



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

---

**A UTILIZAÇÃO DE MULAS ACÍCLICAS COMO RECEPTORAS DE  
EMBRIÃO EQUINO**

Paula Amorim Tavares Favilla

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA – DF  
DEZEMBRO/2017



**PAULA AMORIM TAVARES FAVILLA**

---

**A UTILIZAÇÃO DE MULAS ACÍCLICAS COMO RECEPTORAS DE  
EMBRIÃO EQUINO**

Trabalho de conclusão de curso  
de graduação em Medicina Veterinária  
apresentado junto à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília

**Orientador:** Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA -DF  
DEZEMBRO/2017

Favilla, Paula Amorim Tavares

A utilização de mulas acíclicas como receptoras de embrião equino. / Paula Amorim Tavares Favilla; orientação de Rodrigo Arruda de Oliveira. – Brasília, 2017.

30p.: il.

Trabalho de conclusão de curso de graduação - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2017.

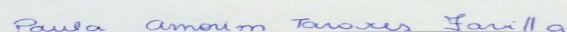
### **Cessão de Direitos**

Nome do Autor: Paula Amorim Tavares Favilla

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: A utilização de mulas acíclicas como receptoras de embrião equino.

Ano: 2017

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.



Paula Amorim Tavares Favilla

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Nome do autor: FAVILLA, Paula Amorim Tavares

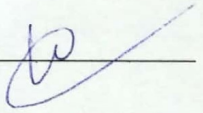
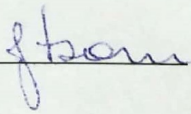
Título: A utilização de mulas acíclicas como receptoras de embrião equino.

Trabalho de conclusão do curso de  
graduação em Medicina Veterinária  
apresentado junto à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília

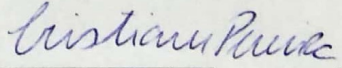
Aprovado em: 05/12/2017

Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: AprovadaAssinatura: Profª. Dra. Juliana Targino Silva Almeida e Macedo Instituição: Universidade de  
BrasíliaJulgamento: AprovadaAssinatura: Profª. Ms. Cristiane da Silva Pereira  
Brasília

Instituição: Universidade de

Julgamento: AprovadaAssinatura: 

## AGRADECIMENTOS

E de repente é isso! Acabou!

Tudo que eu vivi foi pra esse momento.. foram oito anos e meio de batalhas diárias. Um ano e meio de cursinho com sete de faculdade. Tudo pra viver isso. O hoje. O formar. O encerrar essa fase tão linda e louca que é a graduação. E pra falar a verdade, começou muito antes..

Começou no sonho de moleca, no primeiro gato de rua resgatado quando eu tinha 7 anos, começou quando os meus pais deixavam eu e meus irmãos pegarmos ovos de lagartixas e colocar num aquário vazio em casa, começou também no dia que eu enfiei a mão na boca de um cachorro na praia porque ele pegou meu brinquedo. Todo o começo pra viver esse fim. E que fim...

Me sinto muito agraciada. Tive a sorte de nascer na melhor família que poderia existir, com as pessoas mais humanas, sensíveis e motivadoras que eu já vi. Com um pai e uma mãe incríveis que sempre apoiaram os sonhos e as conquistas e que se dobraram de todas as formas possíveis para que eu pudesse seguir a minha vocação. Tive a sorte de ter dois irmãos maravilhosos e uma cunhada que é minha irmã. Tenho a sorte. Tenho a sorte de ter um companheiro extraordinário.

Sinceramente, tenho a maior sorte do mundo. Ando com os melhores.

Tenho os melhores professores, e exemplos de profissionais. Tenho os melhores amigos também, quem diria? Que sina maluca de ter tantas pessoas sensacionais ao meu lado. Como pode isso?

Esse Mateus (que é a minha monografia e encerramento de curso) foi parido e embalado por muitas mãos carinhosas, e eu não poderia ser mais grata! Agradeço de todo o coração. Sei que ainda tô longe de ser tudo que posso ser, mas se caminho um pouco tímida e quase sempre espalhafatosa é tudo culpa de quem está comigo. De quem me empurra. De todos vocês que me motivam e que me fazem ver como essa vida é boa.

A verdade é que a melhor parte de mim vem de vocês.

Eu não poderia ser mais grata!

