

PEDRO GAMA KER

**COMPORTAMENTO SEXUAL, FERTILIDADE E TAXA DE
RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA EM JUMENTAS DA RAÇA PÊGA AO
LONGO DO ANO**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

K39c
2013

Ker, Pedro Gama, 1983-
Comportamento sexual, fertilidade e taxa de recuperação
embrionária em jumentas da raça pêga ao longo do ano / Pedro
Gama Ker. – Viçosa, MG, 2013.
xvii, 77f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.65-77.

1. Asinino - Reprodução. 2. Sazonalidade reprodutiva.
3. Recuperação embrionária. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-graduação em
Zootecnia. II. Título.

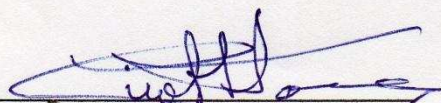
CDD 22. ed. 636.182

PEDRO GAMA KER

COMPORTAMENTO SEXUAL, FERTILIDADE E TAXA DE
RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA EM JUMENTAS DA RAÇA PÊGA AO
LONGO DO ANO

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

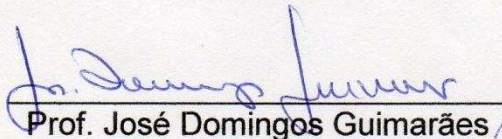
Aprovada: 11 de outubro de 2013.



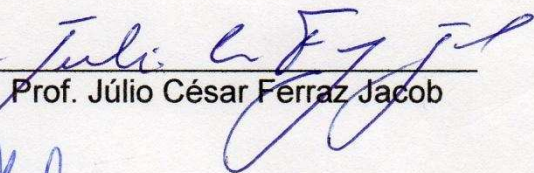
Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Coorientador)



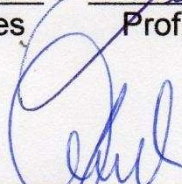
Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Coorientador)



Prof. José Domingos Guimarães



Prof. Júlio César Ferraz Jacob



Prof. Giovanni Ribeiro de Carvalho
(Orientador)

“Amor de família é a coisa mais inexplicável do mundo, nem um pai consegue dizer para um filho o quanto o ama, nem o filho sabe dizer ao pai, então simplesmente demonstram.”

Autor desconhecido

*Dedico essa dissertação à minha
Família, especialmente ao meu filho
João Pedro e minha esposa Sophia,
pelo amor incondicional, apoio e
compreensão.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar força para vencer mais essa etapa de minha vida e por ter me presenteado com o João Pedro, o melhor presente que pude receber em minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Sophia e ao João Pedro, pelo carinho e amor durante todo o Doutorado e por serem a minha maior fonte de inspiração nesse período.

Ao meu orientador, Professor Giovanni Ribeiro de Carvalho, pela amizade, ensinamentos e compreensão durante todos esses anos.

Aos meus pais, pelo carinho e apoio, principalmente quando foi preciso ajuda com o João Pedro.

Aos meus irmãos, Henrique e Mariana, pelo amor e amizade durante toda a vida.

Aos meus avós Vovô Carlito e Vovó Lourdes pelo carinho.

Aos grandes amigos de orientação Guilherme, Renan, Daniel, Manuela, Maria e Gilberto pelo apoio durante o período do experimento.

Aos amigos e estagiários que muito contribuíram para a realização desse trabalho: Pablo, Henrique, Suelen, Vinícius, Carlos, Dinah, Anielle...

Aos amigos, companheiros e agregados da República K-ZonaRural: Wender, Ivan (Tibil), Bruno (Goiano), Nelcino, Guilherme, Renan, Daniel, Newton, Tiago (Guedão), Isabela, Jéssica, Grazi, Hélida, pelos festejos compartilhados.

Aos colegas de pós-graduação Fabrício, Rogério, Polyana, Bruna, Luciana, Camila. Ao Jurandir pelo grande auxílio com as análises estatísticas.

Ao grande amigo (e agora compadre) Danillo Murta, pelos conselhos e pelo apoio.

Aos funcionários do Setor de Equideocultura, principalmente ao Fernando e Sebastião pela amizade e convivência durante todos esses anos.

Ao Senhor Luiz Felipe Haddad, por ceder a estrutura do Haras Tarumã, para realização do experimento. Ao Beto, funcionário do Haras pela ajuda durante as atividades desenvolvidas no Haras.

Ao Professor Jackson Víctor de Araújo por ceder o estereomicroscópio para as avaliações dos embriões.

Aos professores do programa de pós-graduação do Departamento de Zootecnia e do Departamento de Veterinária pelos conhecimentos transmitidos.

Aos familiares e colegas não mencionados, que de alguma forma contribuíram para concretização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

PEDRO GAMA KER, filho de João Carlos Ker e Maria José de Souza Gama Ker, nasceu no dia 14 de maio de 1983, na cidade de Florianópolis, Santa Catarina.

Em maio de 2002, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, concluindo este no dia 16 de março de 2007.

Em março de 2007 ingressou no Programa de Pós-graduação, em nível de mestrado, no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, área de concentração em Reprodução Animal.

Em agosto de 2009 ingressou no Programa de Pós-graduação, em nível de doutorado, no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, área de concentração em Reprodução Animal.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS.....	Xii
LISTA DE QUADROS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Características reprodutivas	5
2.1.1. Organização social e comportamento sexual	5
2.1.1.1. Organização social	6
2.1.1.2. Comportamento sexual	7
2.1.2. Sazonalidade reprodutiva	13
2.1.2.1. Sazonalidade reprodutiva em éguas	13
2.1.2.2. Sazonalidade reprodutiva em jumentas	18
2.1.3. Dinâmica folicular em jumentas	19
2.1.3.1. Duração do ciclo estral	19

2.1.3.2. Dinâmica folicular	20
2.2. Biotecnologias da reprodução	24
2.2.1. Inseminação Artificial.....	25
2.2.2. Transferência de Embriões	27
2.2.2.1. Seleção e manejo das doadoras e receptoras	27
2.2.2.2. Coleta de embriões	27
2.2.2.3. Avaliação do embrião	29
3. EXPERIMENTOS	31
3.1. EXPERIMENTO 1: Características reprodutivas e fertilidade de jumentas da raça Pêga ao longo do ano	32
3.1.1. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1.1.1. Local e período experimental	32
3.1.1.2. Animais e alimentação	32
3.1.1.3. Delineamento Experimental	33
3.1.1.4. Análises estatísticas	35
3.1.2. RESULTADOS	36
3.1.2.1. Comportamento sexual durante o estro	36
3.1.2.2. Duração do estro e características foliculares	36
3.1.2.3. Fertilidade	42
3.1.3. DISCUSSÃO	43
3.1.4. CONCLUSÕES	49
3.2. EXPERIMENTO 2: Efeito da idade do embrião asinino sobre suas características morfométricas, estágio de desenvolvimento e taxa de recuperação	50
3.2.1. MATERIAL E MÉTODOS	50

3.2.1.1. Local e período experimental	50
3.2.1.2. Animais e alimentação	50
3.2.1.3. Delineamento experimental	51
3.2.1.4. Análises estatísticas	55
3.2.2. RESULTADOS	55
3.2.2.1. Taxa de recuperação e características do embrião em função dos dias do lavado	56
3.2.2.2. Taxa de recuperação e características do embrião em função do período do ano	58
3.2.3. DISCUSSÃO	60
3.2.4. CONCLUSÕES	63
4. CONCLUSÕES GERAIS	64
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fertilidade de éguas/jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco	26
Tabela 2 – Valores médios de diâmetro folicular no início do estro (DFIE), diâmetro folicular na ovulação (DFOV), duração do estro (DURAES), intervalo início do estro à ovulação (IIEOV), intervalo da ovulação ao fim do estro (IOVFE), taxa de crescimento folicular (TXCRESC) durante os períodos do ano (médias \pm EPM) em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo	37
Tabela 3 – Porcentagem de ovulações simples, duplas e triplas entre os diferentes períodos do ano em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo	37
Tabela 4 – Valores médios de diâmetro folicular no início do estro (DFIE), diâmetro folicular na ovulação (DFOV), duração do estro (DURAES), intervalo início do estro à ovulação (IICOV), intervalo da ovulação ao fim do estro (IOVFE), taxa de crescimento folicular (TXCRESC) entre os folículos que apresentaram alterações foliculares (ALTFOL) e não apresentaram (SEMALT) (médias \pm EPM) em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo	39
Tabela 5 – Dados comparativos entre jumentas no cio do potro e solteiras (média \pm EPM) criadas em manejo semi-intensivo	40
Tabela 6 - Taxa de gestação (prenhez/ciclo) e diâmetro da vesícula embrionária aos 13 dias de gestação de jumentas da raça Pêga inseminadas e/ou cobertas durante os períodos (Período 1: outubro a março; Período 2: abril a setembro).....	42
Tabela 7 – Taxa de prenhez aos 13, 25 e 35 dias após ovulação de jumentas da raça Pêga inseminadas e/ou cobertas durante os períodos (Período 1: outubro a março; Período 2: abril a setembro).....	42
Tabela 8 – Médias gerais de número de embriões recuperados, características do embrião, características do lavado e porcentagem de ovulações de jumentas da raça Pêga	56

Tabela 9 – Taxa de recuperação embrionária (TXRECEMB) e diâmetro médio dos embriões (DEMB) aos 7, 8 e 9 dias pós-ovulação em jumentas da raça Pêga	57
Tabela 10 – Estádio de desenvolvimento dos embriões recuperados em função do dia do lavado em jumentas da raça Pêga	57
Tabela 11 – Qualidade dos embriões recuperados em função do dia do lavado em jumentas da raça Pêga	58
Tabela 12 - Taxa de recuperação embrionária (TXRECEMB) e diâmetro médio dos embriões (DEMB) em função da fração do lavado em que foram recuperados (media ± EPM) em jumentas da raça Pêga	58
Tabela 13 - Percentagens de embriões grau I em função do período do ano em jumentas da raça Pêga	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Jumenta Pêga sendo apresentada em exposição, detalhe para o andamento marchado. (Fonte: Associação Brasileira dos Criadores de Jumento Pêga - ABCJPêga)	2
Figura 2 – Marca “Pêga”, primeiramente utilizada para identificar os animais da raça Pêga e atualmente utilizada pelos criadores da Família Rezende da região de Lagoa Dourada-MG. (Fonte: Arquivo pessoal)	5
Figura 3 - Frequência de ovulações (%) entre os ovários direito e esquerdo nos diferentes períodos do ano em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo	38
Figura 4 – Porcentagem de ovulações com alterações foliculares no folículo pré-ovulatório nos diferentes períodos do ano e ovários direito e esquerdo de jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo	39
Figura 5 – Frequência de ovulações entre os ovários para jumentas em cio do potro e solteiras, criadas em manejo semi-intensivo	41
Figura 6 – Porcentagem de alterações do folículo pré-ovulatório para jumentas em cio do potro e solteiras, criadas em manejo semi-intensivo	41
Figura 7 – Tronco de contenção adaptado para jumentas: a. detalhe da plataforma de madeira; b. procedimento de lavado uterino em altura mais adequada para o técnico.....	52
Figura 8 - Ocular micrométrica adaptada ao estereomicroscópio para mensuração do diâmetro dos embriões	54
Figura 9 - Taxa de recuperação embrionária por lavado e por ovulação em função do período do ano em jumentas da raça Pêga	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Diferenças e similaridades no comportamento sexual e organização social de jumentos e garanhões.....	6
Quadro 2 – Diferenças e similaridades no comportamento sexual de jumentas e éguas.....	12
Quadro 3 – Sistema de classificação utilizado para grau de qualidade de embriões equinos.....	30
Quadro 4 – Classificação de embriões equinos segundo o estágio de desenvolvimento.....	30

RESUMO

KER, Pedro Gama, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2013. **Comportamento sexual, fertilidade e taxa de recuperação embrionária em jumentas da raça Pêga ao longo do ano.** Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho. Co-orientadores: Ciro Alexandre Alves Torres e Eduardo Paulino da Costa.

Objetivou-se nesse estudo avaliar o efeito da variação do fotoperíodo sobre as características reprodutivas de jumentas da raça Pêga ao longo do ano; verificar a taxa de recuperação e viabilidade embrionária de lavados feitos nos dias 7, 8 e 9 pós-ovulação. No Experimento 1 foram avaliados 279 ciclos de 44 jumentas durante 3 anos consecutivos, sendo os grupos experimentais divididos de acordo com os períodos do ano: P1: outubro a março (período de fotoperíodo mais longo); P2: abril a setembro (período de fotoperíodo mais curto). Foram avaliadas as características de comportamento sexual, características ovarianas, uterinas e fertilidade. As jumentas foram rufiadas e avaliadas por palpação retal e ultrassonografia a cada dois dias. Aquelas que apresentavam comportamento de estro ou a presença de folículo maior que 25 mm de diâmetro em um dos ovários, foram controladas diariamente até a ovulação. Após a detecção de um folículo maior ou igual a 35 mm de diâmetro as jumentas foram artificialmente inseminadas ou cobertas a cada 48 horas até a ovulação. Os diagnósticos de gestação foram realizados aos 13, 25 e aos 35 dias após a ovulação por ultra-sonografia utilizando transdutor linear trans-retal de 5 MHz. Os valores médios das características diâmetro folicular no início do estro, diâmetro folicular pré-ovulação, duração do estro, intervalo início do estro à ovulação, intervalo

da ovulação ao fim do estro, taxa de crescimento folicular, foram de $29,80 \pm 0,18$ mm, $44,61 \pm 0,24$ mm, $7,44 \pm 0,05$ dias, $5,99 \pm 0,06$ dias, $1,45 \pm 0,03$ dias, $2,50 \pm 0,04$ mm/dia, respectivamente. A porcentagem de duplas e triplas ovulações, frequência de ovulações entre os ovários direito e esquerdo e porcentagem de ovulações com alterações do folículo pré-ovulatório foram de 16,49% (46/279), 1,43% (4/279), 52,65% (146/279), 47,35% (133/279) e 77,85% (217/279), respectivamente. A taxa de prenhez geral foi de 60%. Não foram observadas entre os períodos, diferenças ($P > 0,05$) nas características avaliadas. A variação do fotoperíodo não afetou as características foliculares, comportamento sexual e fertilidade de jumentas da raça Pêga nas condições experimentais avaliadas. No Experimento 2 avaliou-se a taxa de recuperação, as características morfométricas e estágio de desenvolvimento embrionário de embriões coletados nos dias D7, D8 e D9. Foram realizados 90 lavados uterinos de 7 jumentas da raça Pêga com idade variando de 6 a 14 anos. Foram recuperados 63 embriões de 90 lavados (70%) referentes a 107 ovulações (58,9%). O diâmetro médio dos embriões foi de 747.38 ± 76.45 μ m. Dentre os embriões colhidos, as mórulas corresponderam a 1,59% (1/63), os blastocistos iniciais a 6,35% (4/63), os blastocistos a 23,81% (15/63) e os blastocistos expandidos 68,25% (43/63), dos embriões totais. Quanto à qualidade, 90,5% (57/63) dos embriões foram classificados como excelentes ou bons (Graus I e II) e 9,5% (6/63) como regulares ou ruins (Graus III e IV). Não foi observada diferença da taxa de recuperação embrionária entre os períodos do ano. Os dados de qualidade dos embriões obtidos no presente estudo são considerados satisfatórios para um programa de TE.

ABSTRACT

KER, Pedro Gama, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2013. **Sexual behavior, fertility and embryo recovery rate in Pêga breed jennies during two periods along the year.** Adviser: Giovanni Ribeiro de Carvalho. Co-advisers: Ciro Alexandre Alves Torres and Eduardo Paulino da Costa.

We aimed with this study to evaluate the effect of photoperiod changes on reproductive characteristics of Pêgabreed jennies along the year and to verify the embryo recovery rate and embryo characteristics on days 7, 8 and 9 postovulation. In Experiment 1, 279 estrous cycles of 44 jennies were evaluated during 3 consecutive years. The experimental groups were split in two periods according to photoperiod along the year in the southern hemisphere: P1: October to March (Long photoperiod); P2: April to September (Short photoperiod). The sexual behavior, ovarian and uterine characteristics, and fertility during 3 years were evaluated. Jennies were checked for estrous behavior by a jack and were evaluated by transrectal palpation every two days to identify females in estrous. Jennies with sexual signs of estrous or with an ovarian follicle bigger than 25 mm in diameter were controlled daily until ovulation was detected. Artificial insemination or natural breed was performed every two days when a follicle reached ≥ 35 mm until ovulation. Pregnancy diagnose was done on days 13, 25 and 35 postovulation by ultrasonography using a transrectal linear transducer (5 MHz). Differences were not detected ($P > 0.05$) between the two periods in the following characteristics: follicle diameter at the beginning of estrous (29.80 ± 0.18 mm), follicle diameter at ovulation (44.61 ± 0.24 mm), estrous length (7.44 ± 0.05 days), interval from the onset

of estrous to ovulation (5.99 ± 0.06 days), interval from ovulation to the estrous end (1.45 ± 0.03 days), follicle growth rate (2.50 ± 0.04 mm/day) frequency of double (16.49%, 46/279) and triple (1.43%, 4/279) ovulations, frequency of ovulation in the left (52.65%, 146/279) and right (47.35%, 133/279) ovaries, and frequency of ovulations with visual signs in the pre-ovulatory follicle (77.85%, 217/279). Total pregnancy rate was 60%; a difference in pregnancy rate between the two periods was not detected ($P > 0.1$). Photoperiod variation did not affect the characteristics of follicle growth, sexual behavior and fertility in jennies of Pêga breed under the present environment conditions. In Experiment 2, the recovery rate, development and quality of embryos on days 7, 8 and 9 were evaluated. For embryo recovery, 90 uterine flushes were performed in seven Pêga breed jennies, aging 6 to 14 years old. Sixty-three embryos from 90 flushes (70%) and 107 ovulations (58.9%) were recovered. Averaged embryo diameter was 747.38 ± 76.45 μ m. The proportions of embryos development stages were as follow: morulas, 1.59% (1/63); early blastocysts, 6.35% (4/63); blastocysts, 23.81% (15/63); and expanded blastocysts, 68.25% (43/63). For quality grades, 90.5% (57/63) of embryos were classified as excellent or good (Grade I and II) and 9.5% (6/63) as regular or poor (Grade III and IV). No difference ($P > 0.1$) in embryo recovery rate was detected between the two year periods. The embryo quality observed in the present study is considered satisfactory in a embryo transfer program.

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da FAO (2008), a população mundial de equídeos foi estimada em 113.473.522 de cabeças, sendo composta por 58.770.171 equinos, 43.496.677 asininos e 11.206.674 muares. No Brasil, de acordo com levantamento realizado pelo IBGE (2008), a população de equídeos está estimada em 7.986.023 cabeças, sendo 5.541.702 equinos, 1.130.795 asininos e 1.313.526 muares.

Os asininos tem muita importância na agropecuária, servindo como meio de transporte para pessoas e cargas em diversas regiões do planeta. Além disso, desempenham importante papel na produção de muares em todo mundo (Pugh, 2002). Os muares são animais híbridos, oriundos do cruzamento entre asininos (*Equus asinus*) e equinos (*Equus caballus*). No Brasil destaca-se a criação de asininos da raça Pêga com a finalidade de produção de mulas e burros, oriundos do seu cruzamento com éguas de diversas raças nacionais (Campolina, Mangalarga, Mangalarga Marchador, etc.) (Carvalho, 2011).

A raça Pêga, destaca-se pelo seu bom porte; a rusticidade sob condições de criação extensiva, gerando custos reduzidos de criação; a beleza de suas linhas corpóreas e, acima de tudo, pelo seu atributo zootécnico funcional – o andamento marchado (Figura 1), gerando o luar Pêga, que vem conquistando um grande número de criadores por todo o território nacional.



Figura 1 – Jumenta Pêga sendo apresentada em exposição, detalhe para o andamento marchado. (Fonte: Associação Brasileira dos Criadores de Jumento Pêga - ABCJPêga).

Em equinos, o número de estudos nas diversas áreas de reprodução é bastante expressivo, o que possibilita o aperfeiçoamento de técnicas como a inseminação artificial (IA) e transferência de embriões (TE). A utilização dessas biotecnologias acelera o ganho genético das raças equinas, pois possibilita a obtenção de um maior número de produtos de animais geneticamente superiores. Segundo dados da IETS (Sociedade Internacional de Transferência de Embriões) em 2012, o Brasil ocupava o primeiro lugar no cenário mundial em TE com 47,49% do total de embriões transferidos.

Ao contrário do que acontece na espécie equina, nos asininos ainda são poucas pesquisas desenvolvidas visando ampliar os conhecimentos da sazonalidade reprodutiva, fertilidade e utilização de biotecnologias. Nos asininos, a maioria dos trabalhos é focada na inseminação artificial inter e intraespecífica (Oliveira, 2005; Vidament et al., 2009), e transferência de embriões, nesses casos, visando a multiplicação de raças de jumentos com algum perigo de extinção (Panzani et al., 2012).

