folículos pré-ovulatórios grandes (> 30 mm de diâmetro), por estradiol-17 β (E_2) e por sinais comportamentais de cio ou receptividade ao garanhão⁸. O período durante o qual o endométrio mostra uma ecotextura semelhante ao estro

não está precisamente correlacionado com a duração da fase folicular, porque algumas éguas podem não apresentar edema ou apresentar em um, ou poucos ou vários dias antes da ovulação, e outras podem apresentar 1 a 2 dias após da ovulação³². A duração da fase folicular com edema pode influenciar a taxa de prenhez das éguas com períodos de estro espontâneos ou induzidos por PGF³². Um período de menos de quatro dias de edema endometrial durante a fase folicular esta associado à redução da taxa de prenhez em éguas puras³².

Durante o estro cada ovulação é acompanhada por concentrações plasmáticas de progesterona baixas no sangue periférico (menor que 1 ng/mL)^{8, 15}. Em muitas éguas a aparência de edema nas pregas endometriais diminuem no final do estro antes da ovulação ocorrer³¹. Após a ovulação e desenvolvimento do corpo lúteo, o útero está sob a influência de progesterona e sua tonicidade aumenta, embora com tonicidade menor do que durante a gestação^{23, 19}.

Um a quatro dias após a ovulação, o estradiol diminui e, antes do corpo lúteo começar a produzir quantidades significantes de progesterona, a égua demonstra sinais equívocos de cio⁸. Durante o diestro, o útero tem uma ecogenicidade homogênea, e as pregas endometriais não são bem definidas³¹, a parede uterina tem uma contratilidade suave e o colo do útero está firmemente fechado e nenhum edema deve estar presente². Durante o anestro, o útero perde o tônus muscular e torna-se flácido¹⁹.

Toda esta variação hormonal durante o ciclo estral, assim como as mudanças correspondentes ocorridas nos ovários estão esquematizadas na Figura 2, exibida abaixo:

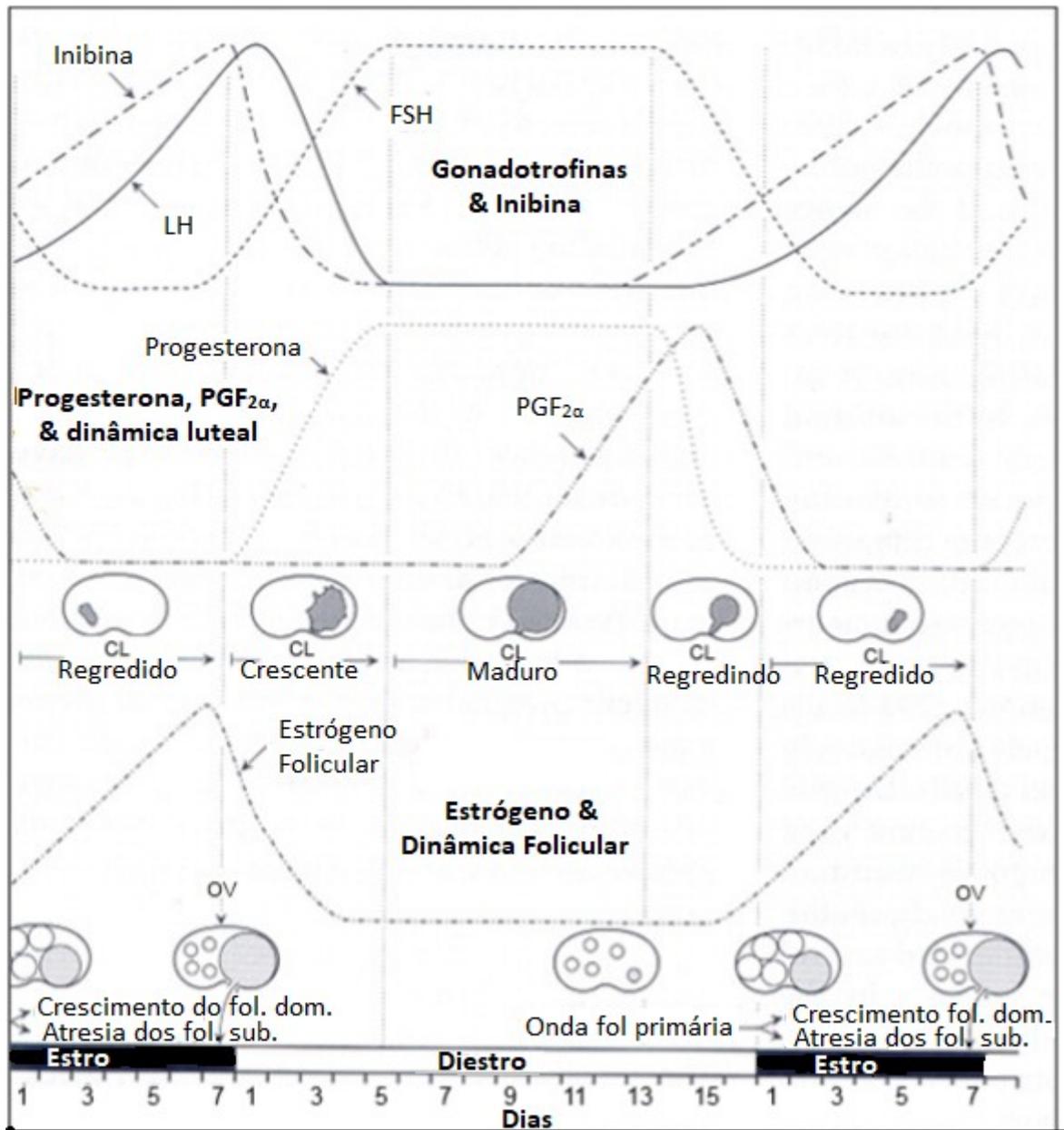


FIGURA 2 - Perfis hormonais e relações temporais com desenvolvimento folicular e lúteo durante o ciclo estral na égua.

Fonte: Satué¹⁹

O anestro verdadeiro é o período de inatividade ovariana sem ovulação, com baixos níveis séricos de P_4 , perda do tônus uterino e atrofia gonadal³³. Este período é resultado da redução na concentração do GnRH e LH no hipotálamo e na pituitária anterior, respectivamente, levando a ausência de atividade reprodutiva induzida por uma série de sistemas neuronais inibitórios que fazem a transmissão de fatores externos e internos como fotoperíodo, nutrição, temperatura e ritmo endógeno circadiano³⁴. O anestro inicia por persistência lútea seguida de inatividade folicular ou por inatividade folicular após um diestro

regular³³

2.2 Indutores de ovulação

A grande variação na duração do estro e no intervalo entre seu início e ovulação na espécie equina, e a difícil competência da sua previsão pelos métodos de palpação e ultrassonografia, torna necessário o uso de procedimentos para estimar o momento desta com a finalidade de obtenção de taxas de concepção superiores¹³. Vários são os tratamentos e hormônios usados para determinar o momento da ovulação na égua, facilitando o manejo.