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1 AS MULAS .....	12
2.2 PROTOCOLOS HORMONAIIS .....	13
2.2.1 PROTOCOLOS HORMONAIIS UTILIZANDO PROGESTÁGENOS.....	15
2.2.2 PROTOCOLOS HORMONAIIS UTILIZANDO ESTRÓGENOS E PROGESTÁGENOS .....	19
3. CONCLUSÃO .....	25
4. REFERÊNCIAS .....	26
5. PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO .....	28
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	30

**LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1 - Protocolos realizados utilizando progestágenos .....	18
QUADRO 2 - Protocolos realizados utilizando estrógenos e progestágenos.....	23
QUADRO 3 - Atividades acompanhadas durante o estágio curricular com o médico veterinário Francisco José Gonçalves Oliveira, no período de 01/08/2017 à 27/10/2017.....	29

**LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES**

BE - benzoato de estradiol

CE - cipionato de estradiol

D – dia

DOV – dia de ovulação

DTE - dia da transferência de embrião

G1 – grupo 1

G2 – grupo 2

G3 – grupo 3

LA - longa ação

IM - intra muscular

OVH – ovariectomizadas

OV - ovulação

P4 – progesterona

SC - subcutâneo

TE - transferência de embrião



## RESUMO

Os muares são amplamente distribuídos pelo Brasil devido a fatores como força, resistência e rusticidade, sendo que tais características foram de grande importância para a inserção desses animais no mercado e para o desbravamento do país no século 19. Com o crescente mercado equino de reprodução, essa grande oferta de mulas pode ser vista como uma alternativa à utilização de éguas como receptoras de embriões, desde que seja realizado um protocolo hormonal previamente escolhido. Entre os protocolos citados na literatura, o mais comum consiste da utilização de mulas acíclicas aliado à aplicação de estradiol ou seus análogos, seguida de progesterona ou seus análogos até o centésimo dia de gestação. Além de adicionar valor comercial a essa espécie, a utilização de híbridos na reprodução pode ser uma opção em caso de escassez de éguas passíveis de serem utilizadas como receptoras.

**Palavras - Chaves:** equinos, muares, protocolos, reprodução, terapia hormonal, transferência de embrião.

## THE USE OF ACYCLIC MULES AS RECIPIENTS OF EQUINE EMBRYOS

### ABSTRACT

Mules are widely used throughout Brazil due to their strength and hardiness. Such characteristics were very important in the introduction of these animals in the market and for the exploration of the country in the nineteenth century. With the growth of the equine reproduction market, this large supply of mules can be seen as an alternative to the use of mares as embryo recipients, since this is feasible provided that a previously chosen hormonal protocol is performed. Among the protocols cited in the literature, the most utilized consist of acyclic mules linked to the application of estradiol or its equivalent, followed by progesterone or its equivalent, up to the hundredth day of gestation. In addition to adding commercial value to this species, the use of hybrids in reproduction may be an option in the event of a shortage of mares that can be used as recipients.

**Keywords:** embryo transfer, equine, hormonal therapy, mules, protocols, reproduction.

## 1. INTRODUÇÃO

Os muares foram introduzidos no Brasil nos tempos coloniais e durante o século 19, tiveram seu ápice, tendo papel fundamental, já que o Brasil daquela época foi movido pelos lombos de bestas, uma vez que eram resistentes, bem adaptados e com alta capacidade de carga. No Brasil imperial, estes animais foram a base para o escoamento das culturas mais valiosas, tais como: café e cana-de-açúcar e também eram de grande importância para o abastecimento das cidades. Criadas prevalentemente na Argentina e chegando ao Brasil via Rio Grande do Sul, as mulas tinham como principal destino províncias de São Paulo e Minas Gerais. Este caminho traçado logo virou uma rota, chamada o Caminho das Tropas, que ligava as regiões sul e centro-sul, onde posteriormente foi criada uma unidade fiscal em São Paulo que recolhia os tributos incidentes sobre a entrada de animais, gerando enormes quantias arrecadadas para os cofres provinciais (SUPRINYAK, 2008).

Com o passar do tempo, a utilização de força animal no Brasil foi diminuindo e dando espaço às máquinas. Contudo, essa mudança não prejudicou a indústria equídea brasileira, que possui aproximadamente um rebanho efetivo de cerca de 5,5 milhões de equinos, 1,3 milhões de muares e 1,1 milhões de jumentos, movimentando cerca de R\$ 7,5 bilhões de reais e gerando por volta de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (ALMEIDA & SILVA, 2010).

Uma significativa ferramenta aplicada a favor da equideocultura é a utilização de algumas biotécnicas da reprodução, que consistem no melhoramento genético dos animais por meio de métodos como inseminação artificial, transferência de embrião (TE), e a produção *in vitro* de embriões (CANISSO et al., 2008).

Com a utilização da técnica de transferências de embrião surgiu um novo problema: a falta de receptoras viáveis para serem utilizadas na TE, já que são sincronizadas duas ou mais receptoras para cada doadora. A utilização de mulas acíclicas como receptoras seria uma boa opção para desafogar esse gargalo comum na TE. De acordo com DAVIES et al. (1985) apesar de serem em quase

sua totalidade inférteis, as mulas possuem sistema reprodutor completo e compatível com a gestação, além de possuírem atividade ovariana e produção hormonal, e, através da utilização de um protocolo hormonal, as mulas acíclicas se tornam aptas a serem utilizadas como receptoras de embrião equino.