Na literatura são poucos os estudos relacionados a fatores que podem influenciar a fertilidade da TE, como: idade do embrião coletado e transferido (Allen et. al, 1985; Vendramini et al., 1997; Camillo et al., 2010), qualidade do embrião (Panzani et al., 2012), solução para

lavagem uterina (Camillo et al.,2010), técnica para transferência de embrião asinino (Allen et. al, 1985; Vendramini et al., 1997, Camillo et al.,2010; Panzani et al., 2012), sincronia entre doadora e receptora (Vendramini et al., 1997; Camillo et al.,2010; Frade et al., 2012; Panzani et al., 2012).

Para obter um melhor aproveitamento do uso das técnicas de reprodução assistida na espécie asinina, deve-se conhecer sua fisiologia reprodutiva e comportamento sexual, possibilitando assim potencializar os processos reprodutivos pelo uso de tecnologias e procedimentos específicos a campo e de laboratório.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da variação do fotoperíodo sobre as características reprodutivas de jumentas Pêga ao longo do ano, além de verificar a taxa de recuperação embrionária de lavados feitos nos dias 7, 8 e 9 pós-ovulação, suas características morfométricas e o estágio de desenvolvimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Existe um conceito entre criadores de asininos, que esta espécie possui fertilidade inferior quando comparada àquela da espécie equina (Silva Filho, *et al.*, 1986). Outras espécies domésticas, como bovinos, suínos e ovinos, têm sido muito selecionadas para eficiência reprodutiva e outros aspectos produtivos (Hafez, 1995). No Brasil, tanto em equinos quanto em asininos, falta seleção objetiva das raças, baseada na eficiência reprodutiva (Teixeira *et al.*, 1985).

O estudo da biologia reprodutiva dos animais domésticos é essencial para a produção animal, pois é baseado nos conhecimentos normais do seu ciclo de vida que a criação dos animais se sustenta. Sendo assim, quanto mais estudada e conhecida a biologia reprodutiva da espécie, sob condições naturais, aliados a eficiência econômica de sua produção, melhor e mais eficiente serão os novos produtos e, excluindo possíveis limitações e complicações por condições insatisfatórias de manejo e de criação (Canisso *et al.*, 2009).

O jumento Pêga tem sua origem do cruzamento do jumento Egípcio (*Equus asinus africanus*) com outras raças de jumentos principalmente a Italiana e a Espanhola (Costa, 2007). A criação da raça Pêga data do início do século XIX, no município de Entre Rios de Minas-MG, onde o padre Manoel Maria Torquato de Almeida começou a selecionar os primeiros animais. O Padre Torquato, em 1847, vendeu ao Coronel Eduardo José de Rezende, proprietário da Fazenda do Engenho Grande dos Cataguases, no município de Lagoa Dourada, todo o seu

rebanho. O Coronel Eduardo continuou a obra de melhoramento da raça, tendo especial cuidado para a padronização do seu grupo de animais. O nome Pêga tem origem no aparelho formado por duas argolas de ferro, formando algemas, com o qual os escravos fugitivos eram presos pelos tornozelos. Os jumentos que deram origem à raça eram marcados a fogo pelos seus proprietários, com uma marca figurando aquele aparelho (Figura 2). Até os dias de hoje, os criadores da família Rezende de Lagoa Dourada utilizam a marca “Pêga” para identificar seus animais.



Figura 2 – Marca “Pêga”, primeiramente utilizada para identificar os animais da raça Pêga e atualmente utilizada pelos criadores da Família Rezende da região de Lagoa Dourada-MG. (Fonte: Arquivo pessoal).

2.1. Características reprodutivas:

2.1.1. Organização social e comportamento sexual:

Por pertencer à mesma família que os equinos, muitos criadores e mesmo técnicos acreditam que a organização social e o comportamento reprodutivo dos asininos são similares aos dos equinos, e, portanto, lançam mão de procedimentos de manejo similares aos utilizados na

criação destes. Para minimizar a ocorrência desses erros de manejo, é conveniente que se conheça a espécie para que se possa maximizar a sua eficiência reprodutiva, incorporando ao máximo no manejo de criação controlada as características inerentes à espécie.

2.1.1.1. Organização social:

Os equinos apresentam organização social em haréns, que consiste em um grupo relativamente estável de fêmeas adultas mantidas sob a liderança de um garanhão (Klingel, 1975). O garanhão dominante não permite a entrada de outro garanhão no harém, independente da área territorial. No Quadro 1 são apresentadas diferenças comportamentais entre as espécies.

Quadro 1 – Diferenças e similaridades no comportamento sexual e organização social de jumentos e garanhões.

CARACTERÍSTICAS	ESPÉCIES	
	Jumento	Garanhão
Executa vocalização típica da espécie	S	S
Reflexo de Flehmen	S	S
Rola ao solo em cortejo	S	N
Movimentos masturbatórios	S	S
Investiga secreções uro-vaginais no períneo e no solo	S	S
Movimentos mastigatórios na presença da fêmea da mesma espécie	S	N
Comportamento arrebanhador	N	S
Formador de haréns	N	S
Territorialidade	S	N
Comportamento de retirada lenta e rápido do local de cortejo e cópula	S	N
N = Não; S = Sim		

Fonte: Adaptado de Canisso *et al.* (2009).

Alguns estudos demonstraram que os asininos apresentam organização social do tipo territorial. (Klingel, 1975; Henry et al., 1991; McDonnell, 1998; Moehlman et al., 1998; Henry et al., 2009). A definição e a expressão de territorialidade são realizadas pelos machos reprodutores dominantes. O local escolhido geralmente apresenta sombra, além de boa disponibilidade de água e forragem (Henry et al., 1991; Klingel, 1998). Por outro lado, as fêmeas asininas não demonstram interesse por determinado território e ingressam aos territórios determinados pelos machos dominantes em períodos de receptividade sexual ou em busca de alimento e água (Henry et al., 2009), porém, sem serem arrebanhadas. A migração continuada das fêmeas é um achado constante (Klingel, 1975; McDonnell, 1998; Moehlman et al., 1998). As jumentas, quando receptivas, além de permitirem a corte, procuram o macho de forma incisiva, se apresentam e chegam pelo contato direto a incitá-lo ao cortejo (Henry et al., 1987, 1998). Esse comportamento territorialista do jumento é observado tanto com jumentas (Henry et al., 1991; McDonnell 1998) quanto com éguas (Lodi et al., 1995).

Em estudos realizados em sistema de monta extensiva, foi observado que a vocalização executada pelo macho é uma forma importante de comunicação e exerce um efeito de atração das fêmeas em estro, particularmente, para aquelas que estão fora do campo de visualização. No contexto do comportamento reprodutivo das fêmeas, a vocalização é mais frequente em jumentas em estro, expressando, aparentemente, uma resposta ao chamado realizado pelo reprodutor dominante (Henry et al., 1987, 1991; McDonnell, 1998).

2.1.1.2. Comportamento sexual:

Comportamento sexual dos machos:

Em sistema extensivo de criação, o macho demonstra intercalar períodos de cortejo sexual a períodos de desinteresse pelas fêmeas,

quando está descansando, comendo, bebendo ou se espojando. Durante o período diurno, ocorrem vários períodos de cortejo sexual, e estes frequentemente se iniciam com a vocalização do macho. Observações realizadas em sistema de monta a campo nitidamente sugerem que, com a vocalização, as fêmeas estariam liberadas para se aproximar do macho dominante (Henry et al., 2009).

As fêmeas entram no território de dominação do macho e este começa o cortejo e a interação entre si. Esse cortejo e interação pode se estender por mais de meia hora, dependendo do número de fêmeas. O cortejo sexual se inicia com a aproximação do macho abordando as fêmeas pela frente; a visão e a olfação são os sentidos em uso (Gastal et al., 1996). A olfação inicialmente é nasonasal, passando o macho na sequência a cheirar o pescoço, flanco, terminando pela área perineal da fêmea. Também é observado que o macho mordisca as fêmeas nas diversas partes do corpo. A área que geralmente merece maior atenção do macho é o períneo, na fêmea em estro, estimulada pelo macho, pode vir a urinar. Frequentemente, nesta abordagem, o macho executa um movimento de elevar a cabeça com rotação parcial do pescoço e realiza reflexo de Flehmen (Henry et al., 1991, 1998; Gastal et al., 1996). Durante esse cortejo natural o jumento também pode rolar no solo, às vezes seguido por monta sem ereção e apresentar movimentos masturbatórios (Henry et al., 1991; Lodi et al., 1995; Canisso et al., 2009). Essa interação inicial pode ser seguida da retirada brusca do jumento, a passo ou a galope. O jumento muitas vezes pode permanecer distante da fêmea, apresentando aparente desinteresse, manifestado por movimentos de pastoreio, com ou sem atenção voltada para a fêmea. A seguir o jumento retorna a realizar movimentos masturbatórios, volta-se para a fêmea, e tenta realizar a monta novamente. Esse comportamento será realizado várias vezes com montas sem ereção ou ereção parcial ou simplesmente uma monta seguida com ejaculação a partir da primeira ou segunda interação (Canisso et al., 2009).

De acordo com Henry et al. (1998) a fêmea desempenha papel importante no comportamento sexual masculino e são notórias as

diferenças entre éguas e jumentas (Ginther, 1992; Canisso et al., 2009). As últimas exibem expressão facial característica com constantes movimentos mastigatórios, abaixamento e extensão do pescoço e orelhas voltadas para trás e caídas (Henry et al., 1987), o que provavelmente seja mais atrativo para o jumento (Henry et al., 1991; McDonnell, 1998).

Lodi et al. (1995) avaliando a resposta comportamental de cortejo e monta de jumentos em éguas sob condições de pastagens, observou comportamento semelhante do jumento em relação a éguas, porém com intervalos e manifestações de cortejo mais curtos e discretos com a fêmea da espécie diferente. Porém para a realização de coberturas das éguas o jumento deve ser condicionado. A época do condicionamento mais defendida pelos adeptos deste sistema de produção seria na juventude quando, após o desmame, o jovem jumento seria criado até atingir a idade adulta na presença exclusiva de potras. Esta prática, aliada a cobertura de éguas no início da vida reprodutiva, permite o condicionamento do jumento.

A duração da rufiação antes da cópula é variável entre indivíduos. Jumentos jovens, em particular, são lentos à cobertura (Gebbers, 1995). Segundo Canisso (2008), jumentos jovens podem apresentar o dobro de montas sem ereção quando comparados com adultos.

O tempo de reação é dado pelo período da exposição inicial do jumento/garanhão a uma fêmea em estro até a ereção (Silva Filho et al., 1999). De uma forma geral, têm sido relatados longos tempos de reação em jumentos quando comparados aos garanhões, independente da raça e do manequim utilizado e, segundo os autores, variam em média de 10 a 50 minutos (Henry et al., 1987; Morais, 1994; Gastal et al., 1996; Gerbers, 1995; Tibary, 2007; Canisso et al., 2009).

Henry (1991) registrou maior tempo de reação para jumentos, utilizando jumentas como manequim, em sistema de monta natural a campo quando comparados a um sistema de monta natural controlada. Canisso et al. (2009) trabalhando com jumentos das raça Pêga,

condicionados na cobertura de éguas, em sistema de coleta de sêmen, relataram tempo médio de reação de $18,28 \pm 17,65$ minutos.

Quanto ao tempo de ejaculação, Canisso et al. (2009) registraram valores médios de 25 segundos, valores esses próximos aos obtidos por Nishikawa (1959).

Não há na literatura muitos estudos em asininos envolvendo a avaliação do tempo de monta, como em garanhões. A importância do tempo de monta do tempo de monta em garanhões foi demonstrada pela alta correlação com volume de gel no ejaculado, que é uma característica indesejável na manipulação do sêmen (Davies-Morel, 1999). Entretanto essa correlação não foi observada em jumentos da raça Pêga (Canisso et al., 2009).

Convém chamar a atenção para a importância de se respeitar o comportamento sexual dos jumentos, principalmente o tempo de cortejo sexual prévio à copula, visto que é parte integrante das condutas inerentes à espécie. Considerando que o comportamento de monta sem ereção é frequentemente realizado e também é expresso pelos garanhões durante o cortejo sexual. É muito comum observar erros de manejo como impedir que os reprodutores executem a monta sem ereção, muitas vezes de forma violenta, abrindo a possibilidade de se estar criando desvios comportamentais indesejáveis (Henry et al., 2009).

Comportamento sexual das fêmeas:

O cortejo sexual é resultante da interação do macho com a fêmea e vice-versa. Existe uma tendência de se aceitar que é o macho quem lidera e exerce a maioria das ações durante o cortejo sexual. De fato, esta compreensão tem fundamento, mas a participação da fêmea não pode ser negligenciada. Estudos de comportamento sexual mostram que, em certas espécies, a fêmea é mais discreta e passiva, apenas aproximando-se e colocando-se nas imediações do macho quando está em estado de receptividade. Em outras espécies, as fêmeas receptivas se juntam em

grupos e expressam certos comportamentos que permitem ao macho visualizar que estão no período de cio, e existem aquelas espécies em que as fêmeas participam ativamente e procuram o macho de forma incisiva quando estão receptivas. As jumentas poderiam ser classificadas neste último grupo. Além de permitirem a corte, quando receptivas, procuram o macho, se apresentam e chegam pelo contato direto a incitá-lo ao cortejo (Henry et al., 1987, 1998).

Jumentas apresentam características de comportamento sexual diferentes das exibidas por éguas (Henry et al., 1987; Henry 1991; Canisso et al., 2009) (Quadro 2). Os sinais de estro expressos pelas jumentas receptivas são: aproximação junto ao macho (comum a muitas espécies), justaposição do pavilhão auditivo junto ao pescoço e movimentos de abrir e fechar a boca ou simplesmente manter a boca aberta, sinais bem característicos dessa espécie. Além desses, a aceitação da monta e a abertura dos membros posteriores bem como a estagnação no aguardo da monta fazem parte dos sinais. Sinais adicionais expressos de forma mais discreta, se comparados com a expressão destes pelas éguas em estro, são o ato de elevar a extremidade da cauda (conhecido, nas éguas, como cauda em bandeira) e a realização esporádica da eversão dos lábios vulvares. As jumentas podem também urinar após período de estimulação sexual. Como citado anteriormente, a vocalização realizada pelo macho é um referencial para o início de um período de cortejo sexual. Atendendo a este sinal, as fêmeas em estro ou próximas ao período de receptividade sexual que estiverem mais afastadas e até fora do campo de visualização do macho se encaminharão para a sua proximidade. Formar-se-á, então, um grupo de fêmeas receptivas que serão sequencialmente abordadas pelo macho. É geralmente durante o cortejo que jumentas expressarão todos ou a maioria dos sinais de receptividade descritos acima. As fêmeas que estiverem ainda em fase inicial de receptividade sexual deixar-se-ão cortejar e poderão expressar até vários sinais de receptividade, mas, nessa fase, quando montadas pelo macho ainda sem ereção, geralmente acabam se afastando ou coiceando-o (Henry et al., 1987, 1991;

McDonnell, 1998). O comportamento sexual das fêmeas no início do estro é chamado de comportamento passivo (Canisso et al., 2009).

Quadro 2 – Diferenças e similaridades no comportamento sexual de jumentas e éguas.

CARACTERÍSTICAS EM ESTRO	ESPÉCIES	
	Jumenta	Égua
Aceitação da monta pelo reprodutor	S	S
Comportamento homossexual	S	N (raro)
Movimentos mastigatórios na presença do macho	S	N
Lançam as orelhas sobre o pescoço	S	N
Urinação freqüente	S	S
Eversão e exposição do clitóris	S	S
Busca constante pelo macho	S	S
Deslocamento lateral da cauda, expondo o períneo	N	S
N = Não; S = Sim		

Fonte: Canisso et al. (2009).

Quando várias fêmeas estão em estro simultaneamente, podem ser observados comportamentos classificados como heterotípicos (Henry et al., 1991, 1998). A monta de uma jumenta em estro sobre outra não é infrequente. Este comportamento é comumente visto em vacas em estro e é raramente observado em éguas. Em períodos de atividade intensa, também pode ser visto que determinadas jumentas dominam certas atitudes, entre outras, o ato de arrebanhar as parceiras em estro e mantê-las em um grupo mais coeso. Por vezes, estes atos chegam até a interferir na sequência de conduta do macho. A manifestação de dominância de algumas jumentas parece se expressar particularmente mais durante o período de receptividade sexual (Henry et al., 2009).

As características comportamentais de jumentas são responsáveis pela atração sexual do jumento, e talvez essas diferenças no comportamento sexual comparado com éguas sejam, em parte, responsáveis pelas tentativas mal sucedidas de cobrição de éguas com

jumento, seja em sistema de monta natural a campo, monta controlada ou coleta de sêmen (Lodi et al., 1995; McDonnell, 1998; Morais et al., 1994).

2.1.2. Sazonalidade reprodutiva:

2.1.2.1. Sazonalidade reprodutiva em éguas:

A égua é um animal de comportamento poliéstrico estacional e no período de 12 meses apresenta distintas fases quanto ao ciclo reprodutivo (Ginther, 1974). Sabe-se que há variação sazonal do ciclo estral em éguas, mas que nem todas entram em anestro estacional no inverno (Ginther, 1974; Dowsett et al., 1993). Segundo Ginther (1992), o fotoperíodo é o principal fator externo que influencia o ritmo circanual da reprodução na espécie equina. Este sinal ambiental é traduzido para um sinal endócrino na glândula pineal que secreta melatonina durante a fase de fotoperíodo curto. Na égua, dias curtos são associados à queda na secreção de gonadotrofinas e conseqüente diminuição na atividade ovariana. O mecanismo no qual gonadotrofinas e a secreção do GnRH diminuem durante o período de transição outonal e anestro não é totalmente entendido em éguas. A duração do anestro varia entre éguas e também na mesma égua entre os anos (Daels, 2006).

Sabendo-se que a espécie equina é poliéstrica sazonal, o início da estação de monta ocorre na primavera, associada com o aumento da luminosidade diária, da temperatura e da disponibilidade de alimento. A estação de monta se prolonga até o final da estação de verão, onde o fotoperíodo começa a diminuir promovendo redução do comportamento estral destes animais. Assim como em outras espécies sazonais, possui ritmo reprodutivo circanual que sincroniza seu padrão endógeno entre o inverno e o verão (Nagy et al., 2000), assegurando que o produto nasça em condições climáticas favoráveis e no momento do ano apropriado (Aljarrah, 2004). A evolução da sazonalidade reprodutiva equina combina os 11 meses de período gestacional e a necessidade do parto acontecer

quando a oferta de comida e as condições ambientais são ótimas para a sobrevivência e desenvolvimento do potro (Ginther et al., 2004).

Outros fatores externos que influenciam a regulação do ritmo circanual da reprodução:

a. Temperatura:

Em uma pesquisa apresentando registros de 10 anos de criação de uma fazenda de puro-sangue inglês na Austrália, Guerin & Wang (1994) relataram diferença entre os anos no momento da primeira ovulação. Os autores concluíram que o início da atividade reprodutiva estava intimamente relacionado com as temperaturas mínima e máxima ambientais. As temperaturas mínimas e máximas nas semanas imediatamente anteriores à primeira ovulação foram semelhantes em todos os anos do estudo. Assim, em condições semelhantes de fotoperíodo, nutrição e manejo do criatório, parece que a temperatura desempenha um papel na distribuição do ritmo reprodutivo circanual.

b. Nutrição e condição corporal:

O efeito da nutrição e da condição corporal sobre a sazonalidade da reprodução tem sido descrito por vários autores. Ginther (1974) observou que éguas que ganharam peso durante o início da primavera apresentaram um período anovulatório menor. Segundo Henneck et al. (1984), éguas com escore de condição corporal (ECC) abaixo de 5 (escala de 1 a 9) apresentaram intervalo médio à primeira ovulação significativamente maior que éguas com ECC maior que 5. Kubiak et al. (1987) avaliando o efeito da interação entre consumo de energia e a condição corporal na performance reprodutiva de éguas vazias, relataram que um alto consumo de energia reduziu o intervalo à primeira ovulação em éguas em transição com baixo ECC mas não beneficiou éguas com ECC moderado a alto.

