

## **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS E OS FATORES RELACIONADOS AS TAXAS DE PREENHEZ**

*Embryo transfer in horses and the factors related pregnancy rates*

Daniela Fernandez Montechiesi

### **RESUMO**

A transferência de embrião na espécie equina é uma biotécnica de suma importância para a indústria do cavalo. Uma vez que a versatilidade desta espécie é o principal fator responsável pelo crescimento mundial da equideocultura, esta biotecnologia possibilita o maior desenvolvimento do setor através do ganho na eficiência reprodutiva e no incremento do melhoramento genético, favorecendo o aprimoramento das raças e seus cruzamentos.

### **ABSTRACT**

The embryo transfer in the equine species is a highly important technique for the horse industry. The versatility of this species is the main factor for the worldwide growth of the horse breeding. Thus, this biotechnology makes possible a largest development of this activity through the earnings in the reproductive efficiency and in the increment of the genetic improvement, which leads to the improvement of the breeding.

Palavras chave: transferência de embrião, equinos, taxas de prenhez

Key words: embryo transfer, horses, pregnancy rates

### **INTRODUÇÃO**

A equideocultura atualmente exerce um importante papel na economia mundial como fonte geradora de empregos, sendo um mercado de constante crescimento. Com o mercado equestre bastante aquecido, cresce a procura por animais de genética superior e com bom desempenho esportivo. Conseqüentemente, há um aumento na procura das técnicas de reprodução assistida, pois otimizam as produções e contribuem com o

melhoramento genético animal. Dentre essas técnicas, a transferência de embriões (TE) é a mais utilizada em todo o mundo e seu desenvolvimento em equinos teve um aumento considerável nas duas últimas décadas.

O presente trabalho tem por objetivo abordar aspectos relacionados à aplicação da transferência de embrião na espécie equina e aos fatores relacionados às taxas de recuperação embrionária e de prenhez nas receptoras.

### **Transferência de embrião em equinos**

O princípio de TE consiste na coleta de um ou mais embriões de uma égua de melhor potencial genético (doadora) coberta ou inseminada com um garanhão geneticamente superior, e a transferência desse embrião para o útero de uma égua receptora que levará a gestação a termo. A técnica hoje em dia é realizada através de um lavado uterino transcervical, de 6 a 9 dias após a ovulação da doadora e transferido de maneira não cirúrgica a uma receptora previamente sincronizada. A constituição genética do potro e, portanto suas características, são determinadas pela égua que produziu o óvulo e pelo garanhão cujo espermatozoide foi utilizado para fertilizá-lo (Davies & Morel, 2003).

### **Histórico**

As primeiras transferências de embriões em equinos bem sucedidas datam dos anos 70. Allen & Rowson (1972), em Cambridge, Inglaterra, realizaram a primeira transferência entre burros e cavalos, onde os embriões eram coletados e transferidos utilizando-se a técnica cirúrgica (Allen, 2005). Os primeiros potros nascidos de TE foram no Japão em 1973, e em Cambridge, Inglaterra em 1975, frutos dos trabalhos de Oguri e de Allen & Rowson, respectivamente (Gordon, 2008). Oguri & Tsutsumi (1980), no Japão, realizaram a técnica de transferência não cirúrgica em éguas pela primeira vez. Desde então a técnica começou a ser difundida em diversos países, sendo considerada uma das biotécnicas mais utilizadas na reprodução assistida de equinos.

No Brasil, teve seu marco inicial em 1987, onde os grandes responsáveis foram o Médico Veterinário João Junqueira Fleury pelo método cirúrgico, e Cezinande Meira e Marc Henry, pelo método não-cirúrgico (Fleury et al., 1987; Meira & Henry, 1991).

### **Seleção de doadoras**

Na seleção da égua doadora devem ser considerados alguns fatores, dos quais podemos destacar o histórico reprodutivo, a fertilidade, as diretrizes do registro da raça, o valor genético, o número de gestações desejadas (Squires et al., 1999), idade, conformação da vulva e condição uterina (Squires&Seidel, 1995). O procedimento de TE exige um investimento elevado, por isso sua utilização é normalmente restrita a éguas de qualidade superior, com características que se acredita serem altamente herdáveis (Riera, 2009).

