

## TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR INSEMINADAS COM SÊMEN REFRIGERADO

*(Embryonic recovery rate in mangalarga marchador mares inseminated with refrigerated semen)*

Mateus Jacomelli MOREIRA<sup>1</sup>; Valdeir CANIATTO<sup>1</sup>; Thaini Barbosa COSTA<sup>1</sup>; Giovana Milena FERRARINI<sup>2</sup>; Efa DEPE<sup>2</sup>; Gustavo Romero GONÇALVES<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Ingá. Rodovia PR 317, 6114 – Parque Industrial 200, Maringá/PR. CEP: 87.035-510; <sup>2</sup>Médica veterinária Autônoma; <sup>3</sup>Curso de Medicina Veterinária (UNINGÁ). \*E-mail: [prof.gustavogoncalves@uninga.edu.br](mailto:prof.gustavogoncalves@uninga.edu.br)

### RESUMO

O acompanhamento reprodutivo da espécie equina tem sido cada vez mais aplicado na aplicade de diversos países, resultando em melhores índices reprodutivos para a espécie e em animais de linhagens selecionadas. Nos programas de transferência de embrião, a taxa de recuperação embrionária consiste em um parâmetro essencial a fim de verificar o sucesso da técnica. Por conseguinte, este trabalho propõe-se a avaliar as taxas de recuperação embrionária de éguas doadoras submetidas à inseminação artificial com sêmen refrigerado de maneira a complementar os dados relacionados ao assunto. Conforme os dados coletados durante a estação de monta de agosto de 2018 a fevereiro de 2019, obteve-se 129 lavados uterinos provenientes de 20 éguas e 83 embriões recuperados. Desse modo, a taxa de recuperação embrionária obtida foi de 64,34%. Diante dos dados apresentados neste estudo, conclui-se que a aplicabilidade da técnica de recuperação embrionária visando o uso do sêmen refrigerado na inseminação artificial de éguas se mostra promissora, pois permite o transporte de material genético de alto valor entre propriedades sem interferir drasticamente nos índices dos programas de reprodução.

**Palavras-chave:** Estação de monta, útero, manejo reprodutivo, reprodução equina, transferência de embriões.

### ABSTRACT

*The reproductive monitoring of the equine species has been increasingly applied in several countries, resulting in better reproductive rates for the species and in animals from selected strains. In embryo transfer programs, the embryo recovery rate is an essential parameter to verify the technique success. Therefore, the present work proposes to evaluate the embryo recovery rates of donor mares submitted to artificial insemination with refrigerated semen to complement the data related to the subject. According to the data collected during the breeding season for the period from August 2018 to February 2019, 129 uterine washes were obtained from 20 mares and 83 recovered embryos. Thus, the embryonic recovery rate obtained was 64.34%. Given the data presented in this study, it is concluded that the applicability of the embryonic recovery technique aiming at the use of refrigerated semen in artificial insemination of mares is promising, as it allows the transport of high-value genetic material between properties without interfering dramatically in breeding program indexes.*

**Keywords:** Mating season, uterus, reproductive management, equine reproduction, embryo transfer.

### INTRODUÇÃO

No passado, a criação da espécie equina apresentava maior notoriedade quase que exclusivamente nas atividades de tração ou transporte. Atualmente, destacam-se no setor de esporte, lazer e no âmbito da saúde e reabilitação de pessoas com comprometimentos emocional, cognitivo e motor (SILVA e GRUBITS, 2004).

No setor econômico, a equideocultura gera emprego para 3,2 milhões de pessoas envolvidas nesta categoria de forma direta ou indireta, movimentando em torno de R\$ 7,5 bilhões do agronegócio no Brasil (MAPA, 2016). Dessa forma, gera emprego a treinadores;

Recebido: jul./2022.

Publicado: mar./2023.

fomenta o setor de insumos e serviços para a criação, como medicamentos, selas, rações, acessórios, transporte e ferrageamento; promove o ensino e as pesquisas; além de envolver os serviços veterinários da área médica, cirúrgica e de reprodução (ALMEIDA e SILVA, 2010).