2.2.1 PGF_{2α}

A PGF_{2α} e seus análogos são os hormônios mais utilizados na reprodução equina e apresenta uma excepcional contribuição quando utilizada sozinha para indução de cio³⁵. Dos tipos de PGF_{2α} amplamente utilizadas, o Cloprostenol, análogo sintético, tem a meia-vida mais longa e doses luteolíticas recomendadas muito inferiores às recomendadas para o análogo natural, Dinoprost, o qual está associado a mais efeitos colaterais³⁶,

A via intramuscular é a preferida, pois alia praticidade a menores efeitos colaterais em éguas cíclicas³⁵. A administração sistêmica de prostaglandinas está associada, em animais, a efeitos colaterais que afetam o sistema nervoso central (incoordenação, estupor e ataxia) e sistema vascular (contração do músculo liso de órgãos, como estômago, intestino e bexiga)³⁶. O retorno ao estro após a aplicação é observado em dois a quatro dias e a ovulação em sete a 12 dias³⁵. Já Mateu-Sánchez et al.³², cita intervalo tratamento – ovulação de 2 a 16 dias, independente do dia do ciclo estral no qual o tratamento é administrado.

De acordo com Pinto³⁶, a fase lútea do ciclo estral pode ser encurtada de forma confiável, permitindo que as éguas retornem ao estro em um tempo relativamente previsível (em média dois a cinco dias após a administração da PGF). Considerado o agente luteolítico primário em éguas, a PGF_{2α}, em fêmeas não gestantes, controla a lise do corpo lúteo (CL) que ocorre após sua liberação pelas células endometriais entre os dias 13 e 16 após a ovulação³⁷.

Nas éguas, um único tratamento com PGF induzirá a luteólise completa se administrado pelo menos cinco a seis dias após a ovulação³⁶. Segundo o mesmo autor, este fato levou à suposição de que o CL não responde aos efeitos luteolíticos da PGF antes de ter, pelo menos, cinco dias, apesar de alguns estudos iniciais terem relatado que algumas éguas respondem ao efeito luteolítico da administração de PGF quando tratadas no dia 3 após a

ovulação. Em éguas com Corpo-Lúteo maduro, o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou seus análogos sintéticos, induz uma queda rápida na concentração de progesterona ($<1 \text{ ng/ml}$)³².

Em trabalho desenvolvido por Irvine et al.³⁸ com Dinoprost, análogo natural da $\text{PGF}_{2\alpha}$, mesmo doses tão baixas quanto 0,5 mg por égua ($\sim 1.1 \mu\text{g} / \text{kg}$) demonstraram afetar a função lútea, no entanto a luteólise completa só foi alcançada quando as éguas foram tratadas duas vezes por 24 horas. Nesse estudo, esta baixa dose não induziu efeitos colaterais comuns (transpiração, comportamento de cólicas) geralmente associadas ao tratamento com PGF.

Thompson e Witherspoon³⁹ relataram a capacidade da PGF para induzir a luteólise parcial, seguida pelo ressurgimento da função CL, que se caracteriza por um aumento transitório nas concentrações de progesterona no sangue. Neste experimento, as éguas que receberam uma dose relativamente baixa (0,5 mg) de um análogo de PGF sintético, nove dias após a ovulação e começaram a sofrer uma diminuição nas concentrações de progesterona plasmática às 12 horas após o tratamento com PGF, seguido de ressurgimento nas concentrações de progesterona às 48 horas após o tratamento.

Diversos trabalhos avaliaram o efeito do tratamento com PGF para induzir estro nas taxas de prenhez e, embora a taxa de prenhez geral das éguas após os ciclos induzidos por PGF não seja diferente das taxas dos ciclos espontâneos, o intervalo tratamento ovulação influenciou significativamente a taxa de prenhez em ciclos induzidos por PGF em trabalho desenvolvido por Mateu-Sanchez et al.³². À medida que o intervalo tratamento ovulação se tornou mais longo, a taxa de prenhez aumentou, sendo menor (30,7%) em ciclos com um intervalo tratamento ovulação menor que 4 dias³². A variação na duração da fase folicular com progesterona basal e altos níveis de estradiol, pode afetar o padrão de expressão de genes endometriais relacionados a sobrevivência do embrião³². Embora o tratamento com PGF induz uma queda na progesterona circulante inferior a $1 \text{ ng} / \text{mL}$ entre 24 e 36 horas após o tratamento, as éguas que ovulam logo após o tratamento terão um período relativamente curto de progesterona basal e estrogênios elevados em comparação com outras éguas tendo um intervalo tratamento ovulação mais longo³².

2.2.2 Extrato de pituitária equina - EPE

O extrato de pituitária equina é um preparado parcial de gonadotrofina equina que pode ser utilizado em éguas para induzir ovulação e induzir ovulações múltiplas para coleta de ovócitos ou de embriões⁴⁰ e para diminuir o intervalo entre a indução e a ovulação³⁵. Não

induz a formação de anticorpos, contudo autores como Palmer⁴¹ cita que a heterogeneidade das amostras deve ser levada em conta.

A hipófise, também chamada de pituitária, é glândula situada na base do cérebro, e fisiologicamente divisível em hipófise anterior ou adeno-hipófise e hipófise posterior ou neuro-hipófise, entre elas existe a chamada parte intermédia³¹. Figura 3. O EPE é confeccionado a partir da hipófise de éguas que são enviadas a matadouros com vários relatos na literatura (Hart et al.⁴², Lapin e Ginther⁴³, Bonin et al.⁴⁴, Itho⁴⁵, Scoggin et al.⁴⁶, Alvarenga et al.⁴⁷), de diferentes protocolos utilizados e diferentes resultados.