Na década de 1980, ANTECZAK et al. (1985) realizaram estudos aplicando os conhecimentos na transferência de embriões e gestação entre equinos (*Equus caballus*) e asininos (*Equus asinus*), explorando também aspectos gestacionais aplicados à fêmea híbrida, fruto do cruzamento entre o jumento e a égua, conhecida como mula. Posteriormente publicou um experimento que analisava a viabilidade da utilização de mulas como receptoras de embriões, tanto equinos e asininos.

Na literatura encontram-se diferentes protocolos de sincronização sendo abordados, mas de acordo com estudos, a utilização de mulas em anestro obteve maior sucesso quando comparada com as mulas ciclantes, devido a irregularidade do ciclo destes animais que geravam resultados muito inconsistentes (DAVIES et al., 1985).

Objetivou-se com a revisão apresentar formas de se utilizar mulas acíclicas como receptoras de embrião equino.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 As mulas**

As mulas são animais híbridos, ou seja, são provenientes do cruzamento de espécies distintas que possuem diferenciação genética através do número de cromossomos. Sua origem se dá através do cruzamento entre equinos e asininos,

mais especificamente entre o jumento e a égua, que possuem número de cromossomos distintos, sendo os equinos com  $n = 64$  e os asininos com  $n = 62$ , obtendo-se um indivíduo com  $n = 63$  cromossomos e quase que em sua totalidade estéril (burro ou mula). Do cruzamento entre o garanhão e a jumenta também pode-se originar o que é chamado de Bardoto ou Bardota, mas, essa combinação se torna mais difícil devido ao tamanho da genitora quando comparado ao macho e ao possível tamanho do produto (ARAUJO & ARAUJO, 2015).

A característica de infertilidade do fruto desse cruzamento parece estar relacionada ao gene Prdm9, que é responsável pela codificação da histona H3 metiltransferase, trazendo consequências para a gametogênese (STEINER & RYDER, 2013).

No quesito reprodução, as mulas possuem como vantagem glândulas mamárias capazes de se desenvolver e produzir leite, atendendo a necessidade nutricional do neonato, apresentam também boa habilidade materna e levam a gestação a termo, além de comumente estarem presentes nas propriedades, se tornando assim boas candidatas a receptoras de embrião equino (QUINTERO et al., 1996).

Já como desvantagens, além da infertilidade e da irregularidade do ciclo, grande parte das associações de criadores de cavalo não aceitam registro de animais que foram gestados por animais que não registrados, como na Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Mangalarga Marchador, e quando aceitam, cobram um valor que chega a ser o triplo do cobrado para receptoras da mesma raça, como é feito na Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha (ABQM), aumentando assim o custo da utilização de mulas como receptoras. Além disso, o valor comercial de uma mula costuma ser o mesmo de uma égua sem raça ou mestiça, fazendo com que os proprietários utilizem éguas como receptoras.

## **2.2 Protocolos hormonais**

A reprodução e transferência de embriões contam com diversos protocolos hormonais para sincronização de cio, porém deve-se atentar que além das técnicas de reprodução, a nutrição, o manejo e o bem-estar do animal tem influência direta nos resultados (RODRIGUES et al., 2009).

Em busca do aperfeiçoamento das raças e de acelerar o ritmo de produção de animais, a TE se destaca e fomenta a grande necessidade da disponibilidade de receptoras (HARTMAN, 2011). Na TE costuma-se sincronizar duas ou três receptoras para cada doadora de embrião e comumente ocorre o uso de terapia com progesterona (P4) por dez a quinze dias, aliado a exames de ultrassonografia e palpação para determinar o momento da ovulação (HINRICHS et al., 1985).

A utilização de éguas anovulatórias se torna uma ferramenta necessária quando se está no início da estação de monta, pois poucos animais ciclantes estão disponíveis e além disso, receptoras tratadas com hormônios tem o ciclo estral simulado de forma exógena e sincronizado com o ciclo das doadoras, além de necessitarem de menos exames de palpação para definir o momento certo de receber o embrião (HINRICHS & KENNEY, 1987).

Visando a obtenção e manutenção da gestação, diferentes protocolos contendo estrógenos e progestágenos são regularmente utilizados em programas de TE em equinos (HINRICHS et al., 1986; MCKINNON et al., 1988; LAGNEAUX & PALMER, 1993; CARNEVALE et al., 2000). A terapia hormonal aplicada em éguas acíclicas gera uma simulação das mesmas mudanças uterinas que acontecem em animais que emprenharam de forma natural (PINTO, 2011), onde o estradiol utilizado leva a formação do edema endometrial e diferenciação celular do endométrio e miométrio; já os progestágenos são responsáveis pelo aumento do tônus uterino, pelo estímulo à secreção histotrófica e também pela interação conceito-maternal (VANDERWALL, 2011).

Em estudos realizados por WATSON (1992), MCDOWELL (1999) E HARTT (2005), comprovou-se que o estradiol presente no ciclo tem a função de estimular a expressão de seus próprios receptores, além de também estimular a manifestação dos receptores de P4 no endométrio. A partir dessa informação, a

administração de estradiol se torna importante dentro do protocolo hormonal, visto que a P4 é conhecida como o hormônio da gestação e tem seus receptores estimulados pelo estradiol.