Controle neuroendócrino da sazonalidade:

a. Melatonina:

Tem sido demonstrado que a glândula pineal está envolvida no controle da sazonalidade reprodutiva e converte os sinais do fotoperíodo captados pelos olhos em sinais endócrinos. Em éguas, elevadas concentrações de melatonina estão associadas a fase escura (Nagy et al., 2000). As concentrações plasmáticas são maiores durante o outono e inverno que na primavera e verão e a atividade da HIOMT (enzima envolvida na síntese de melatonina) é maior durante a estação anovulatória e diminui significativamente 2 a 3 meses antes do início da estação ovulatória (Wesson et al., 1979). O papel da melatonina na interpretação dos sinais do fotoperíodo foi demonstrado por Guillaume & Palmer (1991) que demonstraram que a aplicação de melatonina exógena 4h antes do início das noites curtas (14,5h de luz e 9,5h de escuro) preveniu o efeito estimulatório de dias longos. Similarmente, éguas em anestro sazonal colocadas em fotoperíodo artificial (14,5h de luz e 9,5h de escuro) não responderam à estimulação do fotoperíodo quando foi administrado melatonina a cada 2h durante um período de 12h que incluía as 9,5h de escuro (Palmer & Guillaume, 1992). Nestas éguas, o início da escuridão, marcada por um aumento na secreção de melatonina, e o aparecimento de luz, caracterizada por uma diminuição na secreção de melatonina, foram mascarados pelos níveis elevados de melatonina exógena.

b. Neurotransmissores:

Similarmente a outras espécies sazonais, os dados disponíveis em éguas sugerem que a ausência de atividade reprodutiva durante o anestro é o resultado de uma supressão da secreção de GnRH induzida por vários circuitos neuronais, dentro do hipotálamo. Estes sistemas neuronais mediam o efeito de fatores internos e externos, tais como o

ritmo endógeno, fotoperíodo, nutrição e temperatura, cada um agindo por uma via parcialmente independente (Nagy et al., 2000).

b.1. Opióides:

Em éguas que estão em anestro sazonal, a administração de nalaxone (antagonista opióide) resultou em um aumento imediato na secreção de LH (Aurich et al., 1994). Segundo Irvine et al. (1994) esse aumento na secreção de gonadotrofinas causado pelo nalaxone é dose dependente e a resposta tem efeito quadrático. Isso pode explicar em parte porque Sharp et al. (1985) usando altas doses de nalaxone não observaram um aumento na secreção de LH em éguas em anestro. Além disso, a inibição é aumentada durante o período de anestro e a ocorrência da atividade ovariana cíclica durante a estação anovulatória está associada à redução da inibição opioidérgica do eixo hipotálamico-hipofisário (Turner et al., 1995; Davison et al., 1998).

b.2. Dopamina:

O papel da dopamina na reprodução tem sido objeto de estudos em muitas espécies. Em ovelhas, a dopamina media o *feedback* negativo do estradiol durante o anestro. Além disso, a secreção de gonadotrofinas durante o anestro parece ser inibida em partes por neurônios dopaminérgicos que agem diretamente nos neurônios que secretam GnRH (Havern et al., 1994).

Em éguas, a concentração de dopamina no fluido cérebroespinal é maior durante o período de anestro que durante a estação de monta (Melrose et al., 1990), porém o mecanismo de ação da dopamina no controle da sazonalidade reprodutiva não está bem esclarecido na espécie equina. Provavelmente os antagonistas da dopamina aceleraram o início da atividade ovariana cíclica em éguas em transição anestro-estação de monta, e possivelmente atuam indiretamente sobre a atividade ovariana, induzindo a um aumento na prolactina que conseqüentemente

levará a um aumento de receptores de LH e/ou FSH mediando o efeito das gonadotrofinas circulantes (Nagy et al., 2000).

c. Hormônios da tireóide:

Em ovelhas, tireoidectomia durante o período de anestro bloqueia a transição da época de estação de monta em anestro. Em éguas, a tireoidectomia não alterou o aparecimento do anestro (Porter et al., 1995), mas os níveis plasmáticos de hormônios tireoidianos foram significativamente mais baixos em éguas em anestro em comparação aquelas que continuaram a exibir ciclos estrais durante a estação anovulatória (Huszenicza et al., 2000). Sugere-se que os níveis de T3 e T4 e a atividade reprodutiva são regulados por mecanismos de controles hipotalâmicos semelhantes. Em comparação com as ovelhas, os hormônios da tireóide não parecem desempenhar um papel importante no controle da sazonalidade reprodutiva em éguas.

d. Kisspeptina:

Diversos trabalhos, nas áreas molecular e farmacológica, mostram que a kisspeptina bem como seu receptor Kiss1r foram considerados os principais reguladores do eixo hipotalâmico-hipofisário - gonadal (HHG), na medida em que foi descoberta a relação dos neurônios que a produzem com os neurônios que produzem o hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), estes possuindo receptores Kiss1r, no sistema nervoso central. A administração de Kisspeptina causa aumento na secreção de gonadotrofinas, aparentemente por ação sobre os neurônios produtores de GnRH e desempenham papel importante no controle da sazonalidade reprodutiva em ovelhas (Caraty et al., 2007; Clarke et al., 2009).

Magee et al. (2010) e Decourt et al. (2010) avaliaram a habilidade da Kisspeptina em estimular a secreção de LH em éguas. Esses autores relataram que após repetidas aplicações de Kisspeptina (a cada 6 horas por 3 dias) e infusão contínua, resultaram em um aumento na secreção de LH.

e. Hormônio inibidor de Gonadotrofinas (RFRP3):

Existe uma controvérsia quanto a ação do RFRP3 em relação à secreção de LH. Alguns estudos apontam um efeito inibitório direto sobre a secreção de LH em ratas, hamsters, vacas e ovelhas (Clarke et al., 2008; Pineda et al., 2010). Entretanto, outros estudos não encontraram nenhum efeito do RFRP3 sobre a secreção de LH em ratas (Murakami et al., 2008; Rizwan et al., 2009).

Em éguas, o Hormônio inibidor de Gonadotrofinas equino (eRFRP3) foi utilizado em estudos com a finalidade de testar se havia interferência na liberação de GnRH e LH em éguas (Thorson et al., 2011; Prezotto et al., 2011). Esses autores reportaram que o tratamento com eRFRP3 não teve efeito sobre as concentrações plasmáticas de LH e nem na liberação de LH induzida pelo GnRH.

2.1.2.2. Sazonalidade reprodutiva em jumentas:

Pouco se sabe sobre o efeito da sazonalidade na reprodução da espécie asinina. Estudos conduzidos em diferentes regiões do planeta indicam uma divergência quanto ao padrão da sazonalidade reprodutiva na jumenta.

Ginther et al. (1987), utilizando 12 jumentas no estado de Wisconsin nos Estados Unidos, estudaram os efeitos das estações do ano sobre o ciclo estral, e concluíram que a incidência e duração do anestro sazonal são menos marcantes do que o reportado em éguas. Esse estudo revelou uma menor porcentagem de jumentas ovulando em Dezembro (64%) que durante os outros meses do ano (82 - 100%), mas apenas 4 das 12 jumentas (34%) apresentaram período de anestro sazonal durante o inverno, sendo este muito reduzido (39 – 72 dias). Ainda nos Estados Unidos, outros pesquisadores relataram que a duração do ciclo estral (23.3 ± 2.6 dias) e duração do estro (5.9 ± 2.1 dias) foi similar ao longo das 4 estações do ano, estudo este conduzido no Texas utilizando 33 jumentas da raça Mammoth (Blanchard et al., 1999). Em

estudo conduzido no Brasil, Henry et al. (1987) relataram que as jumentas não apresentaram sinais de estro durante os meses de inverno.

Outro estudo conduzido na África Ocidental indicou que jumentas apresentam sinais de estro durante todo o ano, mas durante a estação das chuvas (quando a luz do dia é diminuída, mas a disponibilidade de forragem é maximizada) os dias de estro são mais longos, quando comparado com a estação seca (quando se tem maior quantidade de luz, mas tem-se menor produção de forragens devido à falta de água), indicando que em jumentas a disponibilidade de alimentos tem uma forte implicação sobre o ciclo estral como o fotoperíodo em éguas (Lemma et al., 2006).

2.1.3. Dinâmica folicular em jumentas:

2.1.3.1. Duração do ciclo estral:

A duração do ciclo estral nas éguas varia em média de 21 a 22 dias, sendo aproximadamente 14 e 15 dias de diestro e 5 a 7 dias de estro (Susan et al., 1996; Nagy et al., 1998; McKinnon e Voss, 1993). Nas jumentas, a duração do ciclo estral é de aproximadamente 23 a 25 dias, sendo o período do estro de 6 a 7 dias e diestro de 17 a 19 dias (Nishikawa, 1959, Vandeplassche et al., 1981; Henry et al., 1987; Meira et al., 1995, Blanchard et al., 1999, Conceição, 2005, Lemma et al., 2006, Taberner et al., 2008).

Estros anovulatórios podem acontecer e a luteinização dos folículos dominantes pode ocorrer devido à incapacidade ou capacidade insuficiente de responder a ação das gonadotropinas, por deficiência hipotalâmica, ou disgenesia ovariana (Vendramini et al., 1997). Desta forma, pode haver um prolongamento da duração do ciclo estral.

2.1.3.2. Dinâmica folicular:

Os aspectos fisiológicos do ciclo reprodutivo da égua têm recebido especial atenção dos pesquisadores, porém nas jumentas, poucos trabalhos enfocam o assunto.

Um aumento transitório na população de folículos no início e na metade do diestro em éguas é notado a partir da avaliação ovariana contínua pela palpação retal (Ginther, 1992). Com a utilização da ultrasonografia, observou-se um aumento na população folicular (≥ 10 mm) na metade do diestro, que foi seguida depois de sete a oito dias pelo continuado crescimento do maior folículo e parada ou redução no crescimento dos demais (Ginther, 1995). A partir de então outros trabalhos realizados com o acompanhamento diário do tamanho de folículos > 15 mm individualmente (identidade) mostraram que nas éguas, durante a estação ovulatória, há uma onda folicular detectada na metade do diestro e em 29 a 42% dos animais outra onda inicia-se ao fim do estro ou começo do diestro, o que caracteriza a ocorrência de apenas uma onda folicular na maioria dos animais e um percentual menor da ocorrência de ciclos com duas ondas foliculares (Bergfelt, 1998).

Sirois et al. (1989), em estudo da dinâmica ovariana em éguas, observaram dois modelos de desenvolvimento folicular durante o ciclo estral. O mais encontrado (71%) foi de desenvolvimento de uma onda folicular por ciclo, com surgimento do folículo ovulatório aos $6,3 \pm 0,9$ dias do diestro. No outro modelo, detectado em 29% das éguas, duas ondas de crescimento folicular foram observadas, a primeira surgiu no início do ciclo e resultou geralmente em crescimento folicular de diestro, em seguida outra onda foi observada aos $11 \pm 1,2$ dias do diestro a qual originou um folículo ovulatório. A onda folicular que surgiu durante o estro ou início do diestro foi denominada de onda folicular secundária e deu origem a um folículo dominante de diestro, que algumas vezes podem ovular. A onda de crescimento folicular no meio do diestro foi chamada de onda folicular primária e surgiu em média aos $7,4 \pm 0,5$ dias pós-ovulação,

produzindo um folículo dominante que resultou em ovulação durante o estro (Ginther, 1993).

Meira (1995), em estudo conduzido com 13 jumentas em atividade cíclica regular, observou comportamento do desenvolvimento folicular similar ao descrito por Sirois et al. (1989). Na maioria dos ciclos estrais das jumentas (55%) foi detectado um *pool* de folículos de 11 a 20 mm de diâmetro no meio do diestro que se manteve até a detecção de um folículo ovulatório. Nesse mesmo estudo, modelo de duas ondas foliculares possivelmente ocorreu em algumas jumentas, visto que, em 15% dos ciclos estrais, um folículo dominante se destacou nos primeiros seis dias do diestro e alcançou tamanho pré-ovulatório entre o 8° e 11° dia, sem detecção da ovulação e somente atresia foi observada. Nestes mesmos ciclos estrais outro grupo de folículos de 11 a 20 mm surgiu entre o 15° e 21° dia pós-ovulação, terminando com a ovulação de um deles no final do ciclo.

Em éguas, de acordo com Ginther (2000), quando os folículos atingem 13 mm de diâmetro, as concentrações de FSH iniciam seu declínio, devido à capacidade desses folículos a secretar inibina. A partir de então, os dois maiores folículos crescem paralelamente (fase paralela) e ambos os folículos secretam inibina causando o contínuo declínio das concentrações de FSH, as quais são requeridas si próprios para crescimento. A fase de crescimento paralelo finaliza e inicia a fase de desvio folicular, quando o maior folículo atinge 22 a 23 mm de diâmetro (Donadeu et al., 2004).

A partir do início do declínio dos folículos subordinados, os folículos dominantes começam a crescer rapidamente (Pierson & Ginther, 1987). A taxa de crescimento do folículo dominante é de aproximadamente de 3 a 5 mm por dia em éguas e de 2,7 mm por dia em jumentas (Dadarwal et al., 2004).

O folículo pré-ovulatório apresenta um aumento no volume do antro e um espessamento da parede folicular, notado por imagens ultrasonográficas (Watson et al., 2003). Em equinos, o folículo dominante

alcança um diâmetro de aproximadamente 45 mm e a parede folicular apresenta 5 a 6 mm de espessura (McKinnon & Voss, 1993).

O diâmetro do folículo pré-ovulatório em jumentas, um dia antes da ovulação, variou de 30 a 46 mm no dia anterior à ovulação (Nishikawa, 1959; Vandeplassche et al., 1981; Meira, 1995; Purdy, 2002; Dadarwal et al., 2004; Conceição, 2005; Lemma et al., 2006; Carluccio et al., 2007, 2008; Taberner et al. 2008; Coelho, 2010; Derar & Hussein, 2011; Kebede et al., 2012), sendo que a maioria das ovulações ocorreram quando os folículos foram maiores que 33 mm (Nishikawa, 1959; Purdy 2002; Dadarwal et al. 2004; Carluccio et al. 2008; Taberner et al. 2008; Kebede et al., 2012).

Algumas pesquisas demonstram a ocorrência de ovulações múltiplas em jumentas. Nishikawa (1959) detectou duplas e triplas ovulações em 22,7% e 9,1% das jumentas estudadas, respectivamente. Valores similares foram descritos por Henry et al. (1987) que observaram duplas (25,5%), triplas (10,5%) e quádruplas (1,1%). Índices de 5,3%, 25% e 20% de duplas ovulações foram descritos por Vandeplassche et al. (1981), Ginther et al. (1987) e Meira (1995). Blanchard et al. (1999), em estudo conduzido com jumentas da raça Mammoth, relataram a ocorrência de 30% de triplas e 50% de duplas ovulações utilizando dois protocolos de sincronização de estro.

Coelho (2010), fazendo o acompanhamento da dinâmica ovariana durante o estro em jumentas, relatou que o ovário com maior número de ovulações foi o direito, com 27 ovulações, resultando em 75% das ovulações (27/36), enquanto o ovário esquerdo apresentou 25% das ovulações (9/36), constatando diferença ($p < 0,01$) entre si. Henry *et al.* (1987) e Kebede et al. (2012) relataram que a maioria das ovulações ocorreram no ovário esquerdo (61% (77/126) e 55,6% (20/26), no direito, respectivamente). No entanto, Vandeplassche *et al.* (1981) e Derar & Hussein (2011) não encontraram diferença na frequência de ovulação entre ovário esquerdo e direito.

Em geral, próximo à ovulação, o folículo pré-ovulatório da égua sofre algumas modificações estruturais que podem ser observadas por meio do ultra-som, tais como: alteração da forma esférica para piriforme, cônica, achatada ou irregular; bordas ecogênicas na porção periférica do folículo e algumas vezes pontos ecogênicos no fluido folicular são observados. As alterações estruturais visualizadas pela ultra-sonografia, associadas à redução da tensão da parede folicular, podem ser utilizadas para prever que a ovulação está prestes a ocorrer na maioria das éguas (Mckinnon et al., 1987; Carnevale et al., 1988; Ginther, 1988). Lemma *et al.* (2006b) relataram que 80,5% dos folículos ovulatórios sofrem mudança de conformação passando de esférico para oval, irregular ou elipsóide antes da ovulação. Coelho (2010) em experimento conduzido com jumentas da raça Pêga também descreveu comportamento semelhante de mudança de formato do folículo pré-ovulatório.

A ovulação ocorre devido ao aumento gradativo de LH durante o estro. Após a ruptura do folículo há uma hemorragia intrafolicular levando a formação do corpo hemorrágico. As células da granulosa e da teca sofrem luteinização, formando assim o corpo lúteo, que sintetiza progesterona, caracterizando o início da fase luteal. A progesterona produzida pelo CL atinge concentração plasmática superior a 1 ng/ml, um a dois dias após a ovulação, o que influencia a cessação do comportamento de estro (Hafez & Hafez, 2000).

A concentração de progesterona aumenta rapidamente, atingindo o pico aproximadamente no dia cinco ou seis do ciclo estral, mantendo um platô até por volta do 14º a 15º dia pós-ovulação, quando ocorre a luteólise (Nagy et al., 2004). O corpo lúteo maduro produz de 8 a 10 ng/ml de progesterona até aproximadamente 14º e 15º dias após a ovulação, quando sofre luteólise. Após a lise do CL, a concentração plasmática de progesterona diminui rapidamente em um a dois dias para menos de 1 ng/ml e a égua retorna ao estro (Arruda et al., 2001).

O perfil de progesterona nas jumentas é similar ao da égua, com uma elevação da concentração de progesterona nos asininos ocorrendo

entre os dias um e quatro do diestro, atingindo um platô entre quatro e quatorze dias pós-ovulação (Henry et al., 1987; Meira et al., 1995).

Após a ovulação, dois tipos de CLs podem ser observados pela imagem ultra-sonográfica: um com ecogenicidade uniforme e outro com centro anecóico. Segundo Meira (1995) e Lemma et al. (2006b), a maioria dos CLs em jumentas apresentam imagem ultra-sonográfica ecogênica uniforme. Esses autores relataram a presença de 70,8% e 95% de CLs com imagem ecogênica uniforme e de 29,2% e 5% de CLs com centro anecóico, respectivamente. Segundo Nagy et al. (2004), a morfologia dos corpos lúteos em éguas, determinados pela imagem do ultra-som, não interfere na quantidade de progesterona produzida.

No primeiro dia pós-ovulação, o diâmetro médio do CL foi de 28,53 ± 4,94 mm, representando 77,7% do tamanho do folículo pré-ovulatório. O tamanho do CL diminuiu rapidamente, após o 14° dia, coincidindo com a diminuição dos níveis plasmáticos de progesterona (Meira, 1995). Nas éguas, o tamanho do corpo lúteo representa cerca de 50 a 75% do tamanho do folículo pré-ovulatório (Ginther, 1992).

2.2. Biotecnologias da reprodução:

A eficiência reprodutiva e a taxa de fertilidade de um rebanho dependem da condição reprodutiva da fêmea (idade, categoria reprodutiva, fertilidade intrínseca, doenças uterinas e outras patologias), do macho (coleta e processamento do sêmen, manejo da monta, fertilidade intrínseca) e do manejo ao qual os mesmos foram submetidos (Amann & Pickett, 1987; Graham, 1996).

A fertilidade intrínseca da fêmea representa uma fonte de variação dificilmente mensurável quando da avaliação da fertilidade *in vivo* (Carvalho, 2011). Nos equídeos, realizar testes de fertilidade com um número suficiente de fêmeas representa um alto custo econômico, além

de se tornarem quase impossíveis quando envolvem animais em risco de extinção, como algumas raças de asininos.

2.2.1. Inseminação Artificial (IA):

Atualmente a IA é largamente usada no Brasil por quase todas as raças de equídeos, com exceção do Puro Sangue Inglês, que somente permite a utilização da monta natural.

Recentemente a ABCJPêga, a maior e mais importante associação de criadores de asininos do Brasil, passou a permitir a utilização da IA em todas as suas modalidades (sêmen *in natura*, fresco, diluído, resfriado e congelado) para a produção de asininos (Canisso, 2008).

O uso da IA em um programa de acasalamentos permite várias vantagens em relação à monta natural. Dentre as quais se cita: o melhoramento genético de uma raça, pois possibilita a maximização do uso de garanhões geneticamente superiores, visto que, com um ejaculado podemos inseminar um número maior de éguas; diminui o risco de transmissão de doenças; remoção das restrições geográficas pela utilização de sêmen resfriado e congelado, evitando o transporte de animais; e permite estoque de sêmen para posteridade (Squires et al., 1999). Além disso, de acordo com Canisso (2008), quando se pretende utilizar jumentos em programa de IA, tem-se a vantagem da produção de muares para jumentos não condicionados à monta natural em éguas; e também permite que jumentos não condicionados à monta natural em jumentas, mas condicionado em éguas possa ter seu sêmen coletado e empregado na IA em jumentas.

Para coleta de sêmen em jumentos, os manequins mais utilizados são jumentas e éguas (Gastal,1991; Morais et al.,1994; Gerbers 1995; Canisso et al., 2009). Em recente estudo conduzido em uma fazenda de produção de asininos e muares em Lagoa Dourada-MG, Carvalho (2011) realizou coletas de sêmen em jumentos da raça Pêga utilizando um manequim artificial proposto por Valle (1997), adaptado para a altura dos

reprodutores. Segundo o autor, para auxiliar o processo de coleta e melhorar o condicionamento dos reprodutores ao manequim, uma jumenta era levada à área de coleta e colocada paralelamente ao manequim. No momento da monta o reprodutor era estimulado a saltar sobre o manequim.