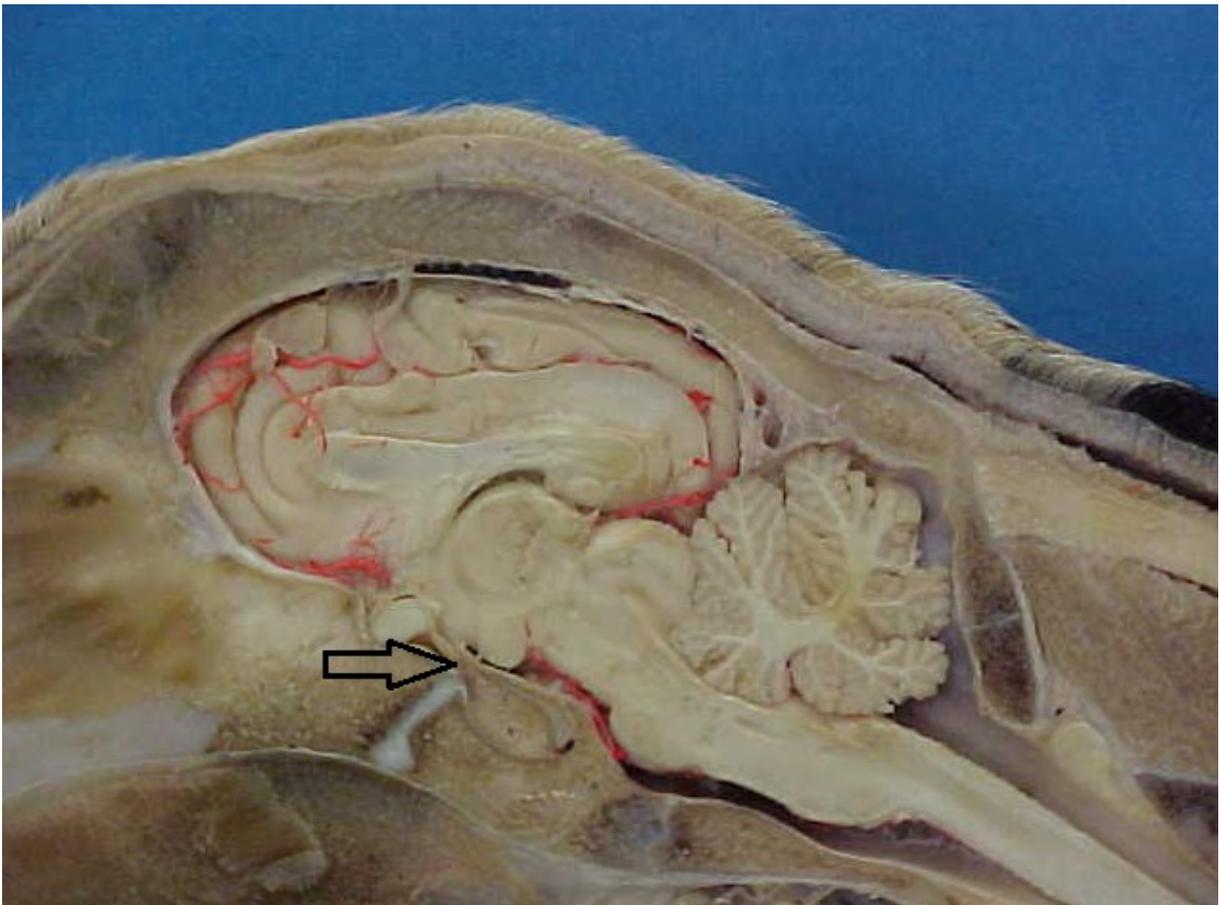


FIGURA 3 - Hemisfério cerebral demonstrando a ligação entre o hipotálamo e a hipófise.
Fonte: <http://vetuniube.blogspot.com.br/2600702017>

Carmo⁴⁸, utilizou EPE coletado de éguas abatidas em matadouro na cidade de Aragará, no estado de Minas Gerais para comparar doses constantes e decrescentes de EPE na indução de superovulação em éguas. Os níveis de FSH e LH presente foram avaliados na Universidade da Califórnia – Davis – EUA, através da técnica de radioimunoensaio, obtendo 493 µg de LH (60%) / 331 µg de FSH (40%).

Lapin e Ginther⁴³, utilizaram extrato bruto de hipófise equina para induzir ovulações únicas e múltiplas em éguas fora da estação reprodutiva. O número de ovulações por grupo e ovulações por égua foi maior no grupo tratado com EPE ou EPE + HCG que no grupo controle o qual foi utilizado solução salina. O intervalo do dia do tratamento com HCG até o dia da primeira ovulação subsequente foi menor nas éguas tratadas EPE + HCG (2,3 dias) do que nas éguas tratadas com somente com EPE (4,4 dias). Este trabalho mostrou que o EPE pode induzir a ovulação em éguas durante a estação anovulatória e indicou que o tempo de ovulação pode ser melhorado com HCG e que os óvulos de ovulações induzidas são fertilizáveis.

Em um segundo experimento, contudo durante a estação reprodutiva, Lapin e Ginther⁴³ tratou um grupo com EPE no 11º dia após a ovulação e outro no primeiro dia do estro, permanecendo um terceiro grupo como controle. As éguas tratadas receberam uma dose total de 4 mg / kg de peso corporal de EPE, divididos em seis injeções subcutâneas diárias iguais. O número de éguas com mais de uma ovulação foi maior ($P < 0,05$) para as éguas em que o tratamento foi iniciado no dia 11 após a ovulação (4/7) ou no dia 1 do estro (3/7) do que para os controles (0/7). Havia menos ($P < 0,01$) éguas que demonstravam cio durante o primeiro período ovulatório pós-tratamento quando tratadas durante diestro em comparação com as éguas de controle. Sendo que, três das éguas que não mostravam cio tiveram múltiplas ovulações e uma não ovulou. Houve um maior ($P < 0,05$) número de folículos > 25 mm na primeira ovulação pós-tratamento quando as éguas foram tratadas durante diestro (3,2) ou estro (2,4) do que quando as éguas não foram tratadas (0). Os resultados deste experimento demonstraram que EPE pode induzir atividade folicular e múltiplas ovulações durante a estação ovulatória.

Bonin et al.⁴⁴, tratou éguas acima de 15 anos com EPE obtendo maior número de ovulações e embriões por ciclo em comparação aos ciclos controle sem medicação, além de encurtamento da fase folicular e melhoria da taxa de prenhez por tentativa de transferência de embrião. Concluiu que o EPE interferiu positivamente na dinâmica de crescimento do folículo dominante e concomitante, aumentou a incidência de múltiplas ovulações, incrementou a taxa de recuperação embrionária por ciclo e propiciou a recuperação de embriões em fase de desenvolvimento mais condizente com a idade do embrião no D8, melhorando a eficiência reprodutiva das doadoras tratadas.

Itho⁴⁵, protocolou 18 tratamentos em 12 éguas em anestro durante a estação de monta, usando 6 mg de EPE e 6 mg de Hormônio de Crescimento (GH), por via intramuscular

diariamente por no mínimo 8 dias, sendo interrompida com o crescimento de ao menos um folículo de 35 mm ou edema uterino. A indução da ovulação foi realizada com HCG 2500 UI/EV. Obteve 72,2% de eficiência para indução do estro em éguas em anestro.