Protocolos mais antigos, tais como HINRICHS et al. (1985, 1986, 1987), HINRICHS & KENNEY (1987) e CARNEVALE et al. (2000), consistiam apenas da utilização de progestágenos em doses e períodos variados. Já em outros protocolos, houve a adição de aplicação de estrógenos anteriormente a aplicação de progestágenos, também em doses e períodos variados, tais como nos estudos de DAVIES et al. (1985) MCKINNON et al. (1988), PINNA et al. (2007), GRECO et al. (2012), KAERCHER et al. (2012) e BOTELHO et al. (2015)

### **2.2.1 Protocolos hormonais utilizando progestágenos**

Com o propósito de diminuir o número de palpções retais e o manejo envolvendo rufiações, HINRICHS et al. (1985,1986,1987) optaram por realizar seus estudos com éguas ovariectomizadas (OVH) ao invés de animais intactos.

#### **2.2.1.1 Protocolo hormonal descrito por HINRICHS et al. (1985, 1986, 1987)**

Em seu experimento, HINRICHS et al. (1985) utilizou um protocolo em éguas OVH que consistiu da administração de 300 mg de P4 diariamente por cinco dias antes do dia de transferência de embrião (DTE), com a TE sendo realizada no D7, resultando em três animais gestantes em sete. Também em um estudo de HINRICHS et al.(1986), foram utilizadas 17 éguas OVH, divididas em três grupos, sendo que a TE foi realizada no D7. No grupo um foi administrado 22 miligramas de Altronogest oral, durante cinco dias, antes do DTE, resultando em uma égua prenha no grupo de seis animais; o grupo dois, também composto de seis animais, foi tratado com 66 mg de Altronogest oral, por seis dias antes do DTE, e teve como resultado duas prenhez em seis; já no grupo três, composto de cinco animais, foi administrado 300 mg de P4 intra muscular(IM), por um período de cinco dias também antes do DTE, resultando em duas éguas prenhas num



total de cinco animais. Com esse estudo percebeu-se a importância do hormônio progesterona em quantidade adequada e a influência nos resultados de prenhez positiva (Quadro 1).

Buscando novos resultados HINRICHS et al. (1986) utilizou éguas receptoras anovulatórias que foram divididas em três grupos: G1 – seis animais, G2 – seis animais e G3 – cinco animais. No G1 o protocolo hormonal consistiu de 22mg de Altronogest oral, realizado a cada 24 horas, durante cinco dias antes da TE. No G2 foi utilizado 66 mg de Altronogest oral, realizado a cada 24 horas, por seis dias antes da TE. Já no G3 o protocolo utilizado foi 300 mg de P4 IM a cada 24 horas, por 5 dias antes da TE. Em todos os grupos a TE foi realizada no dia sete após inseminação. Como resultado, o G1 apresentou 1/6 (16,6%) gestações; o G2 obteve 2/6 (33,2%) gestações e o G3 foi o grupo quem teve o melhor resultado, obtendo 2/5 (40%) gestações (Quadro 1).

HINRICHS et al. (1987) realizou um novo projeto utilizando novamente sete éguas OVH onde foram tratadas com 300 mg de P4 IM, durante os cinco dias que antecederam a transferência de embrião, obtendo taxa de prenhez de 43%, o que corresponde a três animais prenhez em sete. Nesse mesmo estudo, HINRICHS et al. (1987) constataram que animais OVH poderiam ter a gestação estabelecida e mantida, desde que tratados com progesterona até o 100º dia de gestação (Quadro 1).

#### **2.2.1.2 Protocolo hormonal descrito por HINRICHS & KENNEY (1987)**

Visando analisar e comparar o momento certo da aplicação de progestágenos, HINRICHS & KENNEY realizaram outro estudo onde éguas anovulatórias eram divididas em dois grupos. No G1 foi realizado o protocolo hormonal composto por 300mg de P4 IM – cinco dias antes da TE. No G2 o protocolo foi também 300 mg de P4 IM – quatro dias antes da OV da doadora. O G1 teve como resultado 75% (6/8) de prenhez, já o G2 apenas 8,3% (1/12), resultado que fortalece a necessidade de se aplicar a progesterona no momento certo (Quadro 1).

### **2.2.1.3 Protocolo hormonal descrito por CARNEVALE et al. (2000)**

A utilização de éguas em diferentes estágios do ciclo foi analisada por CARNEVALE et al. (2000), onde 18 animais foram tratados com Altronogest oral 0,044 mg/kg de peso vivo durante cinco a sete dias antes do DTE – que ocorreu do dia 5 ao dia 9- até 120 dias da gestação. Um primeiro diagnóstico de prenhez foi feito com 12 dias de gestação dando um resultado de 10 em 18 animais gestantes (55,6%) e no segundo diagnóstico deu-se um resultado de 7 animais positivos em 18 (39%). Esse resultado se deu pela ausência de diferenças estatísticas de taxas gestacionais pós-transferência entre os dois grupos: animais ciclantes e transicionais. A partir desse estudo houve uma maior exploração e aplicação de protocolos com receptoras em diversas fases do ciclo (Quadro 1).