O acompanhamento reprodutivo da espécie equina tem sido cada vez mais realizado na realidade de diversos países, resultando em melhores índices reprodutivos para a espécie e obtenção de animais de linhagens selecionadas (VARELA BETTENCOURT *et al.*, 2018).

Ao longo dos anos, os cruzamentos entre raças foram efetuados com o auxílio de novas técnicas reprodutivas que permitiram o melhoramento da espécie. A primeira biotécnica reprodutiva a se destacar foi a inseminação artificial, seguida pela transferência de embriões, que atualmente se tornou a mais estudada e promissora (ARRUDA *et al.*, 2001). Os benefícios mais relevantes desta técnica incluem: a obtenção de potros provenientes de éguas impossibilitadas de manter a gestação por afecções reprodutivas, emprego de doadoras jovens e aquelas que estão em competição, além do aumento na produtividade de potros/ano com alto potencial genético (RIERA, 2009).

A técnica de transferência de embriões pode ser executada através da incisão pelo franco ou pelo procedimento não cirúrgico via transcervical (LIRA *et al.*, 2009). Atualmente, esta última é a técnica mais aplicada devido ao menor grau de invasividade e baixa complexidade, apresentando ótimos índices de sucesso (FLEURY *et al.*, 2007).

Nos programas de transferência de embrião, a taxa de recuperação embrionária consiste em um parâmetro essencial a fim de verificar o sucesso da técnica. Essa taxa é estabelecida pela porcentagem de embriões coletados por lavado uterino. Diversos fatores são responsáveis por variações nos resultados obtidos, dentre eles os mais influentes são: idade da doadora; condição uterina; condições de manejo e domínio da técnica executada pelo profissional (GOMES e GOMES, 2008). Segundo Jacob *et al.* (2019), o dia da coleta e a atividade física também podem influenciar as taxas de recuperação embrionária.

O uso do sêmen refrigerado é amplamente empregado na técnica de transferência de embriões, visto que na maioria das vezes o garanhão se encontra em propriedades distintas das éguas doadoras (LOSSINO; ALVARENGA, 2006). Adicionalmente, o sêmen refrigerado gera melhores resultados, na recuperação embrionária, que o sêmen congelado (SQUIRES *et al.*, 1999).

Em um estudo realizado por Moreira (2010), foi obtido uma taxa de fertilidade com o uso de sêmen refrigerado de 65%. Além disso, Sousa (2013) relata uma taxa de prenhez de 77% com uso de sêmen refrigerado, em um estudo com 56 éguas que analisava interferências de fatores, como: época do ano, ovário correspondente à ovulação, raça e idade.

Quando se trata do uso do sêmen congelado, como apresentado por Furst (2006), as taxas de prenhez caem consideravelmente, ficando em 54,68%. Ou, ainda, apresenta índice de prenhez inferior a 40% para o uso de sêmen congelado, utilizando-se dimetilformamida como crioprotetor, contra 70% no uso de sêmen fresco, segundo Oliveira *et al.* (2013). Esses resultados podem ser justificados através do trabalho de Almeida (2006), onde constatou-se alterações espermáticas devido ao processo de congelação.

O sucesso dos programas de transferência de embriões apresenta como base a obtenção de boas taxas de recuperação embrionária, sendo necessárias novas complementações sobre o assunto e abordagens associativas com outros trabalhos e resultados obtidos para evidenciar as melhores técnicas a serem aplicadas. Por conseguinte, este trabalho propõe-se a avaliar as taxas

de recuperação embrionária de éguas doadoras, submetidas à inseminação artificial com sêmen refrigerado, de maneira a complementar os dados relacionados ao assunto.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Para a realização deste estudo, foram utilizados dados referentes à estação de monta referente ao período de agosto de 2018 a fevereiro de 2019. Todas as éguas estavam em ótimo estado nutricional e de saúde, com idades variando entre dois a 12 anos e cíclicas.

As inseminações das éguas doadoras foram realizadas com sêmen obtido de garanhões da raça Mangalarga Marchador de diferentes propriedades, conforme o interesse do proprietário em realizar os cruzamentos entre os animais, sendo que todas as amostras de sêmen apresentaram motilidade acima de 70% e vigor acima de 3, conforme preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013).