Os diluidores comerciais mais utilizados para sêmen de equídeos no Brasil são derivados do diluidor de Kenney et al. (1975), que apresenta leite em pó desnatado em sua composição. Apesar da facilidade de aquisição desses diluidores no mercado e sua utilização prática pelos veterinários de campo com resultados satisfatórios poucos trabalhos na literatura descrevem a fertilidade do sêmen fresco diluído de jumento, sendo que alguns trabalhos descrevem a utilização de diluidor a base de gema de ovo (Tabela 1).

Tabela 1 – Fertilidade de éguas/jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco.

Referência	Diluidor	Dose inseminante (x10⁶)	Taxa de concepção (%)
Palhares et al. (1986)	Lactose – Gema de ovo	252,12	57 (8/14) – jumentas
Ferreira (1993)	Lactose – Gema de ovo	250	82,7 (23/29) – éguas
Leite (1994)	Leite em pó desnatado – Glicose	50	3,44 (1/29) – éguas
		100	20,68 (6/29) – éguas
		200	53,12 (17/32) – éguas
		400	70 (21/30) – éguas
		600	67,64 (23/34) – éguas
Vidament et al. (2005)	Leite UHT	400	86% (6/7) – jumentas
Rossi (2008)	Leite em pó desnatado – Glicose	400	63,64 (21/33) – éguas
	Glicina – Gema de ovo	400	54,55 (24/44) – éguas

Fonte: Adaptado de Carvalho (2011).

2.2.2. Transferência de Embriões (TE):

2.2.2.1. Seleção e manejo das doadoras e receptoras:

Para seleção da doadora deve ser considerado o seu histórico reprodutivo, a fertilidade, os genitores, as diretrizes do registro da raça, o valor potencial do potro resultante, e o número de gestações desejadas (Squires et al., 1999). O manejo consiste em monitorar o comportamento reprodutivo, emprego da palpação transretal e ultrassonografia para monitorar a atividade folicular e ovulação, e o uso de hormônios exógenos para sincronizar o estro e ovulação. Quando em estro, a doadora é examinada diariamente para monitorar o crescimento folicular, determinando o ótimo momento para inseminação com sêmen fresco, refrigerado ou congelado (Vanderwall & Woods, 2007).

A seleção e manejo das receptoras pode ser o fator mais importante que afeta o sucesso do programa de TE (Vanderwall e Woods, 2007; McKinnon e Squires, 2007), visto que, esta irá reconhecer o embrião e terá que fornecer as condições necessárias ao seu desenvolvimento (Fleury et al., 2007).

2.2.2.2. Coleta de embriões:

O embrião chega ao útero da égua entre o quinto e sexto dia após ovulação (Ginther, 1992). Embriões equinos têm sido comumente recuperados para fins de transferência do sétimo ao nono dia pós-ovulação. Coletas realizadas seis dias após ovulação geralmente fornecem resultados ligeiramente inferiores, mas são necessárias quando se deseja congelar os embriões devido à maior viabilidade após congelação e descongelação dos embriões de seis dias em comparação aos de sete ou mais dias (Squires et al., 1999). Dados relativos a um

programa comercial de TE em equinos no Brasil demonstraram não haver diferença significativa na recuperação embrionária aos sete (49,3%), oito (58%) e nove (54,5%) dias após ovulação (Fleury & Alvarenga, 1999).

Em jumentas não se tem estabelecido o momento ideal para coleta dos embriões, sendo os lavados procedidos dos seis a nove dias após ovulação (Allen et. al, 1985; Davies et al., 1985; Vendramini et al., 1997, Camillo et al.,2010; Coelho, 2010; Panzani et al., 2012).

Os procedimentos para recuperação de embrião permaneceram essencialmente inalterados durante as últimas duas décadas (Squires et al., 2003). A coleta dos embriões é realizada pelo procedimento não cirúrgico transvaginal, descrito primeiramente em equinos por Oguri e Tsutsumi (1972), que utilizaram um cateter de três vias. O lavado foi então realizado no corno ipsilateral à ovulação, inflando o balão do cateter na base desse corno. Atualmente, o balão é inflado, aproximadamente com 60 mL de ar, no corpo do útero, tracionando o cateter caudalmente para se ajustar no óstio cranial da cérvix, lavando-se os dois cornos simultaneamente (Fleury et al., 2001; Squires et al., 2003; Silva, 2003).

Alvarenga et al. (1992) compararam as soluções DPBS (solução que contém glicose, piruvato e 1% de soro fetal bovino) e Ringer Lactato para lavado uterino obtendo taxas de prenhes de 57% (8/14) e 64% (14/22), respectivamente. Camillo et al. (2010) também utilizaram DPBS e Ringer Lactato para lavado uterino em jumentas e não observaram diferenças quanto a recuperação embrionária e taxa de prenhes. Coelho (2010) e Panzani et al. (2012) preconizaram a utilização de Ringer Lactato para lavagens uterinas em jumentas. Atualmente, o Ringer Lactato é a solução de lavado uterino para éguas mais utilizada no Brasil.

O útero é infundido com um ou dois litros em cada lavado, realizando-se este procedimento em média 3 vezes. Então, três a seis litros são usados durante todo o processo de recuperação (Daels, 2007), o qual dependerá do tamanho do útero da égua doadora. Em jumentas, o útero é lavado com 0,5 a 2 litros de solução, dependendo da capacidade uterina, e o procedimento pode ser repetido até 6 vezes (Panzani et al.,

2012). O volume recuperado representa normalmente de 95% a 98% do volume infundido (Carvalho, 2000; Silva, 2003).

Squires et al. (1982) observaram uma distribuição equitativa dos embriões recuperados entre os diferentes lavados uterinos, sendo de 31,3%, 36,3% e 32,5% para o primeiro, segundo e terceiro lavado, respectivamente. Porém em outro estudo, Meira & Henry (1991) encontraram 53,5%, 23,3%, 16,3% e 7% do primeiro ao quarto lavado uterino, respectivamente. Fleury et al. (2001) recuperou 50% dos embriões no primeiro lavado e reporta que não houve diferença na taxa de prenhez após inovulações de embriões oriundos dos três lavados.

2.2.2.3. Avaliação do embrião:

Os embriões são classificados quanto à morfologia e ao estágio de desenvolvimento. A avaliação da qualidade embrionária leva em consideração a morfologia relacionando-a com sua viabilidade e é feita de acordo com um escore de qualidade atribuído de 1 a 5, sendo 1=excelente e 5 = degenerado ou morto. Os parâmetros morfológicos avaliados são se os blastômeros são compactos, extrusados ou danificados, coloração e forma do embrião, tamanho do espaço perivitelino, dano à zona pelúcida e estágio de desenvolvimento comparado com a idade do embrião (McKinnon e Squires, 1988) (Quadro 3). A qualidade do embrião apresenta o principal efeito sobre as taxas de prenhes.

As taxas de prenhes para embriões de graus 1 e 2 foram melhores (245/318, 77%) quando comparados com embriões de graus ≥ 3 (6/22, 27%) (Squires & Seidel, 1995).

Em jumentas, Camillo et al. (2010), Panzani et al. (2012) e Ker et al. (2013) reportaram que 95,23%, 96,67% e 90,5%, respectivamente, dos embriões recuperados foram classificados como excelentes ou bons (Graus 1 e 2), indicando um alto potencial obter altas taxas de prenhez.

Quadro 3 – Sistema de classificação utilizado para grau de qualidade de embriões equinos.

Grau 1	EXCELENTE: Embrião ideal, esférico, com tamanho das céls, cor e textura uniformes.
Grau 2	BOM: Pequenas imperfeições com poucos blastômeros extrusos, forma irregular ou separação do trofoblasto.
Grau 3	RAZOÁVEL: Com problemas não muito severos, com presença de blastômeros extrusos, céls degeneradas ou blastocele colapsada.
Grau 4	POBRE: Com problemas sérios como blastocele colapsada, vários blastômeros extrusos e céls degeneradas, mas com aparência viável da massa embrionária.
Grau 5	NÃO FERTILIZADO OU MORTO: oócito não fertilizado ou embrião totalmente degenerado.

Adaptado de McKinnon & Squires (1988).

Em coletas realizadas entre 6 e 9 dias após ovulação, geralmente são encontrados embriões nos seguintes estádios de desenvolvimento: mórula (Mo), blastocisto inicial (Bi), blastocisto (BI), blastocisto expandido (Bx) e ovócito não fertilizado (McCue, 2011) (Quadro 4).

Quadro 4 – Classificação de embriões equinos segundo o estágio de desenvolvimento.

Mórula (M)	Massa sólida de blastômeros; zona pelúcida espessa; blastômeros inicialmente grandes e passíveis de identificação individual, depois agregados compactos de blastômeros menores; borda externa dos blastômeros de aparência “serrilhada”; possibilidade de identificação do espaço perivitelínico entre os blastômeros e a zona pelúcida; rolamento à manipulação.
Blastocisto inicial (Bi)	Zona pelúcida espessa; início da formação da blastocele entre os blastômeros; mínimo espaço perivitelínico, tamanho semelhante ao da mórula.
Blastocisto (BI)	Blastocele circundada por uma camada de células trofoblásticas; massa celular interna distinta; cápsula evidente entre a camada de trofoblastos e a zona pelúcida; zona pelúcida fina.
Blastocisto expandido (Bx)	Blastocele grande circundada por uma camada fina de células trofoblásticas; células trofoblásticas pequenas e de aparência uniforme; massa celular interna distinta insinuada no interior da blastocele; zona pelúcida ainda presente ou já desaparecida; cápsula aderida ao embrião ou levemente destacada; diâmetro do embrião variável de acordo com a idade.
Ovócito não fertilizado (UFO)	Zona pelúcida espessa; formato oval; plano, não rola à manipulação; membrana celular e citoplasma podem se apresentar degenerados ou fragmentados.

Adaptado de McCue (2011).

3. EXPERIMENTOS

Esta tese de doutorado é o resultado de dois experimentos, desenvolvidos no Setor de Equideocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, situado a 20°45'20" latitude S, 42°52'40" W Gr longitude e altitude média de 752 m; e no Haras Tarumã da Fazenda Ferrugem, situado no município de Guaraciaba-MG, localizado a 20° 34' 15" de latitude S 43° 00' 27" W Gr de longitude e altitude média 578 m, no período de agosto de 2009 a outubro de 2012, com o objetivo de avaliar as características foliculares e fertilidade de jumentas da raça Pêga ao longo do ano e verificar e comparar a taxa de recuperação embrionária de embriões asininos coletados no dias 7, 8 e 9 após detecção da ovulação, suas características morfológicas e morfométrica e o estágio de desenvolvimento imediatamente após a coleta.

Experimento 1: Características reprodutivas e fertilidade de jumentas da raça Pêga ao longo do ano.

Experimento 2: Efeito da idade do embrião asinino sobre suas características morfológicas e morfométricas, estágio de desenvolvimento e taxa de recuperação.

3.1. EXPERIMENTO 1: Características reprodutivas e fertilidade de jumentas da raça Pêga ao longo do ano.

3.1.1. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1.1.1. Local e período experimental:

Este experimento foi conduzido no Setor de Equideocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, e no Haras Tarumã, criatório especializado na produção de asininos e muares da raça Pêga, situado no município de Guaraciaba-MG, ambos na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, no período de outubro de 2009 a outubro de 2012.

3.1.1.2. Animais e alimentação:

Foram utilizadas 44 jumentas da Raça Pêga (37 pertencentes ao Haras Tarumã e 7 ao Setor de Equideocultura) com idade variando de 2,5 a 18 anos e bom escore de condição corporal. Em ambas propriedades, as jumentas foram mantidas sob sistema de criação semi-intensiva, em piquetes, recebendo suplementação de capim Elefante (*Pennisetum purpureum spp*) picado e concentrado (12% de proteína bruta e 2800 kcal/kg de energia digestível) durante todo o ano. Os animais tinham acesso à água de boa qualidade e sal mineral *ad libidum*.

As jumentas foram avaliadas um mês antes do início do experimento, mediante exame ginecológico completo por palpação retal e avaliações ultrassonográficas e histórico reprodutivo.

Dois jumentos da raça Pêga de seis e sete anos de idade, pertencentes ao Haras Tarumã e ao Setor de Equideocultura, respectivamente, férteis conforme exame andrológico e histórico reprodutivo, foram utilizados como doadores de sêmen. Foram mantidos em baia com 15 m² e soltos em piquete por duas horas diárias. A dieta era constituída de volumoso a base de capim Elefante (*Pennisetum purpureum spp*) picado e 2 kg de concentrado (12% de proteína bruta e 2800 kcal/kg de energia digestível). Sal mineral e água estavam disponíveis à vontade para os animais.

3.1.1.3. Delineamento Experimental:

Rufiação e controle folicular:

As jumentas foram rufiadas e avaliadas por palpação retal e exame ultrassonográfico a cada dois dias a partir do início do experimento. A rufiação foi feita no curral de manejo, com o macho em contato direto com as fêmeas soltas, porém separados por uma cerca para evitar acidentes. Aquelas que apresentavam comportamento de estro (cio) e/ou com a presença de folículo maior que 25 mm de diâmetro foram controladas diariamente até a detecção da ovulação. Quando da utilização de jumentas no “cio do potro” o controle folicular e rufiação começava no 6º dia pós-parto. As avaliações ovarianas e uterinas foram feitas por palpação transretal com auxílio de aparelho de ultrasonografia utilizando transdutor linear trans-retal de 5 MHz. Os dados de características foliculares foram obtidos através da mensuração do diâmetro do folículo, em milímetros, no início da manifestação dos sinais de estro e na última detecção do folículo pré-ovulatório antes da ovulação (um dia antes da ovulação). As alterações foliculares foram detectadas por imagens ultrassonográficas (alteração do formato e espessamento da parede folicular) e por palpação transretal (flutuação). A duração do estro foi obtida pela quantidade de dias que a jumenta apresentou os sinais de

estros característicos da espécie. A taxa de crescimento folicular durante o estro foi determinada pela diferença entre os diâmetros do folículo ao início do estro e antes da ovulação dividida pela duração do cio.

Foram acompanhados 90 ciclos estrais no Haras Tarumã no período de outubro de 2009 a dezembro de 2011 e 189 ciclos no Setor de Equideocultura no período de agosto de 2010 a outubro de 2012. O experimento foi dividido em dois períodos: P1: correspondente aos meses de maior luminosidade, ou seja, primavera e verão (outubro a março); P2: correspondente aos meses de menor luminosidade, ou seja, outono e inverno (abril a setembro).

Dos 90 ciclos acompanhados no Haras Tarumã 39 (43,3%) corresponderam a jumentas no pós-parto (“cio do potro”). No Setor de Equideocultura o acompanhamento da dinâmica folicular foi feito com base em um programa experimental de transferência de embriões (Experimento 2).

Inseminação artificial (ou monta natural) e diagnóstico de gestação:

Após a detecção de um folículo maior ou igual a 35 mm de diâmetro as jumentas foram artificialmente inseminadas ou cobertas a cada 48 horas até a detecção da ovulação. A decisão entre cobertura ou IA foi tomada em relação ao número de animais a serem cobertos no dia ou de acordo com a demanda de sêmen no Haras Tarumã, sendo que a opção por monta natural foi feita quando somente uma jumenta estava no estro. As coletas de sêmen foram realizadas, empregando-se o método de vagina artificial (modelo Botucatu), devidamente preparada e com temperatura interna entre 44 e 45 °C. Jumentas ou éguas em estro natural ou induzido foram utilizadas como manequim.

Para a inseminação, As jumentas foram conduzidas ao tronco de contenção tiveram a cauda suspensa, retirada das fezes da ampola retal e limpeza da região do períneo com água e sabão neutro; em seguida, a região foi secada com papel toalha. A dose inseminante mínima utilizada

foi de 500 milhões de espermatozoides viáveis, sendo o sêmen diluído na proporção 1:1 em diluente comercial (Botusêmen® - Botupharma Biotecnologia Animal) previamente aquecido em banho-maria a 37 °C. Para a monta natural, foi realizado o mesmo procedimento de higienização do períneo da jumenta e conduzida para um tronco de contenção específico para as coberturas.

Para facilitar o manejo e concentrar as inseminações, as jumentas tiveram o estro sincronizado com utilização de análogo da Prostaglandina F2alfa (dinoprost trometamina - Lutalyse®) por via intramuscular.

O diagnóstico de gestação foi realizado aos 13, 25 e aos 35 dias após a ovulação por meio de aparelho de ultrassom utilizando transdutor linear trans-retal de 5 MHz. Aos 13 dias após ovulação foi feita a medição do diâmetro médio das vesículas embrionárias.

Todos os dados de rufiação, diâmetro folicular, ovulação, características uterinas e diagnóstico de gestação foram anotados em fichas de controle individuais.

3.1.1.4. Análises estatísticas:

Os dados de diâmetro folicular no início do estro e na ovulação, duração do estro, intervalo do início do estro à ovulação, intervalo da ovulação ao fim do estro, e taxa de crescimento folicular foram comparados entre os períodos do ano (Outubro a Março e Abril a Setembro), presença ou ausência de alterações foliculares, e ovários (direito e esquerdo), bem como as interações entre esses efeitos, utilizando Análise de Variância, e as médias comparadas pelo teste F (PROC GLM; SAS, 2002). As percentagens de alterações foliculares entre as estações e ovários, e as taxas de gestação foram organizadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de Qui-quadrado. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0.05$.

3.1.2. RESULTADOS:

3.1.2.1. Comportamento sexual durante o estro:

Todas as fêmeas acompanhadas durante o período experimental apresentaram os sinais de estro característicos descritos para a espécie como: aproximação e aceitação do macho; movimentos de mastigação; justaposição do pavilhão auditivo junto ao pescoço; abertura dos membros posteriores e elevação da cauda; micção; eversão dos lábios vulvares e exposição do clitóris; comportamento homossexual e vocalização.

3.1.2.2. Duração do estro e características foliculares:

Durante os períodos do ano:

Os valores médios de diâmetro folicular no início do estro, diâmetro folicular um dia antes da ovulação, duração do estro, intervalo início do estro à ovulação, intervalo da ovulação ao fim do estro, taxa de crescimento folicular durante todo o período experimental estão expostos na Tabela 2. Foi feita a comparação das médias entre as propriedades (Setor de Equideocultura e Haras Tarumã) e entre os anos do experimento e não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre as variáveis analisadas. Também não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os Períodos 1 (outubro a março) e 2 (abril a setembro). Dentre os 279 ciclos avaliados, 133 (47,67%) foram referentes ao Período 1 e 146 (52,33%) referentes ao Período 2.

Tabela 2 – Valores médios de diâmetro folicular no início do estro (DFIE), diâmetro folicular um dia antes da ovulação (DFOV), duração do estro (DURAES), intervalo início do estro à ovulação (IIEOV), intervalo da ovulação ao fim do estro (IOVFE), taxa de crescimento folicular (TXCRESC) durante os períodos do ano (médias \pm EPM) em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo.

Período	DFIE (mm)	DFOV (mm)	DURAES (dias)	IIEOV (dias)	IOVFE (dias)	TXCRESC (mm/dia)
P 1 (n=133)	29,64 \pm 0,28	44,86 \pm 0,33	7,46 \pm 0,08	5,99 \pm 0,08	1,47 \pm 0,04	2,56 \pm 0,06
P 2 (n=146)	29,94 \pm 0,24	44,39 \pm 0,34	7,42 \pm 0,07	5,99 \pm 0,07	1,44 \pm 0,04	2,44 \pm 0,06
Geral	29,80 \pm 0,18	44,61 \pm 0,24	7,44 \pm 0,05	5,99 \pm 0,06	1,45 \pm 0,03	2,50 \pm 0,04

(P>0,05), pelo teste F.

A porcentagem de ovulações simples e múltiplas (duplas e triplas) estão apresentadas na Tabela 3. Não foi observada diferença entre a porcentagem de ovulações múltiplas entre os períodos observados (P>0,05). Todavia, a taxa de ovulações simples foi maior que as taxas de duplas e triplas ovulações (P<0,05).

Tabela 3 – Porcentagem de ovulações simples, duplas e triplas entre os diferentes períodos do ano em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo.

Períodos	Número de ovulações			Total
	1 ovulação	2 ovulações	3 ovulações	
Período 1	110 (82,71%) ^A	21 (15,79%) ^A	2 (1,50%) ^A	133
Período 2	119 (81,51%) ^A	25 (17,12%) ^A	2 (1,37%) ^A	146
Geral	229 (82,08%) ^a	46 (16,49%) ^b	4 (1,43%) ^c	279

Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobrescritas, na mesma linha diferem (P<0,05) pelo teste do Qui-quadrado. Valores seguidos por letras maiúsculas (A) sobrescritas, na mesma coluna não diferem (P>0,05) pelo teste do Qui-quadrado.