Quadro 1- Protocolo utilizando progestágenos

Referência	Animal	Estrógeno	Progestágenos	DTE	Taxa de gestação
HINRICHS et al. (1985)	Éguas OVH	Ausente	P4 300mg IM – a cada 24 horas- 5 dias antes da TE.	D7	43 % (3/7)
HINRICHS et al. (1986)	Éguas OVH	Ausente	G1: Altrenogest 22mg oral - a cada 24 horas – 5 dias antes da TE. G2: Altrenogest 66 mg oral – a cada 24 horas- 6 dias antes da TE. G3: P4 300 mg IM – a cada 24 horas – 5 dias antes da TE.	D7	G1: 16,6 % (1/6) G2: 33,3% (2/6) G3: 40% (2/5)
HINRICHS et al. (1987)	Éguas OVH	Ausente	P4 300 mg IM – a cada 24 horas – 5 dias antes da TE.	D7	43% (3/7)
HINRICHS & KENNEY (1987)	Éguas OVH	Ausente	G1: P4 300 mg IM – a cada 24 horas- 5 dias antes da TE. G2: P4 300 mg IM – a cada 24 horas – 4 dias antes da OV.	D7	G1: 75% (6/8) G2: 8,3% (1/12)
CARNEVALE et al. (2000)	Éguas em transição	Ausente	Altrenogest 0,044 mg/kg de peso vivo – a cada 24 horas – 5 a 7 dias antes da TE continuando até 120 dias de gestação.	D5 a D9	12 dias de gestação: 55,6 % (10/18) 50 dias de gestação: 39% (7/18)

DTE: dia da transferência do embrião; IM: intramuscular; OV: ovulação; OVH: ovariectomizadas; P4: progesterona; TE: transferência de embrião.

## **2.2.2 Protocolos hormonais utilizando estrógenos e progestágenos**

Após análises realizadas por WATSON (1992), MCDOWELL (1999) e HARTT (2005), houve um destaque na necessidade de se utilizar estradiol anteriormente à aplicação de progesterona, fazendo com que ocorra uma simulação por inteiro das mudanças uterinas que aconteceriam em uma gestação ocorrida de forma natural, e além disso, o estrógeno tem papel importante na expressão de seus próprios receptores e na manifestação dos receptores de P4, intensificando futuras captações hormonais e agindo de forma a potencializar a eficácia dos protocolos hormonais.

### **2.2.2.1 Protocolo hormonal descrito por DAVIES et al. (1985)**

Em um estudo utilizando muares, DAVIES et al. (1985) selecionou treze mulas para fazer um experimento de sincronização, e desses treze animais apenas nove foram colocados no experimento pelo motivo de que esses mesmos nove animais possuíam ciclo estral, que foi determinado pela P4 sérica plasmática analisada pelo método de radioimunoensaio, descrito por Beal, Milvae e Hansel em 1980. Nesse experimento o protocolo hormonal utilizado foi o mesmo para a sincronização de cio de éguas, caracterizado pela administração de um comprimido oral de progesterona diariamente, por um período de dez dias, seguida por uma injeção de prostaglandina F2alfa no décimo primeiro dia. Mas, em seus relatos, esse método deixou a desejar pois o ciclo dos muares se mostrou extremamente irregular, já que das nove mulas utilizadas no experimento: três ovularam antes das doadoras; uma delas ovulou durante a administração de P4; outros dois animais ovularam dois dias após receber prostaglandina F2alfa e uma mula ovulou oito dias após receber a prostaglandina f2alfa, sendo que esta última pode ser utilizada como receptora.

Em tentativas posteriores de sincronização de ovulação das mulas foi administrada uma ou duas injeções de prostaglandina F2alfa, o que gerou uma pequena melhora na sincronização, mas o ciclo estral ainda se manteve irregular com resultados bem variáveis, fazendo com que grande parte desses animais não fossem utilizados como receptoras de embrião. Com a falha na tentativa de

utilizar mulas com atividade ovariana para receptoras, a alternativa se deu através da adaptação do projeto com fêmeas acíclicas tratadas com progesterona, com a finalidade de simular uma produção luteal de P4. Este novo protocolo consistiu da administração de Allyltrombolone no período de três a seis dias antes da transferência de embrião, onde essa dose foi aumentada até que cada receptora recebesse dose diária de 35 a 55 mg de Allyltrombolone de acordo com o peso do animal.

Nesse estudo, dos oitos embriões transferidos para mulas ciclantes, foram comprovadas quatro gestações, já no caso dos cinco embriões transferidos para mulas não ciclantes houve apenas uma gestação.