### Lavados Uterinos

No total foram 129 lavados uterinos realizados em 20 éguas da raça Mangalarga Marchador. Os lavados uterinos foram realizados entre os dias sete e nove pós-ovulação, a partir do uso de uma sonda de lavagem uterina própria para a espécie. Para tanto, o animal era contido em tronco de contenção adequado para a espécie, em seguida era feita a antisepsia do períneo com solução de iodo degermante por três vezes seguidas, e, então, procedia-se com a lavagem do útero com 1 litro de solução Ringer com lactato por vez. O procedimento era realizado por três vezes a fim de melhor garantir a taxa de recuperação embrionária, assim como relatado por Gomes *et al.* (2014).

Após a lavagem uterina, o material obtido no filtro de coleta de embriões foi submetido à análise através de um estereomicroscópio a fim de confirmar a presença do embrião e de verificar sua qualidade. Após isso, o mesmo foi lavado e conservado em meio comercial próprio para embrião equino para posterior transferência.

### Análise Estatística

Após a execução do lavado, os dados de recuperação embrionária eram anotados em planilhas de controle e posteriormente submetidos à análise descritiva, por meio da qual foi possível constatar o percentual total das taxas de recuperação embrionária.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os dados coletados durante a estação de monta referente aos meses de agosto de 2018 a fevereiro de 2019, obteve-se um total de 129 lavados uterinos provenientes de 20 éguas e 83 embriões recuperados. Desse modo, a taxa de recuperação embrionária obtida foi de 64,34%. Os resultados deste estudo são compatíveis e estão entre o intervalo esperado para a taxa de recuperação embrionária no Brasil, que é de 45,5 a 83,3% conforme mencionado por Pastorello *et al.* (1996). Outros padrões aceitáveis foram estabelecidos por Mortensen (2009 apud LIRA *et al.*, 2009, p.136), apresentando uma taxa de recuperação embrionária de 63%.

Alguns trabalhos relacionados ao assunto obtiveram as seguintes taxas de recuperação embrionária: 50% (GOMES *et al.*, 2014), 73% (RAZ *et al.*, 2011) e 68,37% (LOSSINO e ALVARENGA, 2006). Nos estudos de Gorette *et al.* (2011), os resultados da recuperação de embriões foram de 70% para éguas tratadas com prostaglandina F2 alfa dois dias antes da colheita e de 80% para éguas tratadas com prostaglandina no dia da colheita embrionária. Squires *et al.* (1987) obtiveram 58,2% como taxa de recuperação embrionária para éguas com ovulação simples no sétimo dia após a ovulação.

Mccue (2011) constatou que éguas inseminadas com sêmen fresco geraram um ou mais embriões em 51,9% dos ciclos, na aplicação de inseminações com sêmen refrigerado obteve-se a recuperação de um ou mais embriões em 51,6% dos ciclos. Com o emprego do sêmen congelado as éguas produziram um ou mais embriões em somente 33,3 % dos ciclos. O autor verificou ainda que nas éguas inseminadas com sêmen refrigerado o diâmetro dos embriões foi maior que os embriões obtidos com o uso da inseminação com sêmen congelado.

As variações desses resultados são determinadas por um conjunto de fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal. Assim como relatado por Gomes e Gomes (2008), o dia da coleta, as características intrínsecas à doadora, a idade, a condição uterina, o domínio da técnica aplicada pelo profissional, o manejo reprodutivo associado com a adequada nutrição, a sanidade, o controle folicular, a qualidade e a forma de acondicionamento do sêmen, constituem-se como importantes fatores influentes na taxa de recuperação embrionária.

Neste trabalho, os lavados uterinos foram realizados nos dias sete a nove pós-ovulação, não sendo avaliada a influência dos dias da coleta nas taxas de recuperação embrionária, observou-se apenas diferenças no tamanho dos embriões ao decorrer dos dias, como foi descrito também por Fleury (2001).