Doadoras com histórico de estabelecerem gestações e depois sofrerem aborto são melhores candidatas ao programa de TE do que éguas que retornam repetidamente ao cio após a inseminação, normalmente por apresentarem endometrite crônica degenerativa, o que dificulta a manutenção e desenvolvimento embrionário adequado, culminando em perda embrionária, porém com boa fertilidade (McKinnon&Squires, 2007).

### **Fatores que influenciam na taxa de recuperação embrionária**

A taxa de recuperação embrionária por égua é a porcentagem de embriões coletados por lavado uterino. A maioria dos embriões recuperados são oriundos de ovulações simples espontâneas, resultando em uma taxa de 50% de embrião recuperado por tentativa (Squires, 2005). A taxa de recuperação embrionária pode ser influenciada por vários fatores, como:

#### **Dia da colheita**

Geralmente a recuperação embrionária é realizada entre os dias 7 (D7) e 8 (D8) após a ovulação (D0), exceto quando se deseja congelar o embrião. Neste caso, a recuperação embrionária deverá ser realizada no 6º dia (D6) após a ovulação, tendo um decréscimo de 10% a 15% no índice de recuperação embrionária (Squires&Seidel, 1995). O D8 é considerado o dia ideal para a coleta, entretanto recomenda-se o D6 ou D7 para doadoras que apresentam infecção uterina e D9 para éguas idosas ou que foram inseminadas com sêmen congelado (McKinnon&Squires, 2007).

#### **A doadora**

Características como condição uterina e idade são fatores importantes e tem alta influência na taxa de recuperação embrionária. As éguas idosas podem constituir uma grande parte do contingente de doadoras de embriões (Alonso et al., 2005).

Em relação à taxa de recuperação de embriões, observa-se uma queda de acordo com a idade da doadora. Em éguas jovens (2 a 4 anos) a média de recuperação embrionária é de 85%; em éguas adultas (4 a 18 anos) de 64,4% e para éguas velhas de 24,1% (Squires&Seidel, 1995). Éguas com menos de 12 anos produzem 10% mais embriões do que éguas com mais de 18 anos (Uliani et al., 2010). As falhas reprodutivas observadas em éguas velhas estão normalmente associadas à degeneração do oócito, distúrbios da ovulação e maturação oocitária associadas ou não à endometrite crônica, bem como distúrbios hormonais.

### **Manejo reprodutivo**

O controle folicular é fundamental em um programa de TE e deve ser realizado diariamente através da ultrassonografia para se detectar com exatidão os momentos da inseminação artificial (IA) e da ovulação. A monta natural ou inseminação artificial com sêmen fresco deve ser realizada a cada 48 horas; para o sêmen resfriado a cada 24 horas e preferencialmente utilizar sêmen com até 24 horas de refrigeração. Sempre que possível, deve-se utilizar indutores de ovulação, pois desta forma apenas uma (IA) é necessária.

Com relação à sanidade, doadoras e receptoras necessitam ser vacinadas e vermifugadas regularmente. O exame detalhado através da ultrassonografia é necessário para detectar a ovulação, bem como avaliar se há resquício ou excesso de resposta inflamatória (fluido uterino) após a IA (Riera, 2000).

### **Garanhão**

Geralmente se observa uma grande influência do garanhão em relação à recuperação embrionária, visto que alguns animais apresentam sêmen de qualidade e fertilidade melhor quando comparados a outros.

Quando se utiliza um garanhão de fertilidade conhecida baixa, recomenda-se esclarecer desde o início ao proprietário da doadora que os índices esperados poderão ser abaixo da média em relação a um garanhão com boa qualidade de sêmen. Se não houver conhecimento prévio da fertilidade do garanhão e por ventura ocorrerem dois lavados negativos sucessivos, recomenda-se substituir o garanhão para se eliminar a suspeita de que o reprodutor em questão seja o problema. Outro fator de grande influência na

fertilidade se refere ao sistema que se encontra acondicionado o sêmen que será utilizado para inseminação das doadoras (Fleury et al., 1997).