#### **2.2.2.2 Protocolo hormonal descrito por MCKINNON et al. (1988)**

MCKINNON et al. (1988) desenvolveram um estudo onde foram definidos três tratamentos em receptoras OVH. No primeiro grupo o tratamento consistia da aplicação subcutânea de um mg de 17  $\beta$  estradiol até o dia em que a doadora ovulou, seguido da aplicação diária de 300 mg de P4 até o dia 35; o segundo grupo recebeu o mesmo tratamento que o grupo um, mas teve a aplicação de 17  $\beta$  estradiol mantida até o dia 20, juntamente com a administração de P4; já no terceiro grupo, a administração de 17  $\beta$  estradiol foi igual à realizada no grupo um, e no dia em que a doadora ovulou realizou-se administração oral de 0,44 mg/kg de peso vivo do Altrogenest até o trigésimo quinto dia.

A taxa de prenhez desse estudo no trigésimo quinto dia de gestação foi de sete animais em dez no primeiro grupo (70%), oito prenhez em dez animais no segundo grupo (80%) e 12 animais prenhez em 20 animais no terceiro grupo (70%), o que demonstra que éguas receptoras OVH tratadas com progestágenos tem capacidade de manter a gestação (Quadro 2).

De acordo com LAGNEUX et al. (1937) foi constatada uma grande dificuldade em monitorar e sincronizar a ovulação da receptora com a ovulação da doadora, o que torna o procedimento caro e trabalhoso de ser realizado, sendo uma boa opção a utilização de éguas sem atividade ovariana e animais OVH pelo

menos dois meses antes do estudo para que haja garantia de que os níveis sanguíneos de P4 sejam baixos e assim possam receber homonioterapia.

#### **2.2.2.3 Protocolo hormonal descrito por PINNA et al. (2007)**

PINNA et al. (2007) realizou um estudo com 185 animais anovulatórios onde o protocolo consistia da aplicação de Cipionato de estradiol (CE) durante três dias consecutivos com a dosagem de cinco, três e dois ml respectivamente em cada dia, a partir do dia de ovulação da doadora; no dia 4 era aplicado 1500 mg de P4 de longa ação(LA) IM sendo depois mantido a partir do dia 7 até o centésimo dia da gestação, resultando em 101 animais gestantes de 185 (54,5%) (Quadro 2).

#### **2.2.2.4 Protocolo hormonal descrito por GRECO et al. (2012)**

Já o experimento realizado por GRECO et al. (2012) consistia de 241 éguas anovulatórias onde o protocolo consistia de três dias consecutivos de CE com a respectiva dosagem de dez, seis e quatro ml IM em cada dia, tendo início no D0 da doadora. Após quatro dias da ovulação da doadora, 1500 mg de P4 LA eram aplicados via IM, sendo mantido a partir do sétimo até o centésimo dia de gestação, e obtendo resultado de 139 animais gestantes num total de 241 (57,7%) (Quadro 2).

#### **2.2.2.5 Protocolo hormonal descrito por KAERCHER et al. (2012)**

KAERCHER et al. (2012) analisaram a utilização de éguas anovulatórias através de uma pesquisa onde foi aplicado Benzoato de estradiol (BE) durante 3 dias consecutivos com a dosagem de 5-3-2 mg IM respectivamente ao longo dos 3 dias a partir do dia de ovulação da doadora; em sequência foi aplicado 400 mg IM de P4 LA 4 dias após a ovulação da doadora, e essa aplicação se manteve até os 120 dias de gestação. Esse protocolo resultou em 27 animais gestantes, num total de 45, sendo assim uma taxa de 60% de prenhez (Quadro 2).

### **2.2.2.6 Protocolo hormonal descrito por BOTELHO et al. (2015)**

Buscando mais informações a respeito dos protocolos bem sucedidos, BOTELHO et al. (2015) realizaram um experimento com 76 animais, sendo 30 animais grupo controle (G1), e os outros 46 eram éguas anovulatórias previamente selecionadas e que receberiam hormonioterapia (G2). O tratamento executado nas fêmeas anovulatórias consistia da administração IM de BE 8 dias antes da TE, com doses consecutivas de 5-3-2 mg. Em subsequência aplicou-se 1500 mg IM de P4 LA 5 dias antes do dia da TE, sendo esta mesma dose aplicada no dia da TE e repetida a cada sete dias até os 120 dias de gestação. Para avaliar os métodos e as taxas de prenhez, os dois grupos foram submetidos a exames ultrassonográficos no D13, D30 e D60 após a TE. Como resultado obteve-se: D13- G1: 16/30 (53,3%) e G2: 35/46 (76,1%); D30: - G1: 12/30 (40%) e G2: 34/46 (74,0%); D60 – G1: 11/30 (36,6%) e G2: 32/46 (69,6%). Analisando as taxas de prenhez final, foi maior no grupo tratado com hormonioterapia do que no grupo controle, indicando que a presença de protocolo hormonal administrado antes e depois da TE pode alcançar taxas de prenhez maiores em éguas anovulatórias do que em animais em estro (Quadro 2).