O dia da coleta de embriões pode ser estabelecido considerando-se o seu destino. Embriões que serão transferidos logo após a coleta ou mantidos por pouco tempo refrigerados são na maioria das vezes recuperados no sétimo ou oitavo dia após a ovulação, no entanto, quando há a necessidade de congelamento, esses devem ser coletados no sexto dia após a ovulação, pois apresentam maior viabilidade após o processo de congelamento e descongelamento (SQUIRES *et al.*, 1999).

A idade das doadoras, embora não avaliada neste trabalho, pode exercer influência sobre a taxa de recuperação embrionária, como constatado por Jacob *et al.* (2019) em seu estudo, o qual revela uma taxa de recuperação em éguas de três a dez anos de cerca de 70%, enquanto, em éguas de 13 a 26 anos a taxa reduziu para 54,9%. Tal fato pode estar ligado a distúrbios na ovulação e maturação oocitária, em conjunto ou não, além de endometrite crônica e distúrbios hormonais, como deficiência de hormônio foliculo estimulante, hormônio luteinizante, estradiol e tiroxina (GOMES e GOMES, 2008).

No que se refere à nutrição das fêmeas equinas, não se avaliou a influência do escore corporal na recuperação embrionária. No entanto, outros autores correlacionaram a influência desse fator no tamanho do folículo dominante ovulatório, assim como afirma Rodrigues (2011), onde éguas com escore corporal entre 6,5 e 7,5 apresentaram folículos com maior diâmetro e, conseqüentemente, embriões mais saudáveis.

O critério para escolha do embrião foi a classificação deste como mostrado por McKinnon e Siqueiras (1988 apud LIRA *et al.*, 2009, p.136). Onde o embrião é classificado em graus de 1 a 5, sendo utilizados nesse estudo embriões com grau 1 e 2. Os embriões de grau 1

são classificados como excelentes, apresentam tamanho, cor e textura uniformes e são esféricos. Os de grau 2 possuem pequenas imperfeições com poucos blastômeros extrusos, possuem forma irregular ou separação de trofoblasto.

As variações climáticas podem exercer influência sobre os resultados nas taxas de recuperação embrionária. Gomes e Gomes (2008) observaram que longos períodos de estiagem são capazes de prorrogar o início da estação de monta, além disso meses com chuvas acima da média exerceram influência negativa nos índices de recuperação embrionária.

Camargo *et al.* (2013) compararam a taxa de recuperação embrionária entre éguas que ciclaram na estação de monta e fora da estação reprodutiva, apresentando os respectivos índices de recuperação embrionária 58,5 e 51,1%; abrangendo a estação de monta o intervalo entre os meses de setembro a fevereiro e o período fora da estação reprodutiva entre os meses de março a agosto. Assim, é possível intensificar os índices reprodutivos com o uso de colheitas a partir das éguas que ciclam fora da estação reprodutiva.

A forma de acondicionamento do sêmen expressa significativas interferências nas taxas de recuperação embrionária. Além da dose suficiente e da qualidade comprovada do sêmen, a forma de acondicionamento é crucial para resultados satisfatórios. Losinno e Alvarenga (2006) definem a técnica de transporte de sêmen como um dos pontos mais importantes para o sucesso dos programas de transferência de embriões.

De acordo com Squires *et al.* (1999), o uso do sêmen fresco é mais efetivo que o refrigerado e o congelado. Nos estudos de Camargo *et al.* (2013), a taxa de recuperação embrionária com o uso de sêmen fresco e refrigerado foi de 62,1% e 62,2%, respectivamente.

Jasko (1994 apud OLIVEIRA *et al.*, 2013, p.24) afirma que a criopreservação bem realizada, minimiza os efeitos deletérios ao sêmen, como o choque térmico, a formação de cristais de gelo e a desidratação celular. No entanto, o uso do sêmen congelado ainda é restrito, pois existe uma grande variação nos índices reprodutivos com o seu uso e resultados inconsistentes (GOMES e GOMES, 2009). Para minimizar esses efeitos são adicionadas ao meio de congelação substâncias denominadas crioprotetores, os quais podem ser penetrantes e não penetrantes. Quando se trata de sêmen equino, o crioprotetor penetrante mais utilizado é o glicerol (FERREIRA, 2008).