A frequência de ovulações entre os ovários direito e esquerdo nos diferentes períodos estudados estão representados na Figura 3. Não foi observada diferença (P>0,05) entre a frequência de ovulações entre os ovários direito e esquerdo nos diferentes períodos.

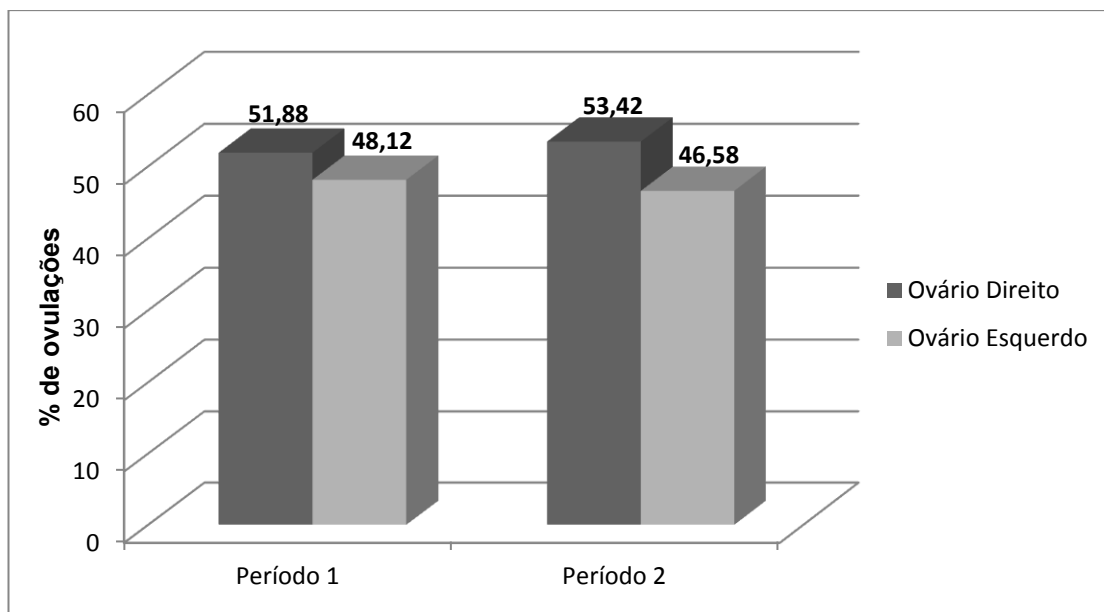


Figura 3 - Frequência de ovulações (%) entre os ovários direito e esquerdo nos diferentes períodos do ano em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo. ($P > 0,05$) pelo teste do Qui-quadrado.

A porcentagem de ovulações que tiveram alterações foliculares no folículo pré-ovulatório (alteração do formato, espessamento da parede folicular e flutuação), nos diferentes períodos e ovários direito e esquerdo, estão representados na Figura 4. As porcentagens de ovulações com alterações foliculares não diferiram ($P > 0,05$) entre os períodos avaliados nem entre os ovários direito e esquerdo.

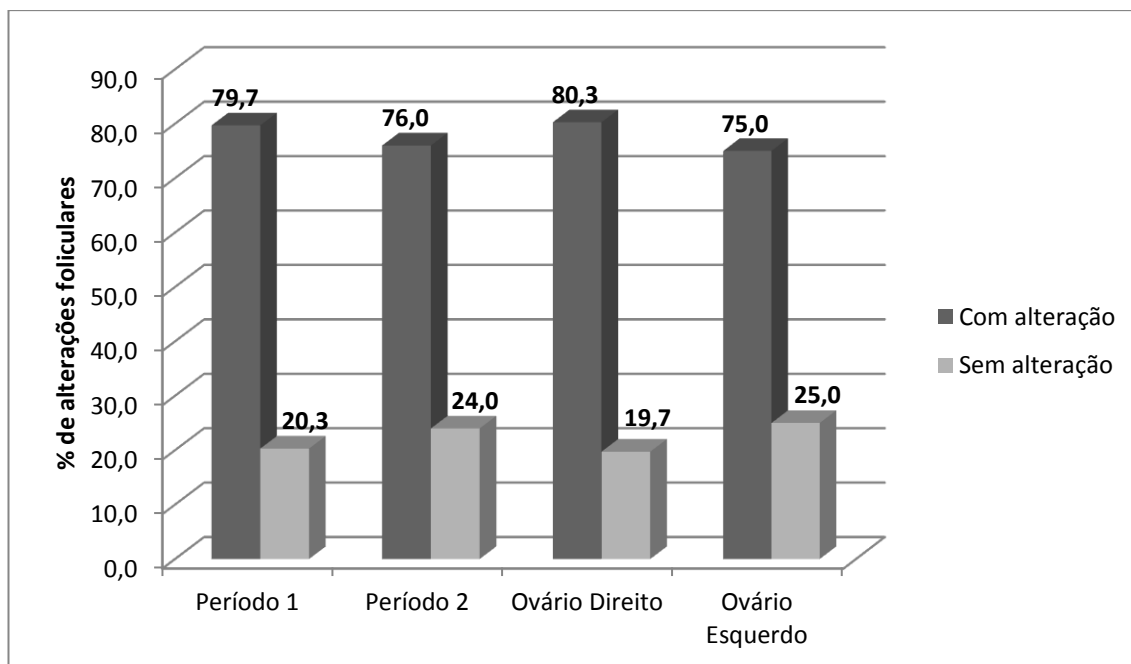


Figura 4 – Porcentagem de ovulações com alterações foliculares no folículo pré-ovulatório nos diferentes períodos do ano nos ovários direito e esquerdo de jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo. ($P>0,05$) pelo teste do Qui-quadrado.

Houve diferença ($P<0,05$) entre as características foliculares e de duração do estro dos ciclos que apresentaram ou não alterações do folículo pré-ovulatório (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios de diâmetro folicular no início do estro (DFIE), diâmetro folicular um dia antes da ovulação (DFOV), duração do estro (DURAES), intervalo início do estro à ovulação (IIEOV), intervalo da ovulação ao fim do estro (IOVFE), taxa de crescimento folicular (TXCRESC) entre os folículos que apresentaram alterações foliculares (ALTFOL) e não apresentaram (SEMALT) (médias \pm EPM) em jumentas da raça Pêga, criadas em manejo semi-intensivo.

Alterações	DFIC (mm)	DFOV (mm)	DURACIO (dias)	IICOV (dias)	IOVFC (dias)	TXCRES (mm/dia)
ALTFOL	30,22 \pm 0,20 ^a	45,84 \pm 0,23 ^a	7,50 \pm 0,06 ^a	6,05 \pm 0,06 ^a	1,45 \pm 0,04 ^a	2,61 \pm 0,04 ^a
SEMALT	28,31 \pm 0,35 ^b	40,32 \pm 0,33 ^b	7,24 \pm 0,10 ^b	5,79 \pm 0,11 ^b	1,45 \pm 0,07 ^a	2,11 \pm 0,08 ^b

Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobrescritas, na mesma coluna diferem ($P<0,05$) pelo teste F.

Jumentas no cio do potro e solteiras:

Os valores médios das características de dinâmica folicular e duração do estro para jumentas solteiras e no cio do potro estão sumarizados na Tabela 5. O diâmetro folicular no início do estro, diâmetro folicular na ovulação e taxa de crescimento folicular das jumentas no cio do potro foram superiores às das jumentas solteiras ($P < 0,05$), entretanto, não foram evidenciadas diferenças entre os parâmetros de duração do estro ($P > 0,05$).

Tabela 5 – Dados comparativos entre jumentas da raça Pêga no cio do potro e solteiras (média±EPM), criadas em manejo semi-intensivo.

Características avaliadas	Jumentas no cio do potro	Jumentas solteiras
Número de ciclos	39 (14,0%)	240 (86,0%)
DFIE (mm)	32,36±0,39 ^a	29,38±0,19 ^b
DFOV (mm)	48,21±0,59 ^a	44,03±0,24 ^b
DURAES (dias)	7,28±0,16 ^a	7,47±0,06 ^a
IIEOV (dias)	5,82±0,14 ^a	6,02±0,06 ^a
IOVFE (dias)	1,46±0,09 ^a	1,45±0,03 ^a
TXCRES	2,77±0,10 ^a	2,45±0,04 ^b

Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobrescritas, na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste F. Diâmetro folicular no início do estro (DFIE), diâmetro folicular um dia antes da ovulação (DFOV), duração do estro (DURAES), intervalo início do estro à ovulação (IIEOV), intervalo da ovulação ao fim do estro (IOVFE), taxa de crescimento folicular (TXCRESC).

Os dados referentes a frequência de ovulação entre ovário direito e esquerdo e porcentagem de alterações foliculares do folículo pré-ovulatório estão representados na Figura 5 e 6. Foi observada diferença entre a frequência de ovulações entre os ovários direito e esquerdo nas jumentas em cio do potro ($P < 0,05$), porém não nas jumentas solteiras ($P > 0,05$). Com relação a porcentagem de alterações foliculares, houve diferença ($P < 0,05$) entre os dois grupos.

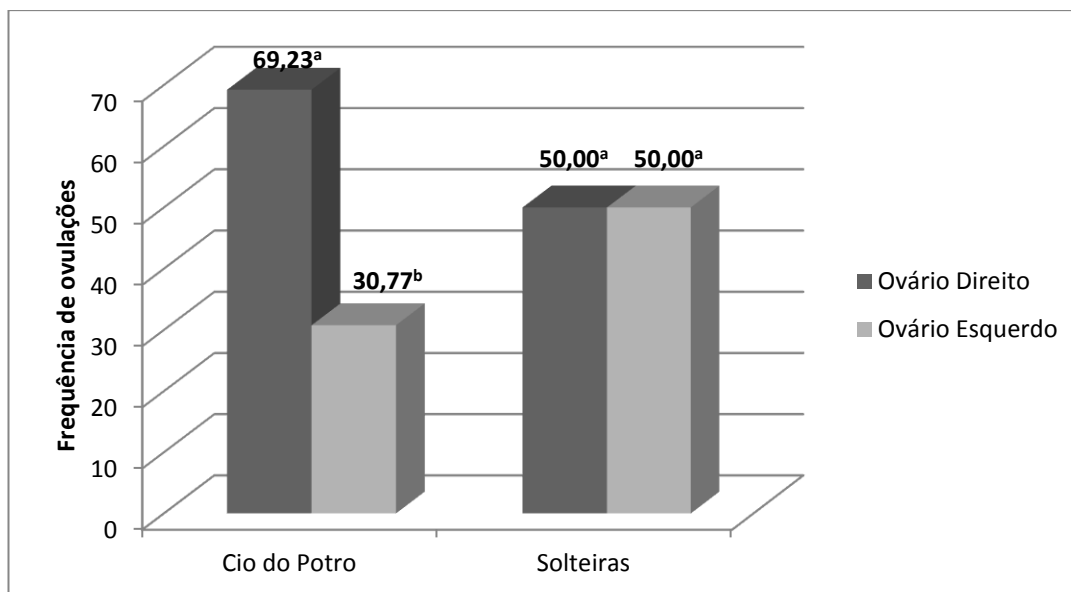


Figura 5 – Frequência de ovulações entre os ovários para jumentas da raça Pêga em cio do potro e solteiras, criadas em manejo semi-intensivo. Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobscritas, na mesma classe diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

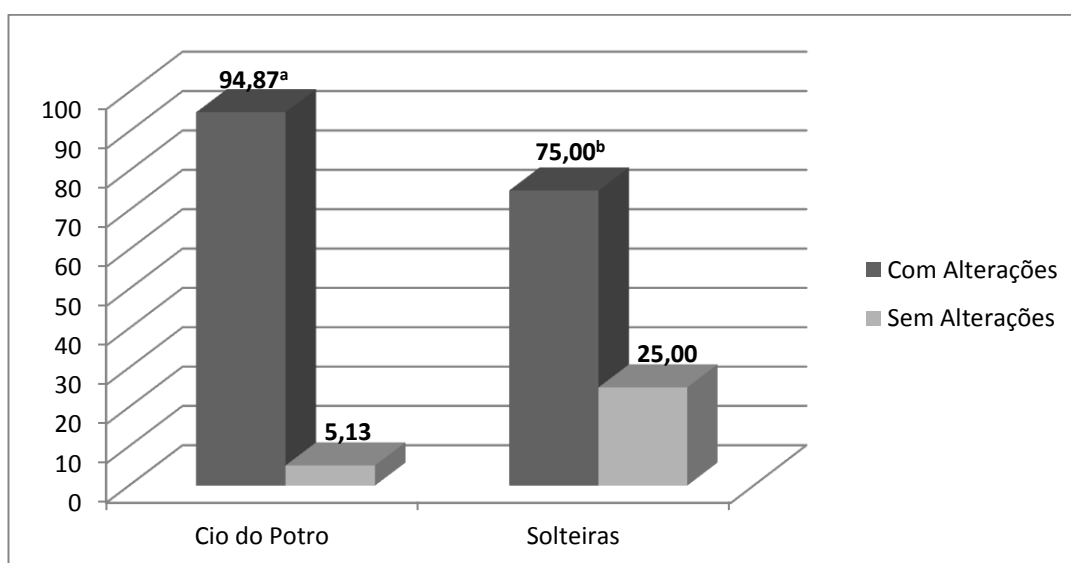


Figura 6 – Porcentagem de alterações do folículo pré-ovulatório para jumentas da raça Pêga em cio do potro e solteiras, criadas em manejo semi-intensivo. Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobscritas, para mesma característica diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

3.1.2.3. Fertilidade:

A taxa de gestação aos 13 dias após ovulação e diâmetro da vesícula embrionária entre os períodos 1 e 2 não apresentaram diferenças ($P>0,05$) entre os períodos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6 - Taxa de gestação (prenhez/ciclo) e diâmetro da vesícula embrionária aos 13 dias de gestação de jumentas da raça Pêga inseminadas e/ou cobertas durante os períodos do ano (Período 1: outubro a março; Período 2: abril a setembro).

Períodos	Taxa de Gestação por ciclo	Diâmetro da vesícula embrionária aos 13 dias
		(mm)
Período 1	60,47% (26/43)	15,5 ± 0,3
Período 2	59,57% (28/47)	15,4 ± 0,3
Geral	60,00%	15,5 ± 0,2

($P>0,05$), pelo teste do Qui-quadrado.

As taxas de gestação aos 13, 25 e 35 dias após ovulação estão apresentadas na Tabela 7. Não foram observadas perdas embrionárias entre 13 e 25 dias. As taxas de perdas gestacionais, aos 35 dias, foram similares ($P>0,05$) entre os períodos avaliados, sendo de 4,66% e 6,38% para os períodos 1 e 2, respectivamente.

Tabela 7 – Taxa de prenhez aos 13, 25 e 35 dias após ovulação de jumentas da raça Pêga inseminadas e/ou cobertas durante os períodos do ano (Período 1: outubro a março; Período 2: abril a setembro).

Períodos	Número de gestações		
	13 dias	25 dias	35 dias
Período 1	60,47% (26/43)	60,47% (26/43)	55,81% (24/43)
Período 2	59,57% (28/47)	59,57% (28/47)	53,19% (25/47)

($P>0,05$) pelo teste do Qui-quadrado.

3.1.3. DISCUSSÃO:

Tradicionalmente, o manejo reprodutivo de asininos é considerado um desafio (Gerbers, 1995; Canisso et al., 2009). Sendo assim, o conhecimento sobre as características comportamentais da espécie asinina é de suma importância para o um manejo reprodutivo eficiente (Canisso et al., 2009), melhorando os índices de fertilidade em programas de inseminação artificial (com sêmen fresco, resfriado e congelado) e transferência de embrião.

Neste estudo, as características exibidas pelas jumentas Pêga no período de estro (aproximação e aceitação do macho; movimentos de mastigação; justaposição do pavilhão auditivo junto ao pescoço; abertura dos membros posteriores e elevação da cauda; micção; eversão dos lábios vulvares e exposição do clitóris; comportamento homossexual e vocalização) foram similares às descritas para a espécie (Clayton et al., 1981; Vandeplassche et al., 1981; Henry et al. 1987, 1991, 1998; McDonnell, 1998; Canisso et al., 2009; Kebede et al., 2012). Outra característica observada foi a de comportamento sexual passivo como descrito por Canisso et al. (2009), observada no início do estro. Nessa fase as fêmeas apresentaram alguns sinais de receptividade, porém de maneira menos intensa (Henry et al., 1987, 1991; McDonnell, 1998). Porém, os sinais de estro foram mais intensos quando as jumentas estavam em fase mais adiantada do estro ou na proximidade do momento da ovulação (Henry et al., 1998, Taberner et al., 2008).

Uma particularidade observada durante a condução do experimento foi que as jumentas no “cio do potro” apresentaram sinais de estro mais discretos quando comparadas às fêmeas que não estavam com potro ao pé.

Em jumentas, não se tem estabelecido um padrão de sazonalidade como para éguas, e os estudos citados na literatura consultada divergem quanto aos resultados. Ginther et al. (1987) observaram que a incidência e duração do anestro sazonal são menos marcantes para jumentas que o

reportado em éguas. Lemma et al. (2006a), relataram que jumentas apresentam sinais de estro durante todo o ano, porém durante a estação de maior oferta de forragem (porém com menor incidência de luz) o período de estro foi mais longo, indicando que em jumentas a disponibilidade de alimentos tem uma forte implicação sobre o ciclo estral como o fotoperíodo em éguas.

Os resultados deste estudo não indicaram diferenças em relação à dinâmica folicular, duração do estro e comportamento sexual entre os períodos avaliados (outubro a março e abril a setembro), mostrando que na região da Zona da Mata Mineira, em jumentas da raça Pêga, o fotoperíodo não exerce influência sobre a reprodução, ao contrário das éguas nessa mesma região (Carvalho, 2000; Canisso, 2008). Blanchard et al. (1999) descreveram comportamento similar de jumentas da raça Mammoth, no estado do Texas, Estados Unidos, onde não foi observada diferença entre duração do ciclo estral e do estro entre as quatro estações do ano.

Nos duzentos e setenta e nove ciclos estrais estudados, a duração média do estro foi $7,44 \pm 0,05$ dias, valores esses superiores aos $5,9 \pm 2,1$, $5,9 \pm 1,37$ dias e $5,64 \pm 0,20$ dias descritos por Blanchard et al. (1999), Conceição et al. (2009) e Taberner et al. (2008), em jumentas da raça Mammoth, Brasileira e Catalã, respectivamente. Porém esses valores foram inferiores aos $7,9 \pm 2,9$ dias reportados por Kebede et al. (2012) e aos $7,9 \pm 2,5$ dias descritos por Henry et al. (1987), em jumentas sem raça definida e Pêga, respectivamente.

Não foram verificados na literatura consultada estudos relatando a duração dos intervalos início do estro à ovulação e ovulação ao final do estro, sendo assim se faz necessário uma comparação com a espécie equina. Palhares et al. (1989) relataram que a duração do intervalo do início do estro à ovulação foi de 5,27 dias em éguas Mangalarga Marchador, valores esses um pouco inferiores aos $5,99 \pm 0,06$ dias verificados no presente estudo. Segundo Lindeberg et al. (1992) e Romano et al. (1998), a maioria das ovulações ocorre 24 a 48 horas (1 a 2 dias) antes do final do estro em éguas, fato também observado nos

ciclos estrais avaliados onde o intervalo médio da ovulação ao final do estro foi de $1,45 \pm 0,03$ dias.

O valor de diâmetro médio do folículo pré-ovulatório ($44,61 \pm 0,24$ mm) é similar aos descritos para a espécie equina (Ginther, 1988, Lindeberg et al., 1992; e Ginther et al., 1993) e aos relatados por Carluccio et al. (2007), para a raça Martina Franca, e Taberner et al. (2008) para a raça Catalã. Entretanto, em outras raças de jumentas os valores médios observados foram inferiores, em torno de 36-41mm (Vandeplassche et al., 1981; Meira et al., 1995; Dardawal et al., 2004; Conceição et al., 2009; Lemma et al., 2006b; Kebede et al., 2012). Segundo Taberner et al. (2008) o diâmetro do folículo pré-ovulatório em jumentas da raça Catalã é maior devido a essa raça apresentar maior porte. De acordo com Costa (2007), animais da raça Catalã foram utilizados no cruzamento com o jumento Egípcio para formação a raça Pêga. Isso sugere que o diâmetro do folículo pré-ovulatório é afetado pela raça.

A taxa de crescimento do folículo dominante no período do estro (Tabela 2) está condizente às descritas para as demais raças de jumentas por Conceição (2005), Lemma et al. (2006b), Taberner et al. (2008) e Kebede et al. (2012) que relataram valores de 1,9 a 3,7mm/dia.