Scoggin et al.⁴⁶ realizou três experimentos usando EPE em éguas cíclicas para induzir o desenvolvimento folicular. No primeiro, para avaliar o efeito de aumentar a frequência ou a dose de EPE, 50 éguas foram distribuídas aleatoriamente a um dos quatro grupos de tratamento. O grupo um recebeu 25 mg de EPE uma vez por dia; o grupo dois 50 mg EPE uma vez por dia; o grupo três 12,5 mg de EPE duas vezes ao dia e o quarto grupo 25 mg de EPE duas vezes por dia. Todas as éguas iniciaram o tratamento 5 dias após a detecção da ovulação e receberam uma única dose de cloprostenol sódico 7 dias após a ovulação. O EPE foi suspenso quando a metade de uma coorte de folículos atingiram um diâmetro de 35 mm e foi administrado HCG. Éguas que receberam 50 mg de EPE uma vez ao dia desenvolveram um número maior de folículos pré-ovulatórios do que o restante dos grupos de éguas tratados e mais ovulações foram detectadas para as éguas que receberam 25 mg de EPE duas vezes ao dia em comparação com aqueles que receberam EPE 25 mg uma vez por dia e 12,5 mg de EPE duas vezes por dia. A recuperação do embrião por égua foi maior nas éguas que receberam 12,5 mg EPE duas vezes ao dia do que aqueles que receberam EPE de 25 mg uma vez por dia.

O segundo experimento realizado por Scoggin et al.⁴⁶ para o desenvolvimento folicular; avaliou o uso de um potente agonista de hormônio liberador de gonadotropina (GNRH-a) antes do EPE. A resposta ovariana com tratamento com duas doses diárias de 25 mg de EPE após o quinto dia da ovulação, em 20 éguas, e duas doses de um agonista de GNRH após a detecção de um folículo de 35 mm em metade destes animais. Após 24 horas da administração de HCG, os óocitos foram recuperados por aspiração transvaginal de todos os folículos 35 mm. Não foram observadas diferenças entre grupos no número de folículos pré-ovulatórios gerados e óocitos recuperados por égua.

O terceiro experimento desenvolvido por Scoggin et al.⁴⁶ foi para avaliar a administração de EPE duas vezes ao dia em doses sucessivamente decrescentes. 18 éguas foram distribuídas aleatoriamente para um dos dois tratamentos, então, 6 a 11 dias após a ovulação, as éguas receberam uma dose de PGF_{2α} e concomitantemente começaram dois tratamentos diários com EPE em doses sucessivamente decrescentes ou uma dose de PGF_{2α}, mas nenhum tratamento EPE. Éguas que receberam EPE desenvolveram um número maior de folículos de 35 mm, tiveram mais ovulações e renderam um número maior de embriões que

éguas não tratadas.

Alvarenga et al.⁴⁷, compararam a resposta ovariana de éguas cíclicas, usando prostaglandina nos dias 6 ou 8 e EPE (25mg), uma ou duas vezes ao dia, respectivamente. No segundo grupo, mais folículos maiores ou iguais a 35 mm foram detectados do que no grupo tratado somente uma vez. Em outro experimento, a taxa de recuperação de embriões destas éguas foi comparada, e o número de ovulações por égua foi maior para aquelas tratadas duas vezes por dia, assim como o número de embriões produzidos por égua. Embora não tenha ficado claro se esta resposta foi devido a dose ou a frequência.

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Local, período e animais

Este projeto foi desenvolvido na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás Campus Goiânia, nas dependências do setor de Reprodução Animal, no período de novembro de 2016 a abril de 2017.

Foram utilizadas 14 éguas adultas com idade entre 5 e 8 anos, sem raça definida, hígdas, e com escore de condição corporal de 2 a 4 na escala de 5 pontos de Carroll e Huntington⁴⁹.

3.2 Manejo dos animais

Todas as éguas foram submetidas ao protocolo de everminação (ivermectina) a cada 60 dias e quatro aplicações pour-on de (Cipermetrina, Clorpirifós e Butóxido de Piperonila) uma a cada sete dias.

Os animais tinham acesso a piquetes de milheto, tifton e braquiaria spp, sal mineral e água a vontade e recebiam um quilo de concentrado comercial com 15% de proteína adicionado de 300 ml de óleo de soja em comedouros individuais, sempre no curral, durante os exames ultra sonográficos.

3.2.1 Avaliações reprodutivas

A partir da primeira semana de dezembro de 2016 e até a primeira semana de abril de 2017, após o período de adaptação das éguas ao regime alimentar e aos procedimentos de exame via retal e ultra sonográficos, todas as fêmeas eram diariamente avaliadas por palpação retal e exame ultra sonográfico uterino e ovariano.

Na palpação retal o útero foi classificado segundo sua espessura como os dedos da mão, sendo o útero de uma égua em anestro da espessura de um dedo; simetria, se os cornos estão com a mesma espessura e contratibilidade podendo variar de um a três, sendo o um mais flácido e o três mais rígido. Neste mesmo exame o tamanho dos ovários foram observados e classificados usando a nomenclatura citada por Rosenberger⁵⁰: A – azeitona (até 3 cm), N – nozes (3 a 5 cm), G – ovo de galinha (5 a 7 cm), P – ovo de pata (maior que 7 cm).

Para os exames ultra sonográficos foi usado o aparelho de ultrassonografia da

marca Mindray, modelo DP – 2200 Vet com probe transretal modelo 75L50EAV. O número e o tamanho dos folículos maiores que 20 mm foram monitorados, assim como a presença ou não de corpo-lúteo e outras estruturas ovarianas e o seu tamanho. O diâmetro das estruturas ovarianas avaliadas foram medidas nas dimensões horizontais e verticais. No útero o parâmetro observado foi o grau de edema da parede, variando de 1 sem edema a 3 com o edema máximo.

3.2.2 Tratamentos

Todas fêmeas foram usadas como controle do experimento, tendo ovários e útero acompanhados sem tratamentos hormonais e foram avaliadas com os mesmos critérios acima descritos.

A partir de 03/03/2017 as éguas apresentando corpo lúteo com sete a nove dias recebiam 0,5 ml de análogo de PGF_{2α} (Cloprostenol, 25 mg em 100 ml) a cada 12 horas, por dois dias para lisar o corpo lúteo e desencadear o estro entre três e sete dias depois da primeira aplicação e a ovulação após cinco a onze dias.

Para o tratamento com Extrato de Hipofise Equina (EPE) foram utilizados extratos de hipófise liofilizados, obtidos na região Sul do Brasil durante os meses de junho/julho (EPE Inverno) e Dezembro (EPE/Verão) preparados e cedidos pelo médico veterinário MSc Adalberto Farinasso. A região onde as hipófises foram coletadas está na latitude: 30° 20' 11" S; longitude: 54° 19' 12" W; altitude: 114m. No ano da obtenção das hipófises a temperatura ambiente de verão variou entre 15.8 e 30.1°C e no inverno entre 9.1 e 20.7°C. Durante o verão a média de incidência luminosa foi 13 horas e 33 minutos e durante o inverno foi de 10 horas e 50 minutos.