### **Número de ovulações**

Se a doadora apresentar mais do que uma ovulação, as chances de recuperação embrionária aumentam. Sabe-se que a chance de recuperar dois embriões de uma égua que apresentou dupla ovulação é maior quando as ovulações ocorrerem em ovários diferentes (ovulações bilaterais) comparadas a ovulações em um só ovário (ovulações unilaterais).

### **Seleção e manejo da receptora**

Uma boa seleção vai determinar a qualidade do plantel de receptoras, enquanto que um manejo ideal fornecerá o ambiente adequado para a maximização da taxa de prenhez e redução da perda embrionária (Alonso, 2008).

Segundo Riera (2009), boas receptoras devem atender a todos os seguintes requisitos: (1) ter boa saúde e condição corporal, (2) ser cabresteadas e fáceis de manusear, (3) ter tamanho semelhante ao da doadora, (4) ter entre 4 e 10 anos de idade, (5) ter boas características ultrassonográficas e biópsia uterina grau I ou IIA, (6) apresentar ciclos regulares.

O primeiro critério de seleção é a possibilidade de manejo do animal. Uma receptora agitada, não manejável representa um risco para os profissionais e para o embrião que receberá. Portanto, animais cabresteados e possíveis de serem manejados devem ser escolhidos (McKinnon & Squires, 2007).

Em relação à idade, o ideal são éguas entre 3 a 10 anos (Squires & Seidel, 1995; Squires et al., 1999), visto que a idade é um importante fator predisponente para a degeneração endometrial, que pode comprometer a habilidade de manter a gestação (Ricketts & Alonso, 1991; Morris & Allen, 2002). De fato, receptoras com mais de 10 anos aparentemente tem maior risco de sofrer perda embrionária (Carnevale et al., 2000). Ricketts & Alonso (1991) observaram que há um aumento na incidência de alteração endometrial em éguas mais velhas, incluindo aquelas que nunca foram cobertas. A presença de cistos reflete senilidade uterina e normalmente estão presentes acompanhando alterações endometriais. Stanton et al. (2004) encontraram que maioria das

éguas que apresentava cistos tinha idade superior a 10 anos, 73,1% tinham mais de 14 anos, e apenas 29,1% tinham entre 7 e 14 anos. Além disso, quanto mais jovem o animal adquirido, mais tempo ele permanecerá no plantel, e seu custo será diluído pelos anos (Losinno& Alvarenga, 2006).

Uma série de estudos demonstraram que a discrepância entre o tamanho genético do embrião e a receptora afeta em vários aspectos o desenvolvimento intrauterino e pós natal. Tamanho materno inadequado levará a um aumento ou diminuição do crescimento do feto (Allen et al., 2002).

### **Manejo**

Sabe-se que o manejo nutricional afeta as taxas de prenhez após a transferência. As éguas devem estar ganhando peso durante a estação de monta. As receptoras que recebem um embrião devem ser colocadas em um pasto diferente e receberem concentrado de melhor qualidade. As taxas de prenhez e perda embrionária podem ser dramaticamente afetadas em receptoras que estiverem perdendo peso, mesmo com boa condição corporal (Riera, 2009). Os piquetes devem ter baixa lotação, fácil acesso à água, boas pastagens. As mudanças de grupos de animais não devem ser feitas individualmente, para evitar problemas de hierarquia.

### **CONCLUSÃO**

A transferência de embriões é hoje em dia a técnica de reprodução assistida mais utilizada em todo o mundo e seu desenvolvimento em equinos teve um aumento considerável nas duas últimas décadas. O Brasil ocupa lugar de destaque no emprego da TE juntamente com a Argentina e os Estados Unidos, sendo um dos líderes mundiais. Atualmente é realizada de maneira não cirúrgica, sendo um procedimento relativamente simples e quando realizado de maneira correta, ótimas taxas de recuperação e de prenhez são atingidas.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. *Animal Breed Abstract*, v.40, p.484-487, 1972.