A incidência de múltiplas ovulações tem sido reportada com freqüência para a espécie asinina e os valores variam de 5 a 50% (Nishikawa, 1959; Vandeplassche et al., 1981; Ginther et al., 1987, Henry et al., 1987; Meira, 1995;. Blanchard et al., 1999; Conceição, 2005; Taberner et al., 2008). Os valores observados no presente estudo de duplas (16,49%) e triplas ovulações (1,43%) estão dentro do padrão observado para esta espécie. Essa alta taxa de ovulações múltiplas pode ser considerada uma vantagem em programas de transferência de embriões, visto que aumenta a chance de recuperação embrionária se comparada à ovulações simples.

Não foram observadas diferenças na freqüência de ovulações entre os ovários direito e esquerdo, assim como observado por Taberner et al.

(2008) na raça Catalã. Todavia, Henry et al. (1987) e Kebede et al. (2012), trabalhando com jumentas Pêga e sem raça definida, relataram maiores frequências de ovulações no ovário esquerdo (61% e 55,6%, respectivamente). Coelho (2010), em estudo conduzido com jumentas da raça Pêga, relatou 75% das ovulações ocorrendo no ovário direito.

Como observado no presente estudo, muitos autores tem descrito que aproximadamente 80% dos folículos pré-ovulatórios sofrem alterações antes da ovulação, tanto em éguas (Ginther, 1992) quanto em jumentas (Lemma et al., 2006b, Taberner et al., 2008 e Coelho, 2010). Não foi observada diferença ($P>0,05$) de porcentagem de alterações foliculares entre os períodos estudados e entre os ovários (Figura 4). Por outro lado, quando se comparou os ciclos onde ocorreram ou não alterações foliculares, foi detectada diferença ($P<0,05$) das características foliculares e duração do estro, mostrando que a alteração do formato do folículo pré-ovulatório não deve ser utilizada como única alternativa para predição da ovulação na jumenta.

Não foi verificado na literatura consultada nenhum estudo relacionado às características de desenvolvimento folicular e comportamentais de jumentas no “cio do potro”. Considerando essa limitação foi estabelecido um paralelo entre a espécie asinina e equina.

Carvalho et al. (2001) não observaram diferenças ($P>0,05$) do intervalo do início do estro à ovulação e diâmetro do folículo um dia antes da ovulação entre éguas solteiras e no “cio do potro”. O mesmo não foi observado neste estudo, onde foram observados maiores valores para diâmetro do folículo ao início do estro, diâmetro do folículo à ovulação e taxa de crescimento folicular entre jumentas no “cio do potro” quando comparados às solteiras ($P<0,05$) (Tabela 5).

A taxa de prenhez não diferiu ($P>0,05$) entre os períodos avaliados, sendo de 60,47% e 59,57%, para os períodos 1 e 2, respectivamente. Esses valores diferem dos obtidos por Teixeira et al. (1985) que relataram uma menor incidência de coberturas férteis no período de abril a setembro quando comparado ao período de outubro a março.

Provavelmente essa diferença encontrada foi devido às condições de manejo dos dois trabalhos. No estudo conduzido por Teixeira et al. (1985) as jumentas eram mantidas à pasto somente com suplementação mineral, sendo assim durante os meses de estiagem (abril a setembro), os animais tiveram menor oferta de forragem e conseqüentemente um déficit nutricional, que provavelmente explicam essa menor taxa de prenhez.

Quando comparados a outros estudos verificados na literatura que relataram a fertilidade de jumentas com sêmen fresco de jumento ou monta natural, a taxa de prenhez média obtida neste estudo foi superior às relatadas por Silva Filho et al. (1986) e Palhares et al. (1986), que também trabalharam com jumentas da raça Pêga, e reportaram valores de 53,9% e 57%, respectivamente. Vidament et al. (2005) obtiveram taxas de prenhez da ordem de 86%, valores esses superiores aos aqui apresentados, todavia, esses autores utilizaram a inseminação artificial com sêmen fresco e diluído com leite UHT e para o teste de fertilidade foram utilizadas somente 7 jumentas, provavelmente se os autores tivessem realizado um maior número de repetições a taxa de prenhez poderia ser próxima às obtidas no presente estudo.

Segundo Meira et al. (1998), o diagnóstico precoce da gestação em jumentas pode ser feito dos 10 a 13 dias após a ovulação, porém, a detecção da gestação só foi de 100% aos 13 dias, fato esse confirmado em éguas por Pugliesi (2009). Por esse motivo, foi feita a opção por diagnóstico precoce de gestação aos 13 dias no presente experimento. Os valores de diâmetro da vesícula embrionária aos 13 dias de gestação obtidos no presente estudo (Tabela 6) são muito próximos aos reportados para jumentas (Bessent & Ginther, 1987; Gastal et al., 1993; Meira et al., 1998) e para éguas prenhas de garanhões e jumentos (Ker et al., 2012), o que nos leva a sugerir que o desenvolvimento inicial da gestação é similar entre as espécies asinina e equina.

Não foram detectadas altas taxas de perda embrionária precoce (0% dos 13 aos 25 dias e 5,6% dos 25 a 35 dias de gestação), valores esses inferiores aos 25% (3/12) descritos por Meira et al. (1998). Os valores aqui relatados não diferiram dos relatados para espécie equina.

Vanderwall (2008) verificou uma taxa de perda embrionária de 2,6 a 24% até os 60 dias sendo que a maioria das perdas são detectadas até os 20 primeiros dias de gestação. A divergência entre os resultados aqui apresentados e os relatados por Meira et al. (1995) devem estar relacionadas à heterogeneidade dos animais avaliados no que diz respeito à saúde do trato reprodutivo e idade dos animais. Além disso, o referido autor avaliou apenas 12 gestações, valor esse muito inferior às 90 gestações avaliadas no presente estudo.

Segundo Ginther (1992) variações raciais são evidentes na espécie equina em vários aspectos do ciclo estral como duração dos períodos de estro, tamanho do folículo pré-ovulatório e incidência de ovulações múltiplas. Os resultados aqui apresentados e dos demais estudos verificados na literatura apontam uma tendência dessa variação também ocorrer na espécie asinina.

O número de estudos relacionados à fisiologia reprodutiva abordando as características do ciclo estral e fertilidade em jumentas é escasso. Além disso, deve-se ressaltar que os demais trabalhos disponibilizados na literatura utilizaram um número reduzido de animais e realizaram poucas repetições se comparado ao presente estudo. Dessa forma, pode-se conferir maior confiabilidade aos resultados aqui apresentados em comparação às pesquisas relacionadas ao assunto disponíveis na literatura científica.

3.1.4. CONCLUSÕES:

Jumentas da raça Pêga, estando na latitude 20° S, não sofrem influência do fotoperíodo sobre as características foliculares, comportamento sexual e fertilidade.

Diferente do que é observado na espécie equina, nesta latitude, jumentas podem ser inseminadas e/ou cobertas durante todo o ano, sem prejuízo para a fertilidade.

3.2. EXPERIMENTO 2: Efeito da idade do embrião asinino sobre suas características morfométricas, estágio de desenvolvimento e taxa de recuperação.

3.2.1. MATERIAL E MÉTODOS:

3.2.1.1. Local e período experimental:

Este experimento foi conduzido no Setor de Equideocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, situado a 20°45'20" latitude S, 42°52'40" W Gr longitude e altitude média de 752 m, no período de agosto de 2010 a outubro de 2012.

3.2.1.2. Animais e alimentação:

Seis jumentas da Raça Pêga com idade variando de seis a 14 anos e histórico reprodutivo conhecido foram utilizadas como doadoras de embriões. As jumentas foram mantidas em piquetes recebendo suplementação de capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e concentrado (12% de proteína bruta e 2800 kcal/kg de energia digestível) durante todo o ano. Os animais tinham acesso à água de boa qualidade e sal mineral *ad libidum*.

Um jumento da raça Pêga de 7 anos de idade, fértil conforme exame andrológico e histórico reprodutivo foi utilizado como doador de sêmen, sendo mantido em baia com 15 m² e solto em piquete por 2 horas diárias. A dieta foi constituída de volumoso a base de capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e concentrado (12% de proteína bruta e

2800 kcal/kg de energia digestível). Sal mineral e água estavam disponíveis à vontade para os animais.

3.2.1.3. Delineamento experimental:

Rufiação, controle folicular e inseminação artificial (ou monta natural):

As jumentas foram rufiadas e avaliadas por palpação retal e ultrassonografia a cada dois dias. A rufiação foi feita no curral de manejo, com o macho em contato direto com as fêmeas, porém separados por uma cerca para evitar acidentes. As que estavam em estro ou com a presença de folículo maior que 25 mm de diâmetro e com condições uterinas desejáveis foram monitoradas diariamente. As avaliações ovarianas e uterinas foram feitas com auxílio de aparelho de ultrassom utilizando transdutor linear trans-retal de 5 MHz. Após a detecção de um folículo maior ou igual a 35 mm de diâmetro as jumentas foram artificialmente inseminadas ou cobertas a cada 48 horas até a detecção da ovulação. A decisão entre cobertura ou IA era tomada em relação ao número de animais a serem cobertos no dia ou de acordo com a demanda de sêmen para utilização em éguas no Setor de Equideocultura e também para comercialização, porém, a maioria das vezes foi feito o procedimento de coleta de sêmen e IA.

As jumentas a serem inseminadas, foram conduzidas ao tronco de contenção e seu preparo consistia em suspensão da cauda, retirada das fezes da ampola retal e limpeza da região do períneo com água e sabão neutro; em seguida, essa região foi secada com papel toalha. A dose inseminante mínima utilizada foi de 500 milhões de espermatozoides viáveis, sendo o sêmen diluído na proporção 1:1 em diluente comercial (Botusêmen® - Botupharma Biotecnologia Animal) previamente aquecido em banho-maria a 37 °C. Quando foi realizada a monta natural, foi feito o mesmo procedimento de higienização do períneo da jumenta que foi conduzida a um tronco de contenção específico para coberturas.

Para facilitar o manejo e concentrar as inseminações, as jumentas tiveram o estro sincronizado com utilização de análogo da Prostaglandina F2alfa (dinoprost trometamina - Lutalyse®) por via intramuscular.

Todos os dados de rufiação, diâmetro ovariano, ovulação, características uterinas, características do lavado e embriões foram anotados em fichas de controle individuais.

Colheita dos embriões:

No momento do lavado uterino, a jumenta doadora foi contida em tronco de contenção adaptado com uma plataforma de madeira de aproximadamente 25 cm para facilitar o procedimento (Figura 7a). Depois de devidamente contida, a cauda foi suspensa e foi feita a retirada das fezes da ampola retal e limpeza da região do períneo com água e sabão neutro; em seguida, essa região foi secada com papel toalha.



Figura 7 – Tronco de contenção adaptado para jumentas: a. detalhe da plataforma de madeira; b. procedimento de lavado uterino em altura mais adequada para o técnico.

Foram realizadas 90 colheitas de embriões nos dias 7, 8 ou 9 após a ovulação utilizando o método não-cirúrgico adaptado de Coelho (2010).

Para a lavagem uterina foi utilizado um cateter tipo Foley siliconizado n° 18 adaptado a mangueira extensora siliconizada. O meio para lavagem uterina foi o Ringer Lactato. A introdução do cateter com o balonete desinflado foi feita por via transcervical e posicionado no corpo uterino. O balonete foi inflado com ar e tracionado caudalmente para oclusão da cérvix. Após a fixação do cateter, 1 litro de Ringer Lactato, previamente aquecido a 37 °C, foi infundido por pressão no útero (Figura 7b). Massagem uterina por via retal era realizada de forma vigorosa, afim de que o Ringer Lactato atingisse todas as porções do útero. Em seguida, com a massagem sendo realizada, a solução era retirada por sifonagem, sendo filtrada diretamente utilizando um filtro com malha de 80 µm para que o embrião fosse retido. Foi deixado no filtro um volume mínimo de 40 mL. Este processo foi repetido 1 vez. Após cada drenagem do útero, uma inspeção visual foi realizada no filtro, para uma possível localização do embrião. Toda a solução infundida foi retirada completamente do útero e após o lavado foi classificada quanto ao seu aspecto em: límpido, pouco turvo e muito turvo.

O líquido contido no filtro foi revertido em placa de Petri estéril descartável (100x20) previamente quadriculada, onde foi realizado o rastreamento do embrião, com auxílio de um estereomicroscópio sob magnificação de 10 vezes.

Após a realização de cada colheita, as jumentas doadoras receberam 1 mL intramuscular de Lutalyse® (dinoprost trometamina) com o objetivo de causar a lise do corpo lúteo, fazendo com que o animal retornasse o mais rapidamente ao estro.

Manipulação e classificação dos embriões:

O rastreamento dos embriões foi feito com auxílio de um estereomicroscópio com aumento de 10 vezes e a classificação embrionária utilizando-se aumento de 40 vezes. A classificação morfológica foi realizada de acordo com os parâmetros de qualidade,

conforme descrito por McKinnon & Squires (1988). Quanto ao estágio de desenvolvimento os embriões foram classificados segundo McCue (2011).

Os embriões foram mensurados por uma ocular micrométrica adaptada ao estereomicroscópio (Figura 8). Para calibragem do estereomicroscópio, foi utilizada uma lâmina micrometrada que apresentava uma metragem absoluta de 1 mm. O micrômetro ocular foi colocado sobrepondo a lâmina micrometrada, sendo alinhadas as extremidades do lado esquerdo das escalas. Onde houve uma sobreposição direta de linhas foi contado o número de unidades da ocular com uma unidade métrica da lâmina micrometrada. Logo após foi feita a divisão do número de unidades contados na régua pelo seu correspondente na ocular para achar o equivalente em μm de cada unidade da ocular ocupada pelo embrião.

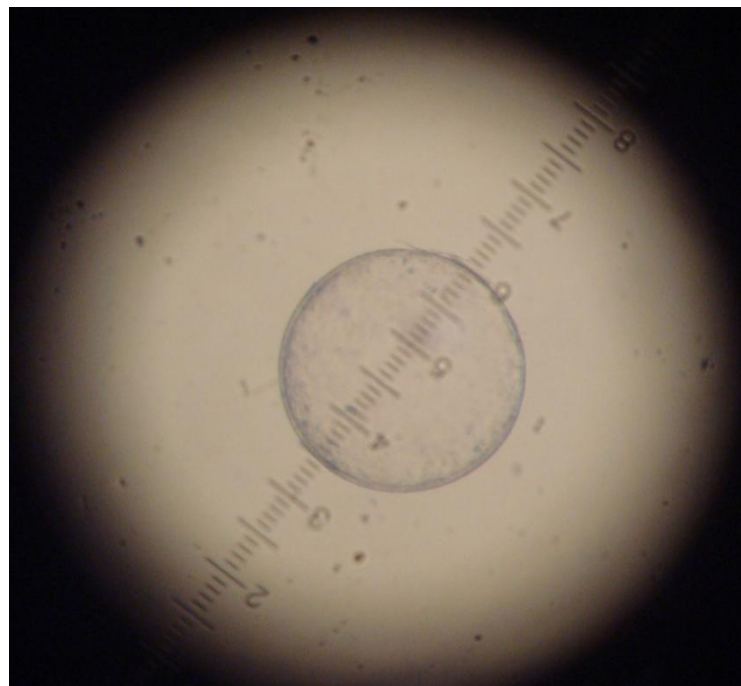


Figura 8 - Ocular micrométrica adaptada ao estereomicroscópio para mensuração do diâmetro dos embriões.

Para a magnificação de 40 vezes, o valor de cada unidade da ocular era de $23,5 \mu\text{m}$, e para o cálculo do diâmetro foi realizado da seguinte forma:

$$\text{Diâmetro} = N * 23,5 \mu\text{m}$$

N = nº de unidades da ocular ocupado pelo embrião.

23,5 = fator de correção

3.2.1.4. Análises estatísticas:

Os dados de número de embriões recuperados e diâmetro embrionário foram avaliados em função do dia do lavado (dia 7, 8 e 9), dos períodos do ano (Outubro a Março e Abril a Setembro), fração (primeira e segunda) e aspecto do lavado (limpo, pouco sujo e muito sujo) por Análise de Variância (PROC ANOVA; SAS, 2002) e as médias comparadas pelo teste de SNK. O estágio de desenvolvimento embrionário e a qualidade dos embriões em função do dia do lavado e as taxas de recuperação embrionária por lavado e por ovulação foram avaliadas em tabelas de contingência e analisadas pelo Teste de Fisher. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

3.2.2. RESULTADOS:

Os valores médios gerais referentes a número de embriões recuperados, características do embrião (diâmetro, estágio de desenvolvimento, qualidade do embrião), características do lavado (aspecto, fração do lavado que o embrião foi recuperado) e ovulações estão sumarizados na Tabela 8.

Tabela 8 – Médias gerais de número de embriões recuperados, características do embrião, características do lavado e porcentagem de ovulações de jumentas da raça Pêga.

Variável		
Diâmetro do embrião (μm) (Média \pm EPM)		747,38 \pm 76,45
Taxa de recuperação embrionária/lavado (%)		70%
Taxa de recuperação embrionária/ovulação (%)		58,88%
Estádio de desenvolvimento (%)	Mórula	1,59
	Blastocisto inicial	6,35
	Blastocisto	23,81
	Blastocisto expandido	68,25
	Ovócito não fecundado	0,00
Qualidade (%)	Grau I	82,54
	Grau II	7,94
	Grau III	7,94
	Grau IV	1,59
	Grau V	0,00
Aspecto do lavado (%)	Límpido	94,44
	Pouco turvo	3,33
	Muito turvo	2,22
Fração do lavado com embriões (%)	1	55,56 (30/54)
	2	44,44 (24/54)
Ovulações (%)	Ovulação simples	82,22 (74/90)
	Dupla ovulação	16,67 (15/90)
	Tripla ovulação	1,11 (1/90)

3.2.2.1. Taxa de recuperação e características do embrião em função dos dias do lavado:

Os valores médios de taxa de recuperação embrionária, número de embriões recuperados e diâmetro médio dos embriões em função dos dias do lavado estão apresentados na Tabela 9. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre a taxa de recuperação e número de embriões recuperados por lavado entre os três dias. Porém, como era de se esperar, o diâmetro foi maior para embriões recuperados no dia 9 quando comparados aos recuperados nos dias 7 e 8 pós-ovulação ($P < 0,05$).

Tabela 9 – Taxa de recuperação embrionária (TXRECEMB) e diâmetro médio dos embriões (DEMB) aos 7, 8 e 9 dias pós-ovulação em jumentas da raça Pêga.

Dia do lavado	TXRECEMB	DEMB (µm)
7 (n=30)	63,33% ^A	291,86 ± 29,41 ^c
8 (n=30)	76,66% ^A	627,48 ± 73,00 ^b
9 (n=30)	70,00% ^A	1274,85 ± 151,96 ^a
Geral	70%	747,38 ± 76,45

Valores seguidos por letras diferentes (a,b,c) sobrescritas, na mesma coluna diferem (P<0,05) pelo teste de Qui-quadrado.

Os dados de estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária estão apresentados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente. Foi observada diferença (P<0,05) entre estágio de desenvolvimento dos embriões coletados em relação ao dia da coleta, onde nas coletas realizadas no dia 7 os embriões estavam em estádios de desenvolvimento mais iniciais. Entretanto, não foi detectada diferença (P>0,05) entre a qualidade embrionária em relação ao dia da coleta, sendo observada que a maioria dos embriões apresentaram graus I (82,54%).

Tabela 10 – Estádio de desenvolvimento dos embriões recuperados em função do dia do lavado em jumentas da raça Pêga.

Dia do lavado	Estádio de desenvolvimento				Total
	Mórula	Blastocisto inicial	Blastocisto	Blastocisto expandido	
7 (n=30)	1 (1,59%)	3 (4,76%)	10 (15,87%)	5 (7,94%)	19 (30,16%)
8 (n=30)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (4,76%)	20 (31,75%)	23 (36,51%)
9 (n=30)	0 (0,00%)	1 (1,59%)	2 (3,17%)	18 (28,57%)	21 (33,33%)
Total	1 (1,59%)	4 (6,35%)	15 (23,81%)	43 (68,25%)	63 (100,00%)

(P < 0,05) pelo Teste de Qui-quadrado.

Tabela 11 – Qualidade dos embriões recuperados em função do dia do lavado em jumentas da raça Pêga.

Dia do lavado	Qualidade embrionária				Total
	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV	
7 (n=30)	14 (22,22%)	3 (4,76%)	2 (3,17%)	0 (0,00%)	19 (30,16%)
8 (n=30)	18 (28,57%)	2 (3,17%)	2 (3,17%)	1 (1,59%)	23 (36,51%)
9 (n=30)	20 (31,75%)	0 (0,00%)	1 (1,59%)	0 (0,00%)	21 (33,33%)
Total	52 (82,54%)	5 (7,94%)	5 (7,94%)	1 (1,59%)	63 (100,00%)

(P > 0,05) pelo Teste de Qui-quadrado.