Os frascos continham 20mg de EPE. Inicialmente acrescentava-se 10 mL de água destilada estéril a cada frasco, obtendo-se 2 mg/mL, equivalendo a 1000UI/mL. Posteriormente cada mL era diluído de forma seriada com água destilada estéril para obtenção de 0,5 mL com 125 UI. Cada égua recebia 125 UI a cada 12 horas, por via intramuscular, até a verificação de um ou mais folículos com 34/35 mm de diâmetro, quando então cada uma recebia uma única aplicação de EPE via endovenosa contendo 500UI para induzir a ovulação. Para as aplicações foram utilizadas seringas de 1mL e agulhas hipodérmicas 0,70 X 30mm.

A partir da verificação do estro por meio da rufiação e verificação visual do comportamento estral os folículos ovarianos eram monitorados até a verificação de um ou

dois folículos com diâmetro igual a 32 mm, quando as éguas foram aleatoriamente direcionadas para um dos tratamentos: T1, EPE Verão e T2, EPE Inverno, conforme protocolo acima.

3.3 Análise estatística

A análise estatística empregada em interpretação de todas variáveis utilizadas foi a Análise de Variância, sendo para a comparação das médias empregado o método de *Tukey*, utilizando o nível de significância de 5%. As análises dos dados foram realizadas através do programa Biostat 5⁵¹.

Os dados meteorológicos usados foram adquiridos da estação evaporimétrica de Goiânia, situada a 1000 mts do ponto mais distante do piquete.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados expostos na Tabela 1 foram comparados quanto a média do número de ovulações por mês, o diâmetro do folículo ovulatório e horas/luz/dia.

TABELA 1 - Número de ovulações, diâmetro do folículo ovulatório e horas/luz/dia, referentes aos meses de Dezembro de 2016 a Março de 2017

	Número de ovulações	Diâmetro do folículo ovulatório	Horas/luz/dia
Dezembro	18	40,7±0,7 ^a	13,4±0,03 ^a
Janeiro	13	36,6±0,5 ^{b†}	13,3±0,03 ^a
Fevereiro	14	34,6±0,6 ^{b†}	13,2±0,04 ^b
Março	12	35,4±0,7 ^b	12,5±0,03 ^c
		P=0.0001	P=0.001

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença

†P=0.04

Analisando o número de ovulações, houve diminuição no decorrer da estação reprodutiva. De acordo com Donateu e Peterson⁵², os efeitos relacionados à estação sobre a atividade folicular foram relatados em duas partes da estação ovulatória, com maiores níveis de atividade durante a primeira metade devido à maior incidência de ondas secundárias e ondas menores associadas a níveis mais altos de gonadotrofina. Shirazi et al.⁵³ também cita que a estação afeta a duração da fase folicular. Durante os meses de primavera, primeira metade da estação de monta, a atividade folicular aumenta, pelo menos em parte, devido à ocorrência mais frequente das ondas foliculares secundárias principais e menores. Durante o verão, a duração do estro diminui, o que provavelmente representa uma aceleração da foliculogênese antes da ovulação com fotoperíodos cada vez mais favoráveis que refletem liberação mais proeminente de gonadotropinas, especialmente LH da hipófise⁵³. Ainda de acordo com Satué e Gordon¹⁹, a duração do estro varia essencialmente com a época do ano e é inversamente proporcional ao comprimento do dia, o que significa que se torna mais curto no pico da estação de monta.

A média do diâmetro do folículo ovulatório também foi comparado, demonstrando que houve diminuição deste no decorrer dos meses da estação de monta (P=0.0001), apesar de que não foi estatisticamente significativa a diferença entre os meses de janeiro e fevereiro (P=0.04). No mês de março, quando as éguas estavam sendo tratadas, houve um pequeno aumento no tamanho do diâmetro do folículo ovulatório (P=0.0001), contudo não apresentando diferença estatística relevante quando comparado aos dois últimos meses.

Em trabalho desenvolvido por Davies Morel et al.⁵⁴, em 2010, 1492 éguas da raça

Puro Sangue Inglês, de idade entre 2 e 26 anos, foram avaliadas quanto ao tamanho do folículo pré-ovulatório, sendo o tamanho médio encontrado de $39,95 \pm 4,84$ mm (intervalo de 22-50 mm). A estação teve um efeito negativo significativo ($P < 0,001$) no diâmetro do folículo pré-ovulatório (maior: $44,20 \pm 3,95$ mm, de 1 a 14 de fevereiro e menor: $33,74 \pm 4,87$ mm de 15 a 31 de agosto). Concluiu também que a idade também afetou negativamente, assim como a presença de múltiplos folículos pré-ovulatórios.

De acordo com Satué e Gordon¹⁹, no hemisfério Norte, os folículos atingem um tamanho de 8,5 mm maior na primavera do que no verão ou no outono e são 4,9 mm menores em ovulações múltiplas em comparação com sozinho¹⁹. A medida que o período de transição transcorre, a produção de estradiol pelo folículo pré-ovulatório aumenta, isto pode ser um reflexo do aumento do tamanho e de sua função e conseqüentemente da viabilidade do oócito⁵⁴.

A viabilidade do oócito é conhecido por ser um dos determinantes do sucesso reprodutivo e evidências sugerem que pode estar ligado ao tamanho do folículo e isto é evidente em outras espécies⁵⁴. Os folículos precisam ser maiores que 20 mm de diâmetro para seus oócitos atingirem competência meiótica⁵⁴. Segundo o mesmo autor, vários fatores influenciam o diâmetro do folículo ovulatório, como a nutrição, condição corporal, além dos já citados idade da égua, período da estação reprodutiva e presença de múltiplos folículos⁵⁴.

A média de horas/luz/dia para cada mês também foi observada, diminuindo significativamente após o mês de fevereiro ($P=0.001$).

Como demonstrado na Tabela 2, média ITU (Índice de Temperatura e Umidade) também foi calculada correspondente a cada mês, assim como a média da temperatura ambiente, umidade do ar, ponto de orvalho e radiação solar. A variação da Temperatura ($P=0.07$) e da Radiação Solar ($P=0.15$) não foram significativas durante os meses analisados, já a Umidade ($P=0.0007$) teve um aumento significativo no mês de fevereiro e março. O Ponto de orvalho ($P<0.0001$) também apresentou aumento significativo no mês de fevereiro, seguido de outro aumento significativo em março. O Índice de Temperatura e Umidade ($P<0.0001$) apresentou diferença significativa comparando janeiro a dezembro, e aumento significativo também houve comparando março a janeiro, sendo que fevereiro não apresentou diferença comparado ao mês de dezembro.