ALLEN W. R. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reproduction in Domestic Animals*, Berlin, v.40, n.4, p.310-329, 2005.

ALLEN, W.R.; WILSHER, S.;TURNBULL, C.; STEWART, F.; OUSEY, J.; ROSSDALE, P.D.; FOWDEN, A.L. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*, 2002;123;445-53.

ALONSO, M. A.; FLEURY, P. D. C.; NEVES NETO, J. R.; MACHADO, M. S. Efeito da idade da égua doadora na taxa de perda embrionária. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33 (Supl 1), p.204, 2005.

ALONSO, M. A. Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião. 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Botucatu – SP.

CARNEVALE, E. M.; RAMIREZ, E. L.; SQUIRES, E. L. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology*, v.54, p.965-979, 2000.

DAVIES MOREL, M.C.G. Selection of the mare and stallion for breeding. In \_\_\_\_\_. *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. Wallingford, CAB International, 2003. Cap 12, p.105-130.

FLEURY, J. J.; ALVARENGA, M. A.; FIGUEIREDO, J. B.; PAPA, F. O. Transferência de embriões em equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Porto Alegre*, v.39, n.3, p.485-487, 1987.

FLEURY, J.J. PINTO, A.J., ARRUDA, R.P., MADUREIRA, E.H., LIMA, C.G. Efeitos do garanhão e técnica reprodutiva sobre os índices de recuperação e gestação em um programa de transferência de embriões em equinos da raça Mangalarga. *Anais... Arq. Fac. Vet.. UFRGS*, v.25, n.1, p.226,1997.

GORDON, I. Transferencia de Embriones y Biotecnologias Asociadas en la Especie Equina. In G. Palma, *Biotecnología de la Reproducción*. (3ª edição). (pp. 589 – 624). Mar de Plata: 2008. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Ediciones.

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*, 2006; v.34; p.39-49.
- McKINNON, A.O.; SQUIRES, E. L. Embryo transfer and related technologies. In: *Current therapy equine reproduction*. Saunders Elsevier, 2007, p.319-334.
- MEIRA, C.; HENRY, M. Evolution of two non-surgical equine embryo transfer methods. *J. Reprod. Fertil. Colchester*, supl.44, p.712-713, 1991.
- MORRIS, L.H.; ALLEN, W.R. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Vet J*, 2002; v.34; p.51-60.
- OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Nonsurgical transfer of equine embryos. *Arch. Androl.*, v.5, p.108, 1980.
- RICKETTS, S.W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine Vet J*, 1991; v.23; p.189-92.
- RIERA, F. L. Equine embryo transfer. In: SAMPER, J. C. *Equine breeding management and artificial insemination*, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. p.185-199.
- SQUIRES, E. L.; SEIDEL, G. E. Collection and transfer of equine embryos. Fort Collins: Colorado State University. *Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory*, n.8, 1995, n.08, p.24-31.
- SQUIRES, E.L.; MCCUE, P.M.; VANDERWALL, D.K. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 1999; v.51; p.91-104.
- SQUIRES, E. L. Perspectiva para o uso de biotecnologias na reprodução equina. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 33 (Supl 1), p.69-82, 2005.
- STANTON, M.B.; STEINER, J.B.; PUGH, D.G. Endometrial cysts in the mare. *Journal of Equine Veterinary Sciences*, 2004; v.24; p.14-19.
- ULIANI, R. C.; RAMIRES NETO, C.; DELL'AQUA, J. R.; PESSOA, M. A.; CAMARGO, A. L.; ALVARENGA, R.; ALVERENGA, M. A. Effect of mare breed and age on embryo transfer efficiency, *Animal Reproduction Science*, 2010; 121S; p.303-304.