Na Tabela 12 estão apresentados os dados de número e diâmetro dos embriões em função da fração do lavado em que foram recuperados. Não foi observada diferença (P>0,05) entre o número de embriões recuperados entre as duas frações avaliadas, porém os embriões recuperados na primeira fração apresentaram um diâmetro maior (P<0,05) quando comparados aos recuperados na segunda fração.

Tabela 12 - Taxa de recuperação embrionária (TXRECEMB) e diâmetro médio dos embriões (DEMB) em função da fração do lavado em que foram recuperados (media ± EPM) em jumentas da raça Pêga.

Fração	TXRECEMB	DEMB (µm)
Primeira (n=37)	58,73% ^a	947,60 ± 185,57 ^a
Segunda (n=26)	41,26% ^a	462,44 ± 104,37 ^b

Valores seguidos por letras diferentes (a,b) sobrescritas, na mesma linha diferem (P<0,05) pelo teste F.

3.2.2.2. Taxa de recuperação e características do embrião em função do período do ano:

A taxa de recuperação embrionária por lavado e por ovulação em função do período do ano estão apresentados na Figura 9. Não foi observada diferença (P>0,05) das taxas de recuperação por lavado e por ovulação entre os dois períodos estudados (Período 1: outubro a março; Período 2: abril a setembro).

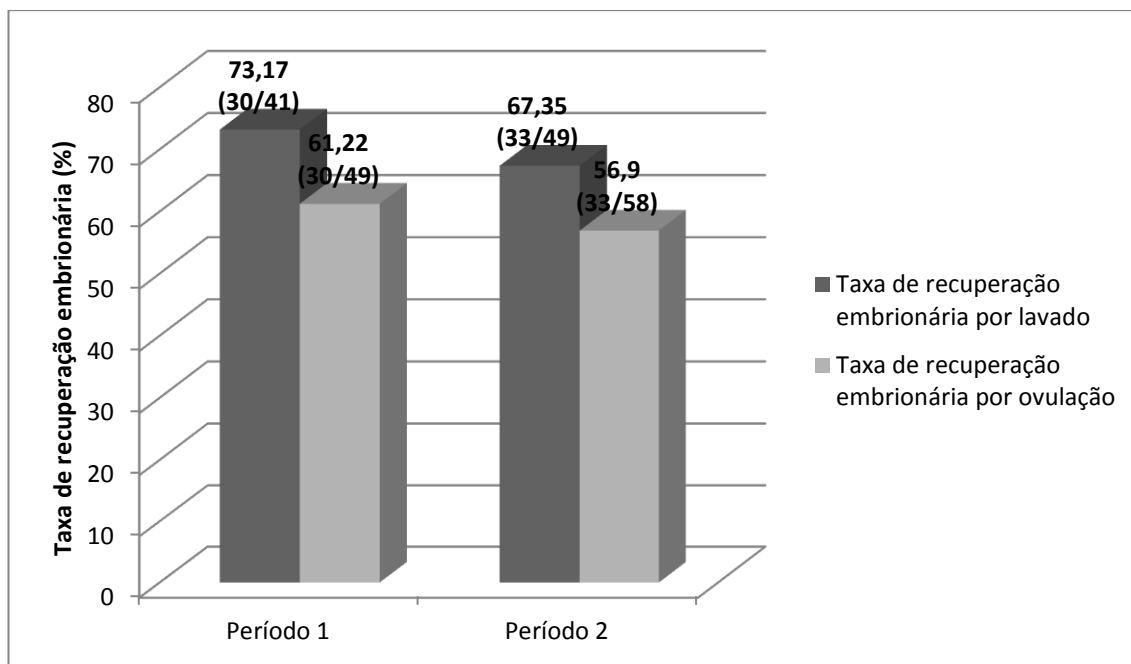


Figura 9 - Taxa de recuperação embrionária por lavado e por ovulação em função do período do ano em jumentas da raça Pêga. ($P > 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados de percentagem de embriões Grau I em relação aos dois períodos estudados. Não foi observada diferença ($P > 0,05$) na percentagem de embriões Grau I recuperados em função dos períodos avaliados.

Tabela 13 - Percentagens de embriões grau I em função do período do ano em jumentas da raça Pêga.

Qualidade	Período 1	Período 2	Total
Grau I	25 (39,68%)	27 (42,86%)	52 (82,54%)
Não grau I	5 (7,94%)	6 (9,52%)	11 (17,46%)
Total	30 (47,62%)	33 (52,38%)	63 (100,00%)

($P > 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

3.2.3. DISCUSSÃO:

As taxas de recuperação embrionária por lavado e por ovulação foram de 70% e 58,88%, respectivamente. As taxas de recuperação obtidas no presente estudo foram próximas às obtidas por Camillo et al. (2010), que foi de 75,9% (63/83) e 64,3% (63/98), por lavado e ovulação, respectivamente. Entretanto, os valores aqui descritos foram superiores aos previamente relatados em jumentas, 50% (Panzani et al., 2012), 53,3% (Allen et al., 1985), 60% (Coelho, 2010), 63,05% (Vendramini et al., 1997). Esses resultados confirmam que, apesar do menor porte das jumentas e de suas cérvices serem mais estreitas e difíceis de serem transpassadas, a técnica não cirúrgica de recuperação embrionária se mostra viável para a espécie.

Conforme mostra a Tabela 9, não foi detectada diferença na taxa de recuperação embrionária entre os dias 7, 8 e 9 após a ovulação da doadora. Em éguas, também não foi observado efeito do dia do lavado sobre a taxa de recuperação embrionária (Iuliano et al., 1985; Vogelsang et al., 1985; Fleury & Alvarenga, 1999; Fleury et al., 2001). Camillo et al. (2010), em estudo conduzido com jumentas da raça Pantescas, relataram piores taxas de recuperação embrionária no dia 7 quando comparado aos dias 8 e 9 pós-ovulação. Os autores em questão apontaram como possíveis causas desse resultado o fato dos embriões mais velhos apresentarem um diâmetro maior e serem mais facilmente recuperados e também devido ao fato de os lavados realizados no dia 7 foram feitos no início do período experimental, quando algumas falhas poderiam ter ocorrido devido à inexperiência da equipe com esses procedimentos em jumentas.

Os resultados de recuperação embrionária no presente estudo mostrou que o lavado para recuperação do embrião em jumentas pode ser feito dos 7 aos 9 dias sem influência sobre a taxa de recuperação. Isso aumenta flexibilidade para o veterinário de campo, que dependendo

da rotina de trabalho pode optar por fazer os lavados nos diferentes dias sem prejuízo para taxa de recuperação embrionária.

Como era de se esperar, os diâmetros dos embriões recuperados foram diferentes ($P < 0,05$) entre os dias em que foi feito o lavado, e como descrito para a espécie equina os embriões mais velhos apresentaram um diâmetro maior que os embriões mais novos (Fleury et al., 2001). O diâmetro médio dos embriões no dia 7 ($291,86 \pm 29,41 \mu\text{m}$) foi superior ao descrito por Vendramini et al. (1997) ($250 \pm 69 \mu\text{m}$), trabalhando com jumentas da raça Poitou. No dia 8, o diâmetro médio observado no presente estudo ($627,48 \pm 73,00 \mu\text{m}$) foi superior aos descritos por Vendramini et al. (1997) ($348 \pm 8 \mu\text{m}$) e Coelho (2010) ($317,6 \mu\text{m}$), sendo o último trabalho realizado com jumentas Pêga. Entretanto, esses valores aqui descritos foram inferiores aos relatados por Camillo et al. (2010) ($720 \pm 217 \mu\text{m}$), com jumentas Pantasca, e Panzani et al. (2012) ($666 \pm 378 \mu\text{m}$), com jumentas Amiata, também para o dia 8. Em coletas no dia 9, o diâmetro médio dos embriões recuperados ($1274,85 \pm 151,96 \mu\text{m}$) foi superior ao descrito por Panzani et al. (2012) ($1005 \pm 545 \mu\text{m}$). Os resultados dessas pesquisas indicam valores muito diferentes para embriões recuperados no mesmo dia, sendo que as possíveis causas dessas variações entre os estudos podem ser a variação de idade das doadoras, as diferentes raças estudadas e manejo nutricional dos animais.

A qualidade do embrião não variou ($P > 0,05$) entre os dias do lavado, sendo que a maioria dos embriões recuperados foram graus I e II (90,51%), corroborando com os dados descritos por Camillo et al. (2010), Coelho (2010) e Panzani et al. (2012) que trabalharam com as raças Pentasca, Pêga e Amiata, respectivamente. Segundo Carnevale et al. (2000) e Squires (2003) as taxas de prenhez para embriões graus I e II são maiores que para os de graus III e IV. Os dados de qualidade dos embriões são considerados satisfatórios para um programa de TE, indicando um bom potencial de fertilidade. Porém, novos estudos, com um número grande de repetições, são indicados para testar se a

morfometria do embrião de jumentas da raça Pêga teria influência na taxa de gestação de receptoras.

Quanto ao estágio de desenvolvimento, também como era de se esperar, foi observada diferença ($P>0,05$) entre os dias de coletas avaliados, onde os embriões recuperados no dia 7 estavam em estágio de desenvolvimento mais iniciais (mórula, blastocisto inicial e blastocisto) que os coletados nos dias 8 e 9 (blastocistos expandidos). Entretanto, a maioria dos embriões recuperados (68,25%) nos três dias de coleta foram blastocistos expandidos, assim como descritos por Squires (1993).

Não foi observada diferença ($P>0,05$) na taxa de recuperação embrionária entre as frações do lavado. Squires et al. (1982) também observaram uma distribuição equitativa dos embriões recuperados entre os diferentes lavados uterinos 31,3%, 36,3% e 32,5%. Porém em outro estudo, Meira & Henry (1991) obtiveram 53,5%, 23,3%, 16,3% e 7% do primeiro ao quarto lavado uterino, respectivamente. Fleury et al. (2001) recuperou 50% dos embriões na primeira fração do lavado e reporta que não houve diferença na taxa de prenhez após inovulações de embriões oriundos das três frações. Porém houve diferença da presença do embrião no lavado em função do diâmetro do embrião, ou seja, embriões maiores apareceram em maior porcentagem na primeira fração do lavado. Sendo assim, pode-se inferir que o tamanho do embrião está relacionado com a facilidade em que é recuperado no lavado.

Não foram observadas diferenças entre a taxa de recuperação embrionária e porcentagem de embriões Grau I ($P>0,05$) entre os períodos avaliados, outubro a março ou abril a setembro. Esse comportamento também foi observado no estudo conduzido por Camillo et al. (2010) que não observaram diferenças quanto à fertilidade das doadoras durante todo o ano. Isso pode ser vantajoso no planejamento e implantação de um programa de transferência de embriões em jumentas se compararmos com a espécie equina, onde as inseminações e lavados uterinos podem ser feitos durante todo o ano, aumentando o aproveitamento das doadoras.

3.2.4. CONCLUSÕES:

Os lavados uterinos para recuperação de embriões podem ser realizados aos dias 7, 8 ou 9 após a ovulação sem prejuízo para as taxas de recuperação embrionária e qualidade do embrião.

Nas condições experimentais avaliadas, jumentas podem ser utilizadas em programas de transferência de embriões, como doadoras, durante todo o ano.

4. CONCLUSÕES GERAIS:

Jumentas da raça Pêga podem ser acasaladas durante todo o período do ano, tanto com a finalidade de serem doadoras de embriões ou para permanecerem gestantes (matrizes), pois elas exibem um padrão diferente das éguas, nas condições experimentais estudadas.

As taxas de recuperação embrionária e qualidade dos embriões recuperados indicam um ótimo potencial para se obter altas taxas de prenhez.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ALJARRAH, A. H. *Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares*. 65f. (Dissertation) - Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA. 2004.
- ALLEN, W.R.; KYDD, J.; BOYLE, M.S.; ANTCZAC, D.F. Between-species transfer of horse and donkey embryos: a valuable research tool. *Equine Vet J.* 3:53–62, 1985.
- ALVARENGA, M.A.; ALVARENGA, F.C.L.; MEIRA, C. Modifications in the technique used to recover equine embryos. *Equine Veterinary Journal*, suppl. 15, p.111-12, 1992.
- AMANN, R. P.; PICKETT, B. W.; Principle of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 7, p. 147, 1987.
- AURICH, C.; SCHLOTE, S.; HOPPEN, H.O.; KLUG, E.; HOPPE, H.; AURICH, J.E. Effects of the opioid antagonist naloxone on release of luteinizing hormone in mares during the anovulatory season. *J. Endocrinol.* 142, 139–144, 1994.
- ARRUDA R.P.; VISINTIN J.A.; FLEURY J.J.; GARCIA A.R.; MADUREIRA E.H.; CELEGHINI E.C.C.; NEVES NETO J.R. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião eqüinos? *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38:233-239, 2001.
- BERGFELT, B.R. Ovarian follicular wave dynamics in mare. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 26, p. 104-124, 1998.
- BESSENT, C. & GINTHER, O.J. Comparison of early conceptus mobility between mares and jennies. *Theriogenology*, v.29, p.913-920, 1987.

- BLANCHARD, T.L.; TAYLOR, T.S.; LOVE, C.L. Estrous cycles characteristics and response to estrus synchronization in mammoth asses. *Theriogenology*, v.52, p.827-34, 1999.
- CAIADO, J.R.C.; FONSECA, F.A.; SILVA, J.F.S.; FONTES, R.S. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando a sua utilização no segundo dia pós-ovulação. *Rev Soc Bras Zootec*, v.36, p.360-368, 2007.
- CAMILLO, F.; PANZANI, D.; SCOLLO, C.; et al. Embryo recovery rate and recipients' pregnancy rate after nonsurgical embryo transfer in donkeys. *Theriogenology*, v.73, p.959-965, 2010.
- CANISSO, I.F. *Comportamento sexual, parâmetros seminais e fertilidade do sêmen congelado de jumentos (Equus asinus) da raça Pêga*. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2008.
- CANISSO, I.F.; SOUZA, F.A.; RODRIGUES, A.L.; KER, P.G.; TOLOMELI, A.C.; BRUSTOLINI, A.P.L. Noções sobre comportamento sexual de asininos. *Revista Brasileira de Medicina Equina*. n°6, p 14-18, 2009.
- CARATY, A.; SMITH, J.T.; LOMET, D.; BEN SAID, S.; MORRISSEY, A.; COGNIE, J.; DOUGHTON, B.; et al. Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology*;148:5258–67, 2007.
- CARLUCCIO, A.; PANZANI, S.; TOSI, U. et al. Efficacy of hCG and GnRH for inducing ovulation in the jenny. *Theriogenology*, v. 68, p. 914–919, 2007.
- CARLUCCIO, A.; PANZANI, S.; CONTRI, A.; TOSI, U.; DE AMICIS, I.; VERONOSI, M.C. Luteal function in jennies following PGF(2alpha) treatment 3 days after ovulation. *Theriogenology*; 70:121–125, 2008.
- CARNEVALE, E.M.; McKINNON; A.O.; SQUIRES, E.L.; et al. Ultrasonographic characteristics of preovulatory follicle preceding and ovulation in mares. *Equine Vet. Sci.*, v.8, p.428-31, 1988.
- CARNEVALE, E.M.; RAMIREZ, R.J.; SQUIRES, E.L.; ALVARENGA, M.A.; VANDERWALL, D.K.; MCCUE, P.E. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology* 54:965-979. 2000.
- CARVALHO, G.R. *Estudos de alguns aspectos da transferência de embriões eqüinos*. Tese de doutorado, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG. 102p, 2000.
- CARVALHO, G.R.; FONSECA, F.A.; SILVA FILHO, J.M.; RUAS, J.R.M.; BORGES, A.M. Avaliação da Utilização do “Cio do Potro” na Coleta de Embriões. *Rev. bras. zootec.*, 30(5):1445-1450, 2001.

- CARVALHO, L.E. *Características físicas e fecundidade do sêmen de jumentos coletado de forma fracionada e preservado resfriado a 5°C*. Tese de mestrado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2011.
- CLARKE, I.J.; SARI, I.P.; QI, Y.; SMITH, J.T.; PARKINGTON, H.C.; UBUKA, T.; IQBAL, J.; et al. Potent action of RFamide-related peptide-3 on pituitary gonadotropes indicative of a hypophysiotropic role in the negative regulation of gonadotropin secretion. *Endocrinology*;149:5811–21, 2008.
- CLARKE, I.J.; SMITH, J.T.; CARATY, A.; GOODMAN, R.L.; LEHMAN, M.N. Kisspeptin and seasonality in sheep. *Peptides*;30: 154–63, 2009.
- CLAYTON, H.M.; LINDSAY, F.E.F.; FORBES, A.C.; HAY, L.A. Some studies of comparative aspects of sexual behaviour in ponies and donkeys. *Appl. Anim. Ethol.* 7, 169-174, 1981.
- COELHO, P.G.B. *Acompanhamento folicular, adaptação da técnica de coleta de embriões e avaliações morfológica e morfométrica de embriões de jumentas da raça Pêga*. Tese de Mestrado, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa-MG, 2010.
- CONCEIÇÃO, J. C. *Dinâmica de desenvolvimento folicular perfil da concentração plasmática de progesterona durante o ciclo estral da Jumenta (Equus asinus)*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – FMVZ- Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2005.
- CONCEIÇÃO, J.C.; FREITAS NETO, L.M.; AGUIAR FILHO, C.R.; ARAUJO, G.H.M.; OLIVEIRA, J.V.; BARTOLOMEU, C.C.; OBA, E.; MEIRA, C. Avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular ovariana de jumenta (*Equus asinus*) durante o ciclo estral. *Medicina Veterinária*, Recife, v.3,n3,p.7-14, jul-set, 2009
- COSTA, R.N. O jumento Pêga. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE EQÜIDECULTURA, 1, Viçosa - MG. *Anais...* Viçosa – MG: Ed: Viçosa, UFV, 2007. p. 93-98. 2007.
- DAELS, P.F. Management of spring transition. In: AAEP Annual Resort Symposium, 8th, 2006, Rome, Italy. Proceedings... Rome, Italy: *American Association of Equine Practitioners*, January 19 - 21, 2006.
- DAELS, P. Embryo transfer tips and tricks. Proceedings 5th *European Veterinary Conference*, Voorjaarsdagen, Amsterdam, p.213-215., 2007
- DADARWAL, D.; TANDON, S.N.; PUROHIT, G.N.; PAREEK, P.K. Ultrasonographic evaluation of uterine involution and postpartum

- follicular dynamics in French Jennies (*Equus asinus*). *Theriogenology*, v. 62, p.257-264, 2004.
- DAVIES, C.J.; ANTCZAK, D.F.; ALLEN, W.R. Reproduction in mules: Embryo transfer using sterile recipients. *Equine Embryo Transfer*, suppl 3, 63-67, 1985.
- DAVIES-MOREL, M.C.G. Equine Artificial Insemination. Wallingford-Oxon: *CAB International*. 1999.
- DAVISON, L.A.; MCMANUS, C.J.; FITZGERALD, B.P. Gonadotropin response to Naloxone in the mare: effect of time of year and reproductive status. *Biol. Reprod.* 59, 1195–1199, 1998.
- DERAR, R.I.; HUSSEIN, H.A. 2011. Ovarian Follicular Dynamics during the Estrous Cycle in jennies in Upper Egypt. SAGEHindawi Access to Research. *Veterinary Medicine International*, Vol. 2011
- DECOURT, C.V.; MERZOUKI, Y.; DUCHAMP, G.; BRUNEAU, B.; CARATY, A.; BRIANT, C. Effects of constant intravenous kisspeptin administration on luteinizing hormone release in cyclic mares. *Anim Reprod Sci* 2010;121(suppl):S65–7.
- DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Interrelationships of estradiol, inhibin, and gonadotropins during follicle deviation in pony mares. *Theriogenology*, v. 61, p. 1395-1405, 2004.
- DOWSETT, K. F. et al. Seasonal variation in the estrous cycle of mares in the subtropics. *Theriogenology*, v.39, p.631-653, 1993.
- FERREIRA, M.F.L. *Efeito de diluentes e taxa de resfriamento sobre a motilidade espermática e fertilidade do sêmen de jumentos (Equus asinus)*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. 67f. 1993.
- FLEURY, J.J.; ALVARENGA, M.A. Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. *Theriogenology*, v.51, n.1, p.261, 1999.
- FLEURY, J.J.; PINTO, A.J.; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38:29-33, 2001.
- FLEURY, P.D.C.; ALONSO, M.A.; BALIEIRO, J.C.C. Avaliação da receptora: efeito de características uterinas e tempo de ovulação. In: *XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIOES*, Araxá. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34 (supl. 1), p.502, 2006.