Apesar da literatura conter poucos estudos a respeito de transferência de embrião para mulas receptoras, há relatos desses animais sendo utilizados para tais finalidades no campo e em diversas fazendas, e estes protocolos podem ser utilizados para aumentar a taxa de sucesso.

Quadro 2 – Protocolos utilizando estrógeno e progestágenos

Referência	Animal	Estrógeno	Progestágenos	DTE	Taxa de Gestação
MCKINNON et al. (1988)	Éguas OVH	G1: 17 $\beta$ estradiol 1mg subcutâneo (SC) – uma vez por dia, do dia de indução da doadora até o DOV da mesma.  G2: 17 $\beta$ estradiol 1mg SC – uma vez por dia, do dia de indução da doadora até 20 dias de gestação.  G3: 17 $\beta$ estradiol 1mg SC – a cada 24 horas - do dia de indução da doadora até o DOV da mesma.	G1: P4 300 mg IM – a cada 24 horas – desde o DOV até 35 dias de gestação.  G2: P4 300 mg IM – a cada 24 horas – desde o DOV até 20 dias de gestação.  G3: Altrenogest oral 0,044 mg/kg de peso vivo - desde o DOV até 35 dias de gestação	D7	35 dias de gestação:  D1: 70% (7/10) D2: 80% (8/10) D3: 70% (14/20)
PINNA et al. (2007)	Éguas anovulatórias	Cipionato de estradiol (CE) por 3 dias consecutivos a partir do DOV da doadora (D0), com as dosagens de 5mg (D1), 3mg (D2), e 2mg (D3).	P4LA 1500mg IM – no dia 4 após a ovulação da doadora e a cada 7 dias até o centésimo dia de gestação.	D6-D8	100 dias de gestação:  54,5% (101/185)
GRECO et al. (2012)	Éguas anovulatórias	CE IM por 3 dias consecutivos com início no DOV da doadora (D0) – com a respectiva dosagem de 10mg (D1), 6mg (D2) e 4mg (D3).	P4LA 1500mg IM – no dia 4 após a ovulação da doadora e a cada 7 dias até o centésimo dia de gestação.	D3-D6	100 dias de gestação:  54,5% (139/241)



KAERCHER et al (2012)	Éguas anovulatórias	Benzoato de estradiol (BE) IM por 3 dias consecutivos a partir do DOV da doadora (D0), com a respectiva dosagem de 5mg (D1), 3mg (D2) e 2 mg (D3).	P4LA 400 mg IM – no dia 4 após a ovulação da doadora e a cada 7 dias até 120 dias de gestação.	D5	120 dias de gestação: 60% (27/45)
BOTELHO et al. (2015)	Éguas anovulatórias	G1: Grupo controle G2: BE IM 8 – a cada 24 horas – 8 dias antes da TE com a dose consecutiva de 5mg, 3 mg e 2 mg.	P4LA 1500mg IM – 5 dias antes da TE, com reaplicação no dia da TE e repetida a cada 7 dias até os 120 dias de gestação.	D5	13 dias de gestação: G1: 53,3% (16/30) G2: 76,1% (34/46) 30 dias de gestação: G1: 40% (12/30) G2: 74% (34/46) 60 dias de gestação: G1: 36,6% (11/30) G2: 69,6% (32/46)

BE: benzoato de estradiol; CE: cepionato de estradiol; DOV: dia de ovulação; DTE: dia da transferência de embrião; IM: intramuscular; LA: longa ação; mg: miligramas; P4: progesterona; TE: transferência de embrião; SC: subcutâneo.

### 3. CONCLUSÃO

A utilização de mulas como receptoras de embriões é uma prática pouco utilizada, porém viável se utilizados protocolos corretos, e desde que a associação aceite o uso de receptoras que não a da mesma raça. Os criadores de equinos ainda são resistentes quanto a esta técnica, seja pela ausência de conhecimento, pela equivocada ideia a respeito da índole do animal ou pelo valor econômico – já que uma mula custa em média o mesmo valor de uma égua mestiça – fazendo com que os animais de mesma espécie sejam mais utilizados.

As mulas teriam uma grande colaboração como receptoras, que é um dos maiores gargalos da transferência de embriões. A utilização desse animal para a finalidade da reprodução também induz pesquisa a respeito dos muares, gerando mais informação e possíveis novos e melhores protocolos.

Dentre os protocolos revisados para receptora acíclica, o cenário ideal para se realizar uma transferência de embrião seria quando o ambiente uterino da receptora fosse o mais similar possível ao ambiente uterino da doadora. Tendo isso em vista, a utilização de estrógenos seguida da utilização de progestágenos construiria esse cenário, fazendo deste protocolo o mais indicado.