TABELA 2 - Relação de Índice de Temperatura e Umidade (ITU), Temperatura, Umidade, Ponto de orvalho, e Radiação Solar, nos meses de Dezembro de 2016 a Março de 2017.

	ITU (Max-Min)	Temperatura (Max-Min)	Umidade (Max-Min)	Ponto de orvalho (Max-Min)	Radiação Solar (Max-Min)
Dezembro	72,1±0,12 ^a (65,5-80,4)	24,4 (18,7-33,4)	71,3 ±0,6 ^a (25-94)	18,2±0,06 ^a (9,5-21,8)	1361,9±286,2 (2,2-2971,0)
Janeiro	66,2±0,09 ^b (51,7-70,4)	24,6 (18,1-34,1)	71,3±0,7 ^a (21-94)	18,4±0,07 ^a (7,7-21,5)	2036,2±384,7 (2,1-3859,0)
Fevereiro	71,9±3,2 ^a (65,4-79,6)	24,1 (18,1-31,9)	73,7±0,6 ^b (28-94)	18,6±0,06 ^b (10,8-22,4)	1309,8±321,3 (46,8-3042,0)
Março	72,4±3,42 ^c (65,1-80,7)	24,4 (17,9-33,7)	74,2±0,5 ^b (27-94)	18,9±0,05 ^c (12,0-23,1)	1043,2±241,9 (8,9-2542,0)
	P<0.0001	P=0.07	P=0.0007	P<0.0001	P=0.15

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença

ITU = $0,72(T_{bs} + T_{bu}) + 40,6$, onde:

ITU = índice de temperatura e umidade, adimensional;

T_{bs} = temperatura do termômetro de bulbo seco, °C;

T_{po} = temperatura do termômetro de bulbo úmido, °C.

Além do fotoperíodo, fatores exógenos como idade, estado reprodutivo, nutrição, condição corporal e temperatura ambiental afetam a atividade sazonal reprodutiva da égua tremendamente²¹. O conforto térmico faz parte dos critérios de bem-estar animal e talvez o principal e mais importante fator a ser considerado para se tentar melhorar o conforto dos animais em países localizados nas regiões tropicais e subtropicais seja minimizar a ação do clima, ou seja, evitar que os animais sofram os efeitos de um processo conhecido como estresse calórico⁵⁵. O termo estresse calórico é usado para descrever os efeitos de uma temperatura ambiente elevada em diferentes sistemas fisiológicos, levando o animal a inabilidade em dissipar calor suficientemente para manter a sua homeotermia⁵⁶, resultando em alterações metabólicas e conseqüentemente redução no desempenho produtivo e reprodutivo⁵⁵.

Alguns índices, conhecidos como índices de conforto térmico, foram desenvolvidos e têm sido usados para avaliar o impacto ambiental sobre animal, de modo geral, quatro parâmetros ambientais têm sido considerados: a temperatura do termômetro de bulbo seco, a umidade relativa do ar, a velocidade do vento e a radiação solar⁵⁵. O índice de conforto mais comum é o índice de Temperatura e Umidade (ITU), originalmente desenvolvido para humanos, o qual engloba os efeitos combinados da temperatura e da umidade do ar, é a variável que melhor traduz a sensação térmica imposta ao animal⁵⁵, sendo uma mensuração do conforto térmico usado para caracterizar ou quantificar zonas termoneutras proposto para estimar o estresse térmico em animais de produção⁵⁶.

A evaporação é o principal mecanismo de perda de calor nos equinos em ambientes quentes, contudo a quantidade de calor dissipada por esta via diminui quando a umidade relativa do ar aumenta⁵⁶.

Quanto ao número de dias que o folículo ovulatório levou até a ovulação foi diferente para as éguas que receberam o tratamento com EPE coletado no inverno do número de dias para ovulação das éguas que receberam o tratamento com EPE coletado no verão, como demonstrado na Tabela 3. Sendo o número de dias para ovulação foi significativamente menor nas éguas que foram tratadas com EPE coletados no inverno, assim como o diâmetro destes folículos também foram menores.

TABELA 3 - Número de dias que o folículo ovulatório levou até a ovulação e o seu diâmetro médio no dia da ovulação.

	Dias para ovulação	Diâmetro folículo ovulatório
TRT Inverno	6,4±0,8a	35,3±0,6a
TRT Verão	9,7±0,7b	40,9±0,9b

O EPE coletado no inverno para o TRT inverno foi coletado de éguas sob influência negativa do fotoperíodo, provavelmente sem pulsos de GnRH e conseqüentemente sem pulsos de FSH e LH na circulação. O diâmetro dos folículos das éguas que receberam este tratamento de inverno foi correspondente a diminuição de diâmetro que já vinha ocorrendo desde o início da estação. Um número menor de dias necessários para ocorrer a ovulação, quando comparado ao outro tratamento evidencia um menor número de ondas folículoares, como no final da estação reprodutiva.

O EPE coletado no verão para o TRT verão, foi coletado de éguas sob influência positiva do fotoperíodo, não tendo secreção pela glândula pineal, de melatonina, com produção de GnRH no hipotálamo e pulsos de LH e FSH hipofisários na circulação. O diâmetro dos folículos das éguas sob este tratamento de verão foi semelhante ao diâmetro dos folículos destes animais no início da estação. O número de dias para ovulação foi maior neste tratamento quando comparado ao TRT inverno, também característico de início da estação.

Mudanças sazonais no eixo hipofisário-hipotalâmico foram investigados por Hart et al.⁴² e colaboradores em 1981, em trabalho usando 49 éguas. Foram quantificados tecidos hipotalâmicos e da pituitaria quanto a concentração de FSH e LH. A concentração de FSH na hipófise anterior não foi afetada pela estação; contudo as concentrações de LH variaram marcadamente, sendo a média de 15,5 µ/mg em julho de 1981, declinando gradualmente até 2,3 µ/mg em dezembro do mesmo ano, permaneceu baixa em março, mas aumentou para 11,7

μ /mg até julho de 1982. Já durante o ciclo estral, as concentrações de LH na hipófise anterior nos grupos de julho não variaram, contudo as concentrações de FSH foram aproximadamente 50 % menor nas éguas durante a fase folicular e início da fase lútea, que durante o restante da fase lútea.

Outros autores, como Carmo também quantificou LH e FSH, contudo não citam a época do ano em que este material foi coletado.

5 CONCLUSÕES

Os dados apresentados permitem concluir que:

A redução da incidência luminosa após o solstício de verão reduz o diâmetro do folículo ovulatório (variáveis relacionadas com a duração do período de crescimento folicular).