- FLEURY P.D.C.; ALONSO M.A.; SOUSA F.A.C.; ANDRADE A.F.C.; ARRUDA R.P. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 31:27-31, 2007.
- FRADE, S.C.F.; SILVA, E.S.M.; ALVARENGA, M.A. Transferência inter-espécie de embriões asininos para éguas receptoras suplementadas com altrenogest (Resultados parciais). *Anais da XIII CONFERÊNCIA ANUAL DA ABARVEQ*, 2012.
- GASTAL, M.M.F.O. *Estudo das características seminais e do comportamento sexual de jumentos*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 105f., 1991.
- GASTAL, M.O.; HENRY, M.; BEKER, A.R.; GASTAL, E.L.; GONÇALVES, A. Sexual behavior of donkey jacks: influence of ejaculatory frequency and season. *Theriogenology*, v.46, p.593-603, 1996.
- GEBERS, A.M. *Emissão diária de espermatozoides e algumas características reprodutivas de jumentos da raça Pêga*. Tese de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1995.
- GINTHER, O. J. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a 12-month period in mares. *American Journal Veterinary Research*, v.35, n.9, 1974.
- GINTHER, O.J.; SCRABA, S.T.; BERGFELT, D.R. Reproductive seasonality of the jennies. *Theriogenology*; 27:587-92, 1987.
- GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging of equine ovarian follicles and corpora lutea. *Vet. Clin. North. Am. Eq. Pract.*, v.4, p197-213, 1988.
- GINTHER, O.J. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects (2nd ed). *EquiServices, Cross Plains, WI*, p.299-300, p. 499-545, 1992.
- GINTHER, O.J. Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. *J. Equine. Vet. Sci.*, v.13, p.18-25, 1993.
- GINTHER, O.J. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses. *Book II. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI*, p. 394, 1995.
- GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 60-61, p.61-79, 2000.
- GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Anim. Reprod.*, v.,1 n.1, p.31-44, 2004.

- GRAHAM, J. K. Cryopreservation of stallion spermatozoa. *Vet. Clin. North. Am.: Equine Practice*, v. 12, p. 131-147, 1996.
- GUERIN, M.V.; WANG, X.J. Environmental temperature has an influence on timing of the first ovulation of seasonal estrus in the mare. *Theriogenology* 42, 1053–1060, 1994.
- GUILLAUME, D.; PALMER, E.. Effect of oral melatonin on the date of the first ovulation after ovarian inactivity in mares under artificial photoperiod. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 44, 249–257, 1991.
- HAFEZ, E.S.E. Eqüinos. *In: Reprodução animal*. HAFEZ, E.S.E. ed. Traduzido por BARNABE, R.C. São Paulo. Editora Manole Ltda. 1995. Cap. 17, p 366-389.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Functional Anatomy of Reproduction In: *Reproduction in Farms Animals*, 7° ed., p.1- 68, 2000.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reprodução Animal*. 7.ed. Barueri: Manole, 513 p, 2004.
- HAVERN, R.L.; WHISNANT, C.S.; GOODMAN, R.L. Dopaminergic structures in the ovine hypothalamus mediating estradiol negative feedback in anestrus ewes. *Endocrinology* 134, 1905–1914, 1994.
- HENNEKE, D.R.; POTTER, G.D.; KREIDER, J.L. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology* 21, 897–909, 1984.
- HENRY, M.; FIGUEIREDO, A.Z.F.; PALHARES, M.S.; CORYN, M. Clinical and endocrine aspects of the oestrus cycle in donkeys (*Equus asinus*). *J Reprod Fertil Suppl*, n.35, p.297-303, 1987.
- HENRY, M.; MCDONNELL, S.; LODI, L.D.; GASTAL, E.L. Pasture mating behaviour of donkeys (*Equus asinus*) at natural and induced oestrus. *J Reprod Fertil*, v.44, p.77-86, 1991.
- HENRY, M.; LODI, L.D.; GASTAL, M.M.F.O. Sexual behaviour of domesticated donkeys (*Equus asinus*) breeding under controlled or free range management systems. *Appl Anim Behav Sci*, v.60, p.263-276, 1998.
- HENRY, M.; LAGO, L.A.; MENDONÇA, L.F. Asininos: animais com características sociais e reprodutivas próprias. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.33, n.4, p.223-230, 2009.
- HUSZENICZA, G.; NAGY, P.; JUHASZ, J.; KORODI, P.; KULCSAR, M.; REICZIGEL, J.; GUILLAUME, D.; RUDAS, P.; SOLTI, L. The relationship between thyroid function and expression of seasonal reproductive activity in mares. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, 2000.

- IETS (International Embryo Transfer Society's). The year 2011 worldwide statistics of embryo transfer in domestic farm animals. Disponível em: <http://www.iets.org/pdf/December2012.pdf>, acessado em Junho de 2013.
- IULIANO, M. F.; SQUIRES, E. L.; COOK, V. M. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. *Journal of Animal Science*, v. 60, n. 1, p. 258-263, 1985.
- KEBEDE, H.; LEMMA, A.; NEGUSSIE, H. Ultrasonographic studies on ovarian dynamics and associated estrus manifestations of jennies under controlled management, Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 44:1965–1970, 2012.
- KER, P.G.; SUPRANI, V.P.; OLIVEIRA, P.R.; PUGLIESI, G.; RATES, D.M.; OLIVEIRA, R.R.; CARVALHO, G.R. Ultrasound diameter of embryonic vesicle during early gestation in mares inseminated with stallion or donkey semen. *Anim. Reprod.*, v.9, n.4, p.968, 2012.
- KER, P.G.; PUGLIESI, G.; OLIVEIRA, R.R.; RATES, D.M.; OLIVEIRA, P.R.; SUPRANI, V.P.; KIM, D.; SOARES, C.M.T.; MURTA, D.V.F.; CARVALHO, G.R. Morfometria e estágio de desenvolvimento de embriões de jumentas da raça Pêga. *Anais XX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, 2013.
- KLINGEL H. Social organization and reproduction in equids. *J Reprod Fertil*, v.23, p.7-11, 1975.
- KLINGEL, H. Observations on social organization and behaviour of African and Asiatic Wild Asses (*Equus africanus*) and (*Equus hemionus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* V. 60, p. 103-113, 1998.
- KUBIAK, J.R.; CRAWFORD, B.H.; SQUIRES, E.L.; WRIGLEY, R.H.; WARD, G.M. The influence of energy intake and percentage body fat on the reproductive performance of nonpregnant mare. *Theriogenology* 28, 587–598, 1987
- KYDD, J.; BOYLE, M.S.; ALLEN, W.R. Transfer of exotic equine embryos to domestic horses and donkeys. *Equine Embryo Transfer*, suppl 3, 80-84, 1985.
- LEITE, S. V. F. *Influência do número de espermatozóides de jumento (Equus asinus) sobre a taxa de prenhez em éguas (Equus caballus) inseminadas a fresco*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. 52f. 1994.
- LEMMA, A.; BEKANA, M.; SCHWARTZ, H.J.; HILDEBRANDT, T. The Effect of Body Condition on Ovarian Activity of Free Ranging Tropical Jennies (*Equus asinus*). *J. Vet. Med.* A 53, p.1–4, 2006a.

- LEMMA, A.; SCHWARTZ, J.H.; BEKANA, M. Application of ultrasonography in the study of the reproductive system of tropical jennies (*Equus asinus*). *Trop Anim Health Prod.* v. 38, p. 267-74, 2006b.
- LINDEBERG, H.; KUNTSI, H.V.; KATILA, T. Predicting ovulation in the mare. *In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 12., Netherlands, 1992.* Free communications. Hague, Netherlands,. V.4, p.144-6, 1992.
- LINDER, G.M.; WRIGTH Jr., W. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, v.20 (4), p.407-416, 1983.
- LODI, L.D.; HENRY, M.; COSTA, M.J.R.P. Behavior of donkeys (*Equus asinus*) breeding horse mares (*Equus caballus*) at pasture. *Biol Reprod Mono*, n.1, p.591-598, 1995.
- LOSINNO, L.; ALVARENGA, M.A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. . *In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, Araxá. Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, p.39-49, 2006.
- MCCUE, P.M.; VANDERWALL, D.K.; KEITH, S.L.; SQUIRES, E.L. Equine embryo transfer: influence of endogenous progesterone concentration in recipients on pregnancy outcome. *Theriogenology*, v.51. issue1, p. 267,1999.
- MCCUE, P.M. Transferência de Embriões em Equinos – Recuperação do Embrião / *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 3 (2011), p. 94–98, 2011.*
- MCDONNELL, M.S. Reproductive behavior of donkeys (*Equus asinus*). *Appl Anim Behav Sci* v.60, p.277-282, 1998.
- MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VOSS, J.L. Ultrasonic evaluation of the mare's reproductive tract-Part I. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.9, p-336-44, 1987.
- MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L. Morphological assessment of the equine embryo. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v.192, p.406-416, 1988.
- MCKINNON, A.O.; VOSS, J. L. *Equine Reproduction*, ed. Williams & Wilkins, 1993, 1115p.
- MCKINNON A.O.; SQUIRES E.L.. Embryo transfer and related technologies,. *In: Current Therapy Equine Reproduction.* Saunders, Missouri, p.319-334, 2007.

- MEIRA, C.; HENRY, M. Evaluation of two non-surgical equine embryo transfer methods. *J. Reprod. Fertil.* 44(suppl.):712-713, 1991.
- MEIRA, C.; FERREIRA, J.C.P.; PAPA, F.O.; TORNERO, M.T.T.; BICUDO, S.D. Study of the cycle in Donkeys (*Equus asinus*) using ultrasonography and plasma progesterone concentrations. *Biol. Reprod. Mono*, v.1, p.403-410, 1995.
- MEIRA, C. *Aspectos fisiológicos e ultra-sonográficos durante o ciclo estral e a gestação de jumentas (Equus asinus)*. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária) – FMVZ- Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 1995.
- MEIRA, C.; FERREIRA, J.C.P.; PAPA, F.O.; HENRY M. Ultrasonographic evaluation of the conceptus from days 10 to 60 of pregnancy in jennies. *Theriogenology*. v.49, p.1475-1482, 1998.
- MELROSE, P.A.; WALKER, R.F.; DOUGLAS, R.H. Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. *Brain Behav. Evol.* 35, 98–106, 1990.
- MOEHLMAN, P.D. Behavioral patterns and communication in feral asses (*Equus africanus*). *Appl Anim Behav Sci.*, v.60, p.125-169, 1998.
- MORAIS, R. N.; MUCCIOLO, R. G; VIANA, W. G. Biologia reprodutiva de jumentos. I. Biometria testicular e comportamento sexual durante a colheita de sêmen. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.31, n.1, p.49-57, 1994.
- MURAKAMI, M.; MATSUZAKI, T.; IWASA, T.; YASUI, T.; IRAHARA, M.; OSUGI, T.; TSUTSUI, K. Hypophysiotropic role of RFamide-related peptide-3 in the inhibition of LH secretion in female rats. *J Endocrinol*;199:105–12, 2008.
- NAGY, P.; HUSZENICZA, J.J.; KULUSAR, L.S.; REIEZIGEL, J.; ABAVARY, K. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. *Theriogenology*, v. 50, p. 1109-1119, 1998.
- NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. *Animal Reproduction Science*, v. 60–61, p. 245–262, 2000.
- NAGY, P.; HUSZENICZA, GY.; REICZIGEL, J.; JUHASZ, J.; KULCSAR, M.; ABAVARY, K.; GUILLAUME, D. factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. *Theriogenology*, v. 61, p. 203- 214, 2004.
- NISHIKAWA, Y. Reproduction in jenny asses. In: Studies on reproduction in horses. Tokio: *Japan Racing Association*, p. 279-300, 1959.

- OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Non-surgical recovery of equine eggs and an attempt a non-surgical egg transfer in horses. *Journal of Reproduction and Fertility*. v.31, p.187-95, 1972.
- OLIVEIRA, J.V. *Estudo de metodologias para a criopreservação de sêmen de jumento (Equus asinus) por meio de testes laboratoriais e fertilidade*. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista, 2005.108p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – FMVZ- Universidade Estadual Paulista, 2005.
- PALHARES, M. S.; SILVA FILHO, J. M.; OLIVEIRA Jr., E. F. et al. Inseminação artificial em jumentas da raça Pega com cio induzido pelo Dinoprost. *Rev. Brasil. Reprod. Anim.*, v. 10, p. 157-163, 1986.
- PALHARES, M.S. *Avaliação da atividade ovariana e eficiência reprodutiva de potras e éguas da raça Mangalarga Marchador*. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1989. 89p. Dissertação (Mestrado em reprodução animal) - Escola de Veterinária/Universidade Federal de Minas Gerais, 1989.
- PALMER, E.; GUILLAUME, D. Photoperiodism in the equine species— what is a long night? *Anim. Reprod. Sci.* 28, 21–30, 1992.
- PANZANI, D.; ROTA, A.; CRISCI, A., et al. Embryo quality and transcervical technique are not the limiting factors in donkey embryo transfer outcome. *Theriogenology*, v.77, p.563-569, 2012.
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Follicular population dynamics during estrous cycle of the mare. *Anim. Reprod. Sci.*, London, v. 14, p. 219-231, 1987.
- PINEDA, R.; GARCIA-GALIANO, D.; SANCHEZ-GARRIDO, M.A.; ROMERO, M.; RUIZ-PINO, F.; AGUILAR, E.; DIJCKS, F.A.; et al. Characterization of the inhibitory roles of RFRP3, the mammalian ortholog of GnIH, in the control of gonadotropin secretion in the rat: in vivo and in vitro studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab*;299:E39–46, 2010.
- PORTER, M.B.; CLEAVER, B.; ROBINSON, G.; PELTIER, M.; SHEARER, L.C.; DAHL, G.E.; SHARP, D.C. A comparative study examining the role of the thyroid in seasonal reproduction in pony mares and ewes. *Biol. Reprod.* 52, 312, 1995.
- PREZOTTO, L.D.; THORSON, J.F.; CARDOSO, R.C.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G.L. Failure of an equine homologue of avian gonadotropin inhibiting hormone to alter secretion of luteinizing hormone in the mare. *Biol Reprod*;85(special issue), 2011.
- PUGH, D.G. Donkey Reproduction. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of the Equine Practitioners*, vol. 48, p.113-114, 2002.

- PUGLIESI, G. *Viabilidade e fertilidade do sêmen equino resfriado a 5°C por 24 horas com dois diluidores*. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2009.
- PURDY, S.R. Ultrasound examination of the female miniature donkey. *New England Journal of Large Animal Health*, 2, 75–78, 2002.
- ROMANO, M.A.; MUCCIOLO, R.G.; FELICIANO E SILVA, A.E.D. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 25-28, 1998.
- ROSSI, R. *Comparação de dois diluidores na fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco ou resfriado*. 2008. 209f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- RIZWAN, M.Z.; PORTEOUS, R.; HERBISON, A.E.; ANDERSON, G.M. Cells expressing RFamide-related peptide-1/3, the mammalian gonadotropin- inhibitory hormone orthologs, are not hypophysiotropic neuroendocrine neurons in the rat. *Endocrinology*; 150:1413–20, 2009.
- SAS Institute Inc 2002: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- SILVA, L.A. *Técnica ultra-sonográfica de injeção intrauterina para transferência de embriões em eqüinos*. Tese (Pósgraduação em Medicina Veterinária), Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, Brasil, 145 p, 2003.
- SILVA FILHO, J.M.; OLIVEIRA Jr., E.F.; PALHARES, M.S.; *et al.* Avaliação da fertilidade de jumentas da raça pega, cobertas após a ovulação. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 9(3): 133-139, 1986.
- SILVA FILHO, J.M.; VALLE, G.R.; VIANNA, W.S.; PALHARES, M.S. Utilização de manequim para coleta de sêmen equino e sua influência sobre características reprodutivas do garanhão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n.5, p.499-504, 1999.
- SIORIS, J.; BALL, B.A.; FORTUNE, J.E. Patterns of growth and regression of ovarians follicles during the estrous cycle in mares. *Equine Vet. J.*, Suppl. 8, p.43-8, 1989.
- SHARP, D.C.; GRUBAUGH, W.R.; WASSERMAN, C. Effect of naloxone and gonadotropin releasing hormone (GnRH) administration to anestrus mares. *Biol. Reprod.* 30 _Suppl. 1., 156, 1985.

- SQUIRES, E.L.; IULIANO, M.F.; SHIDELER R.K. Factors affecting the success of surgical and nonsurgical equine embryo transfer. *Theriogenology* 17:35-41, 1982.
- SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A.O.; SHIDELER, R.K. Use of ultrasonography in reproductive management of mares. *Theriogenology*, v.29,n.1, p.55-70, 1988.
- SQUIRES, E.L. Progesterone. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger,. cap. 6, p. 57-64, 1993.
- SQUIRES, E.L.; SEIDEL, G.E. Collection and transfer of equine embryos. *Animal Reproduction and biotechnology laboratory, Colorado State University, Bulletin n° 8*, 1995.
- SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W.; GRAHAM, J. K.; VANDERWALL, D. K.; McCUE, P. M.; BRUEMMER, J. E. Principles of cryopreservation. In: *Cooled and frozen Stallion Semen*, b.09, 1999.
- SQUIRES, E.L.; CARNEVALE., E.M.; MCCUE, P.M.; BRUEMMER, J.E. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*, v.59, p. 151-170, 2003.
- SUSAN, A.L.; IRVINE, C.H.G. GnRH secretion in the mare. *Animal Reproduction Science*, v. 42, p. 173-180, 1996.
- TABERNER, E.; MEDRANO, A.; PEÑA, A.; RIGAU, T; MIRÓ, J. Oestrus cycle characteristics and prediction of ovulation in Catalanian jennies. *Theriogenology*, 70 1489–1497,2008.
- TEIXEIRA, F.M.; LUIZ, A.T.; HENRY, M. Eficiência reprodutiva em jumentas da raça pêga. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 10(3): 165-177, 1985.
- THORSON, J.; PREZOTTO, L.; CARDOSO, R.; ALVES, B.; LIU, S.; EDWARDS, J.; WELSH, T.; et al. Effects of RF-amide related peptide 3 (RFRP- 3), na equine homolog of avian gonadotropin-inhibiting hormone, on adenohipofyseal responsiveness to GnRH in mares. *Biol Reprod*; 85(special issue), 2011.
- TIBARY, A. Stallion reproductive behavior. In: Samper, J.C. et al. (Ed) *Current therapy in equine reproduction*, Saint Louis: Saunders-Elsevier, p. 174-184, 2007.
- TURNER, J.E.; IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. Regulation of seasonal breeding by endogenous opioids in mares. *Biol. Reprod. Monogr. Ser.* 1, 443–448, 1995.
- VALLE, G.R. *Efeito da rufiação e manipulação do sistema genital e transporte de sêmen, em container “Celle” modificado, na avaliação da técnica de inseminação artificial em equinos*. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária,

Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. 349f, 1997.

- VANDEPLASSCHE, G.M.; WESSON J.A.; GINTHER O.J. Behavioral, follicular and gonadotropin changes during estrous cycle in donkeys. *Theriogenology* 1981; 16: 239-249.
- VANDERWALL D.K.; WOODS G.L. Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses,. In: Youngquist R.S. & Threlfall W.R. (Eds) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Saunders, Missouri, p 211-219, 2007.
- VENDRAMINI, O.M. *Contribution a la sauvegarde du Baudet du Poitou par la mise au point d'une technique de transfert d'embryon*. Tese de doutorado. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 217p, 1997.
- VENDRAMINI, O.M.; GUINTARD, C.; MOREAU, J.; TAINTURIER, D. Cervix conformation: a first anatomical approach in Baudet Du Poitou jenny asses. *Animal Science*. v.66, p.741-744, 1998.
- VIDAMENT, M.; VICENT, P.; YVON, J. M. et al. Glycerol in semen extender is a limiting factor in the fertility in asinine and equine species. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, p. 302-305, 2005.
- VIDAMENT, M.; VINCENT, P.; MARTIN, F.X.; *et al.* Differences in ability of jennies and mares to conceive with cooled and frozen semen containing glycerol or not. *Anim Reproduction Science*. n.1, v.112, p.22-35, 2009.
- VOGELSANG, S. G.; BANDIOLO, K. R.; MASSEY, J. R. Commercial application of equine embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*, v. 3, p. 89-91, 1985
- WATSON, E.D.; THOMASSEN, R.; NIKOLAKOPOULOS, E. Association of uterine edema with follicle waves around the onset of the breeding season in pony mares. *Theriogenology*, p. 1181-1187, 2003.
- WESSON, J.A.; QUAY, W.B.; GINTHER, O.J. Seasonal relationship between pineal hydroxyindole-O-methyl-transferase (HIOMT). activity and reproductive status in the pony. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38, 46–52, 1979.
- WILSHER , S.; KOLLING, M.; ALLEN, W.R. Meclofenamic acid extends donorrecipient asynchrony in equine embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*, v.38, n.5, p.428-432, 2006.