Alvarenga *et al.* (1996) pôde constatar a influência racial dos garanhões no processo de criopreservação do sêmen, concluindo que os maiores entraves estão relacionados às raças Mangalarga Marchador e Mangalarga Paulista, que apresentaram insatisfatórios padrões de motilidade após o descongelamento do sêmen. Nesse cenário, é essencial novos estudos e experimentos com novas substâncias crioprotetoras para otimizar a fertilidade espermática após o descongelamento. Assim, com base neste trabalho, a aplicabilidade do sêmen refrigerado é capaz de contribuir de forma satisfatória nos resultados reprodutivos dos programas de transferência de embriões até que sejam desenvolvidas novas técnicas e substâncias para o congelamento de sêmen.

Segundo Losinno e Alvarenga (2006), o uso do sêmen refrigerado tem se tornado uma necessidade e tem sido empregado de forma crescente, isso se justifica pelo fato dos garanhões pertencerem a vários proprietários ou a centrais de reprodução, sendo necessário o transporte do sêmen até o local de inseminação das éguas. Os autores mencionam que as falhas mais recorrentes relacionadas à influência do sêmen nas taxas de recuperação embrionária são: falhas durante o processamento do sêmen, temperaturas e sistemas de transporte inadequados,

dificuldade em identificar as limitações dos garanhões, momento e frequência das inseminações artificiais inadequadas. As boas práticas que influenciam os índices reprodutivos incluem: adequados protocolos de coleta de sêmen para cada garanhão, utilização de melhores diluentes, correlação entre o tempo e a forma de transporte mais adequada e instituição da inseminação mais próxima possível da ovulação.

## CONCLUSÕES

Diante dos dados apresentados neste estudo, conclui-se que a aplicabilidade da técnica de recuperação embrionária visando o uso do sêmen refrigerado na inseminação artificial de éguas apresenta boas taxas, servindo como auxílio na otimização da atividade reprodutiva da espécie.

## REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; BURATINI, J.J. **The effect of breed and spermatoc parameters over equine semen freezability**. In: Symposium on Stallion Semen, Amersfoort. Proceedings... Amersfoort, SSS. p.82. 1996.
- ALMEIDA, F.Q.; SILVA, V.P. Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, supl. especial, p.119-129, 2010.
- ALMEIDA, J.L. **Efeito de Diferentes Concentrações de Plasma Seminal na Criopreservação do Sêmen Equino**, 2006. 90p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade de Brasília, 2006.
- ARRUDA, R.P.D.; 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 ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos? **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.5, p.233-239, 2001.
- CAMARGO, C.E.; WEISS, R.R.; KOZICKI, L.E.; DUARTE, M.P.; DUARTE, M.C.; BERTOL, M.A.F.; GAIEVSKI, F.R.; BASTOS, G.M. Aspectos relacionados com a recuperação embrionária em éguas da raça brasileiro de hipismo, utilizadas em programa comercial de transferência de embrião. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, n.1, p.74-83, 2013.
- CBRA. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte, 2013.
- FERREIRA, H.N. **Efeito da exposição aos crioprotetores glicerol e metilformamida sobre a viabilidade e fertilidade do sêmen equino**, 2008. 66p. (Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de mestrado em medicina veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2008.
- FLEURY, P.D.C.; ALONSO, M.A.; SOUSA, F.A.C.D.; ANDRADE, A.F.C.D.; ARRUDA, R.P.D. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características

reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.27-31, 2007.

FLEURY, J.J.; PINTO, A.J.; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P.D. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. Braz. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.1, p.29-33, 2001.

FÜRST, R. **Efeito de diferentes tempos de equilíbrio, taxas de congelamento e concentrações espermáticas na fertilidade do sêmen equino**, 2006. 114p. (Tese de Doutorado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

GOMES, G M; GOMES, L.P.M. Fatores que influenciam a produção de embriões em éguas doadoras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, Supl. 2, p.199-206, 2008.