O Extrato de Hipófise Equina obtido durante os meses de verão foi mais eficaz quando utilizado com o objetivo de manter o crescimento folicular em éguas durante o final da estação reprodutiva, resultando em folículos ovulatórios maiores.

6 REFERÊNCIAS

1. Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. Equídeos. (acesso 24 março 2014). Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. 24/03/2017
2. Oliveira, RA. Biotécnicas avançadas na reprodução de equídeos. *Animal Business Brasil*. [online] 2013; 3 (9): 10 a 13 [acesso 24 mar 2017] http://www.sna.agr.br/uploads/AnimalBusiness_9_10.pdf.
3. Bortot DC, Zappa V. Aspectos da reprodução equino: inseminação artificial e transferência de embrião: revisão de literatura. *Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária* [online] 2013; 21 [acesso 24 mar 2015]. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/j1OsKEw0s5EtDHD_20_13-8-13-18-21-19.pdf. ISSN: 1679-7353.
4. Cassino IF, Souza FA, Silva EC, Carvalho GR, Guimarães JD, Lima AL. Inseminação artificial em equinos: sêmen fresco, diluído, resfriado e transportado. *Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.* 2008;6(3)389-398.
5. Brinsko SP, Varner DD. Artificial insemination. In: McKinnon AO, Voss JL. *Equine Reproduction*. Philadelphia: John Wiley Professio; 1992. p.790-797.
6. Mariz TMA, Anjos AG, Flor JM, Flor LMAM, Lima CB, Givisiez PEN, Azevedo PS. Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da raça mangalarga marchador no estado de sergipe. *Acta Veterinaria Brasilica*. 2008;2(2):39-43.
7. Daels PF. Management of the Aanoestrus Mare through the Early Spring Transition Period. *North American Veterinary Conference*; [online] 2006; Orlando, USA. Gainesville: NAVC; 2006. [acesso 24 mar 2015]. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2006/LA/042.asp?LA=1>.
8. Ley WB. *Reprodução em éguas para veterinários de equinos*. São Paulo: Roca; 2013. 220p.
9. Romano MA, Mucciolo RG, Feliciano e Silva AED, *Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação*. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* 1998;35(1):25-28.
10. Lindeberg H, Koskinen E, Huhtinen M, Reilas T, Perttula H, Katila T. Influence of PG administration and follicle status on the number of conceptuses. *Theriogenology*. 2002;58(2-4):571-574.
11. Ginther OJ. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. 2th ed. Cross Plains: EquiServices; 1995, 640 p.
12. Melo CM. *Indução de ovulação em éguas*. [Monografia], Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária; 2006.
13. Farias LD, Neves AP, Fiala Rechsteiner SME, Tarouco AK. Indução da ovulação em éguas: uma revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* [online]. 2016; 40 (1): 17-21 [acesso 05 jul 2017]. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n1/p17->

21%20(RB611).pdf

14. McKinnon AO, McCue PM. Induction of Ovulation. In: McKinnon, AO, Squires, EL, Vaala, WE., Varner, DV. Equine Reproduction. 2Th ed. New Jersey; Wiley-Blackwell; 2011, p.1858-1869.
15. Brinsko SP, Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Hinrichs K, Hartman D. Manual of Equine Reproduction. 3Th ed. Amesterdã: Elsevier; 2011. 332 p.
16. Fitzgerald BP, Mcmanus CJ. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. Biol. Reprod. [online] 2000; 63: 335-340 [acesso 05 jun 2017]. Disponível em: <https://academic.oup.com/biolreprod/article-lookup/doi/10.1095/biolreprod63.1.335>.
17. Cunningham JG. Tratado de Fisilogia Veterinaria. Bradley G. KLEIN. 5a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2014. 608 p.
18. Gigli I, Russo A, Agüero A. Consideraciones sobre La dinãmica ovãrica em equino, bovino e camelydos sudamericanos. InVet [online] 2006; 8 (1):183-204 [acesso 22 set 2017]. Disponível em: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982006000100018. ISSN: 1668-3498.
19. Satué K, Gardón JC. A Review of the Estrous Cycle and the Neuroendocrine Mechanisms in the Mare. J Steroids Horm Sci [online] 2013; 4 (2) [acesso 07 ago 2017]. Disponível em: <https://www.omicsonline.org/a-review-of-the-estrous-cycle-and-the-neuroendocrine-mechanisms-in-the-mare-2157-7536.1000115.php?aid=16336>. ISSN:2157-7536.
20. Hafez ESE, Hafez B. Reprodução Animal. 7a ed. Barueri: Manole; 2004. 513 p.
21. Aurich C. Reproductive cycles of horses. Anim Reprod Sci [online] 2011; 124: 220-228 [acesso 12 ago 2017]. Disponível em: <https://www.elsevier.com/search-results?query=Reproductive+cycles+of+horses&labels=all>.
22. Karsch FJ, Malpaux B, Wayne LN, Robinson JE. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. Reprod. Nut. Develop., 1988, 28 (2B): 459-472 [acesso 17 jun 2017]. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00898804/document>.
23. Arango JC, Clark A. The first ovulation of the breeding season in the mare: The effect of progesterone priming on pregnancy rate and breeding management (HCG response rate and number of servicer per cycle and mare). Anim Reprod Sc [online] 2010; 118: 265 – 269 [acesso 22 set 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19875255>.
24. Ginther OJ. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. Anim Reprod Sci [online] 2000; 60-61 (2): 61-79 [acesso 18 jun 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844185>.
25. Jardim RW, Torres AP. Criação de Cavalos e Outros Equinos. 3a ed. São Paulo: Nobel; 1992. 654p.

26. Handler J, Wu ˆstenhagena A, Schamsc D, Kindahld H, Aurich C. Estrous cycle characteristics, luteal function, secretion of oxytocin (OT) and plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-PGF_{2α} (PGF_{2α}-metabolite) after administration of low doses of prostaglandin F2a (PGF_{2α}) in pony mares. *Theriogenology* [online]. 2004; 61: 1573 - 1582 [acesso: 09 jul 2017] Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15036986>.
27. Hinrichs K. Ultrasonographic assessments of ovarian abnormalities. *Proceedings of the 36th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 1990, Lexington, United States. Lexington, AAEP; 1991. 690p.*
28. Gerard N, Duchamp G, Magistrini M. Relationships between follicular fluid composition and follicular/oocyte quality in the mare. *Livestock Production Science* [online] 1999; 60 (2-3): 243 – 253. [acesso 25 mai 2017] Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301622699000974>.
29. Ginther OJ. Follicle Selection in Mares: 90 Years from Observation to Theory. *Journal of Equine Veterinary Science* [online] 2017; 54: 24 – 31 [acesso 12 jul 2017] Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080616307092>.
30. Irvine CHG, Alexander SL, Mckinnon AO. Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *J Reprod Fertil*, [online] 2000; 118: 101-109 [acesso 08 jul 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10793631>.
31. Guyton AG, Hall JE, *Tratado de Fisiologia Médica*. 12a ed. Rio de Janeiro; Saunders Elsevier; 2011. 1173 p.
32. Mateu-Sánchez S, Newcombec JR, Garcés-Narro C, Cuervo-Arangoe J. The period of the follicular phase during which the uterus of mares shows estrus-like echotexture influences the subsequent pregnancy rate. *Theriogenology* [online] 2016; 86: 1506–1515 [acesso 12 jun 2017] Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16301959>.
33. Pimentel MML, Santos FA, Dias RVC, Macêdo LB, Fonseca ZAAS, André WPP, Ribeiro WL, Monitoramento do ciclo estral de fêmeas equinas por meio de citologia vaginal, ultrassonografia e dosagem hormonal. *Arq. Ciênc. Vet.Zool UNIPAR* 2014; 17: (1) 69 – 75 [acesso 13 jun 2017] Disponível em: <http://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/4920>
34. Bisol JFW, *Fotoperíodo artificial sobre a atividade reprodutiva de éguas durante a transição outonal. [dissertação]*. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007 [Acesso 13 jun 2017] Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/12701>
35. Samper JC, Hankins K. Breeding Mares with Frozen Semen in Private Practice. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP; 2001; San Diego, USA. Lexington: American Association of Equine Practitioners; 2001. 314-318.* [acesso 03 mai 2017] Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/3653/5a373bc6d2126c1a75488aa3fd9b4d74e89e.pdf>.

36. Pinto CRF. The use of prostaglandin F₂ α (PGF) for controlling the mare's estrous cycle. Proceedings of the Society for Theriogenology 2013 Annual Conference; 2013; Louisville, USA. Pike Road; Clinical Theriogenology; 2013. [acesso 04 jun 2017]. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/sft/2013/027.pdf>.
37. Milvae RA, Hinckley ST, Carlson JC. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. Theriogenology [online]. 1996; 45 (7): 1327 – 1349. [acesso em 27 jun 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16727885>.
38. Irvine CHG, McKeough VL, Turner JE, Alexander SL, Taylor TB. Effectiveness of a two-dose regimen of prostaglandin administration in inducing luteolysis without adverse side effects in mares. Equine Vet. J [online] 2002; 34 (2): 191 – 194. [acesso 01 jul 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11905437>.
39. Thompson FN, Witherspoon DM. Induction of luteolysis in the mare with a prostaglandin analogue. Theriogenology [online] 1974; 2 (5): 115–119. [acesso 18 mai 2017]. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X7490034X>.
40. Farinasso A. Utilização de baixas doses de extrato de pituitária eqüina na indução de ovulações múltiplas em éguas cíclicas. [dissertação]. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília; 2004.
41. Palmer E. Induction of ovulation. In: McKinnon AO, Voss JL. Equine reproduction. Malvern: Lea & Febiger; 1993. p.344-7.
42. Hart PJ, Squires EL, Imel KJ, Nett TM. Seasonal Variation in Hypothalamic Content of Gonadotropin - Releasing Hormone (GnRH), Pituitary Receptors for GnRH, and Pituitary Content of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in the Mare, Biol Reprod [online] 1984; 30, 1055-1062 [acesso 10 jul 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6329338>
43. Lapin DR, Ginther OJ. Induction of ovulation and multiple ovulations in seasonally anovulatory and ovulatory mares with an Equine Pituitary Extract. J Anim Sci [online]. 1977; 44 (5): 834 – 842 [acesso 01 ago 2017], Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/558972>.
44. Bonin BF, Dell'Aqua Júnior JA, Fioratti EG, Alvarenga MA. Efeito do tratamento com Extrato de Pituitária Equina na resposta ovariana e eficiência reprodutiva de éguas idosas em programa de transferência de embriões. Vet e Zootec [online]. 2010; 17 (1): 94 – 103. [acesso 18 jul 2017]. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/view/301/242>.
45. Itho MF. Uso de baixas doses de extrato de pituitária eqüina e hormônio de crescimento (somatotrofina) na indução do estro em éguas em anestro. [Dissertação]. Campos dos Goitacazes: Universidade Estadual Norte Fluminense; 2010.
46. Scoggin CF, Meira C, McCue PM, Carnevale EM, Nett TM, Squires EL. Strategies to improve the ovarian response to equine pituitary extract in cyclic mares. Theriogenology

[online]. 2002; 58 (jul): 151-164 [acesso 01 ago 2017], Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X02009020>.

47. Alvarenga MA, McCue PM, Bruemmer J, Neves Neto JR, Squire EL. Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily. *Theriogenology* [online]. 2001; 56 (5): 879-887 [acesso 01 ago 2017], Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11665889>. ISSN 0102-5716.

48. Carmo MT. Comparação entre doses constantes e decrescentes de extrato de pituitária equina na indução de superovulação em éguas. [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2003.

49. Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine Veterinary Journal*, [online] 1988; 20: 41-45. [acesso 20 mai 2017] Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3366105>.

50. Rosenberger G, Dirksen G. Exame Clínico dos Bovinos. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 1993. 419 p.

51. Instituto Mamirauá. Biostat 5. Tefé [acesso 28 março 2017] Disponível em: <http://www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas/>.

52. Donateu FX, Pedersen HG. Follicle Development in Mares. *Reprod Dom Anim* [online] 2008; 43 (2): 224 – 231. [acesso 20 mai 2017] Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18638128>. ISSN 0936-6768.

53. Shirazi A, Gharagozloo F, Niasari-Naslaji A, Bolourchi M. Ovarian Follicular Dynamics Caspian Mares. *Journal of Equine Veterinary Science* [online] 2002; 22 (5): 208 – 211. [acesso 12 mai 2017] Disponível em: [http://www.j-evs.com/article/S0737-0806\(02\)70034-8/pdf](http://www.j-evs.com/article/S0737-0806(02)70034-8/pdf).

54. Davies Morel MCG, Newcombe JR, Hayward K. Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles - multiple ovulation. *Theriogenology* [online] 2010; 74 (7): 1241 – 1247. [acesso 26 mai 2017] Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20615543>.

55. Alves VA, Laura VA, Almeida RG, Sistemas Agroflorestais: A Agropecuária Sustentável. Brasília: Embrapa; 2015. 209 p.

56. Oliveira JP, Influência da Temperatura e Umidade ambiente em um Programa de Transferência de Embriões Equinos, na Baixada Fluminense - Rio de Janeiro. [dissertação]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Zootecnia; 2011.