GOMES, M.L.P.; GAVIOLI, D.; JACOB, J.F.; CRESPILO, A.M.; CARDOSO, C.E.; GOMES, G.M. Taxa de gestação de embriões equinos mantidos em dois meios comerciais diferentes de manutenção pós-transferência de embriões. **Revista Saúde**, v.5, n.1/2, p.23-27, 2014.

GOMES, R.G.; DA SILVA, C.B.; BARREIRO, T.R.R.; SENEDA, M.M. Taxa de recuperação embrionária em éguas submetidas à caminhada com útero repleto de Ringer Lactato. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.12, n.2, p.121-126, 2014.

GORETTI, R.G.; ARAÚJO, R.R.; ROCHA FILHO, A.N.; ARAÚJO, G.H.M.; LOPES, E.P.; GUIMARÃES, J.D. Effects of timing of induced luteolysis in embryo donor mares on reproductive performance and pregnancy rate in recipient mares. **Theriogenology**, v.75, n.6, p.1170-1174, 2011.

JACOB, J.C.F.; GUERSON, Y.B.; FERRAZ, P.J. Como melhorar os índices reprodutivos em um programa de transferência de embrião equino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.43, n.2, p.222-228, 2019.

LIRA, R.A; PEIXOTO, G.C.X; SILVA, A.R. Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinária Brasília**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.

LOSINNO, L.; AVARENGA, M.A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl. 1, p.39-49, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do complexo do agronegócio do cavalo**: Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>. Acesso em: 14 fev. 2023.

MCCUE, P.M. Transferência de embriões em equinos: recuperação do embrião. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.9, n.3, p.94-98, 2011.

MOREIRA, J.C.G.A. **Inseminação artificial em éguas: estudo da utilização de uma dose reduzida de sêmen congelado em diferentes locais de deposição**, 2010. 65p. (Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade de Lisboa, Portugal, 2010.

OLIVEIRA, R.A.; RUBIN, M.I.B.; SILVA, C.A.M. Índice de prenhez com sêmen congelado de garanhões da raça crioula usando glicerol ou dimetilformamida como crioprotetores. **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.4, p.488-494, 2013.

PASTORELLO, M.; MEIRA, C.; FLEURY, J.J.; DUARTE, M.C.G. Transferência não cirúrgica de embriões em éguas de hipismo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.24, supl., p.212, 1996. (Resumo)

RAZ, T.; CARLEY, S.D.; GREEN, J.M.; CARD, C.E. Evaluation of two oestrus synchronization regimens in eFSH-treated donor mares. **The Veterinary Journal**, v.188, n.1, p.105-109, 2011.

RIERA, F.L. Equine embryo transfer. In: SAMPER, J.C. **Equine breeding and management and artificial insemination**. Saunders Company, 2. ed. Pennsylvania, 2009. p.185-199.

RODRIGUES, P.G.; RAYMUNDO, C.D.M.; SOUZA, J.C.D.; MIRANDA, M.C.M.G.; REZENDE, A.S.C.D. Gordura corporal e eficiência reprodutiva em éguas doadoras de embrião Mangalarga Marchador. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.5, p.1002-1008, 2011.

SILVA, C.H; GRUBITS, S. Discussão sobre o efeito positivo da equoterapia em crianças cegas. **Psic: Revista da Vetor Editora**, v.5, n.2, p.6-13, 2004.

SOUSA, J.C.L.T.P. **Influência da Raça, Altura do Ano, Idade e Ovário Ovulatório Sobre a Taxa de Gestação em Éguas Inseminadas com Sêmen Refrigerado**, 2013. 57p. (Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2013.

SQUIRES, E.L.; MCCLAIN, M.G.; GINTHER, O. J.; MCKINNON, A.O. Spontaneous multiple ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo collections. **Theriogenology**, v.28, n.5, p.609-613, 1987.

SQUIRES, E.L.; MCCUE, P.M.; VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.51, n.1, p.91-104, 1999.

VARELA BETTENCOURT, E.M.; ANTUNES, L.; GONÇALVES, A.R.; BRANCO, S.; ROCHA, A. **Reprodução em equinos: Manual Prático**. 1. ed. Évora: Universidade de Évora, 2018.