#### 4. REFERÊNCIAS:

- ALMEIDA, F. Q.; SILVA, V. P. Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.119-129, 2010.
- ANTCZAK, D. E.; DAVIES, C. J.; KYDD, J.; ALLEN, W. R. Immunological aspects of pregnancy in mules. **Equine Vet J**, v.17, suppl.3, p.68-72, 1985.
- ARAUJO, G. H. M.; ARAUJO, F. M. Particularidades e possíveis vantagens no uso de mulas como receptoras de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.39, p.220-222, 2015.
- BOTELHO, J. H. V.; PESSOA, G. O.; ROCHA, L. G. P.; YESTE, M. Hormone supplementation protocol using estradiol benzoate and long-acting progesterone is efficient in maintaining pregnancy of anovulatory mares during autumn transitional phase. **Animal Reproduction**, v.153, p.39-43, 2015.
- CANISSO, I. F.; SOUZA, F. A.; SILVA, E. C.; CARVALHO, G. R.; GUIMARÃES, J. D.; LIMA, A. L. Inseminação artificial em equinos: Sêmen fresco, diluído, resfriado e transportado. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.6, 2008.
- CARNEVALE, E. M.; RAMIREZ, R. J.; SQUIRES, E. L.; ALVARENGA, M. A.; VANDERWALL, D. K.; McCUE P. M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.
- DAVIES, C. J.; ANTCZAK, D. E.; ALLEN, W. R. Reproduction in mules: embryo transfer using sterile recipients. **Equine Vet J**, v.17, suppl.3, p.63-67, 1985.
- FERREIRA, D. J. F. Fecundação artificial. Reflexões sobre o processo científico e tecnológico. **Revista Medicina**, v.1, p.31-38, 1988.
- GRECO, G. M.; BURLAMAQUI, F. L. G.; PINNA, A. E.; QUEIROZ, F. J. R. CUNHA, M. P. S.; BRANDÃO, F. Z. Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.607-611, 2012.
- HARTMAN, D. L. Embryo transfer. In: BRINSKO, P. S.; BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C. C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D. **Manual of Equine Reproduction**. Oxford: Blackweel Publissing, v.2, p.2871-2879, 2011.
- HINRICHS, K.; KEENEY, R. Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate and embryo transfer in ovariectomized mares. **J Reprod Fertil Suppl**, v.35, p.439-443, 1987.
- HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; CUMMINGS, M. R.; KENNEY, R. M. Pregnancy in ovariectomized mares achieved by embryo transfer: a preliminary study. **Equine Vet J**, v.17, suppl.3, p.74-75, 1985.
- HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; KENNEY, R. M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.26, p. 455-460, 1986.

HINRICH, K.; SERTICH, P. L.; PALMER, E.; KENNEY, R. M. Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone. **J Reprod Fertil**, v.80, p.395-401, 1987.

KAERCHER, F.; KOZICKI, L. E.; CARMAGO, C. E.; WEISS, R. R.; SANTOS, I. W.; MURADAS, P. R. Embryo transfer in anovulatory recipient mares treated with estradiol benzoate and long-acting progesterone. **J Equine Vet Sci**, v. 33(3), p. 205-209, 2012.

LAGNEAUX, D.; PALMER, E. Embryo transfer in anoestrus recipient mares: attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. **Equine Vet J**, v.15, p.107-110, 1993.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; CARNEVALE, E. M.; HERMENET, M. J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v.29, p.1055-1063, 1988.

PINNA, A. L.; QUEIROZ, F. J. R.; BURLAMANQUI, F. L. G.; GRECO, G. M.; PINHO, T. G.; BRANDÃO, F. Z. Taxa de gestação e incidência de morte embrionária em éguas receptoras acíclicas e cíclicas tratadas com P4 LA. Universidade Rural. **Série Ciências da vida**, suplemento 27, p.129-137, 2007.

PINTO, C. R. F. Progestagens and Progesterone. In: MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2º ed. Oxford. Blackwell Publishing, v.2 (189), p. 1811-1817, 2011.

RODRIGUES, J. L.; RODRIGUES, B. A. Evolução da biotecnologia da reprodução no Brasil e seu papel no melhoramento genético. **Revista Ceres**, v.4, p.428-436, 2009.

QUINTERO, M. F.; ZARCO, Q. L. Transferencia de embriones híbridos (E. caballus x E. asinus) en mulas. **Vet Méx**, v.27, p.175-177, 1996.

STEINER, C.C.; RYDER, O.A. Characterization of Prdm9 in equids and sterility in mules. **PlosOne**, v.8, p.1-7, 2013.

SUPRINYAK, C. E. O mercado de animais de carga no centro-sul do Brasil imperial: novas evidências. São Paulo, **Estudo Econômico**, v.38, 2008.

VANDERWALL, D. K. Progesterone. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2º Ed. Blackwell Publishing, v.2(170), p. 1637-1641, 2011.

## PARTE II

### 5. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

O estágio curricular foi realizado acompanhando o Médico Veterinário Francisco José Gonçalves Oliveira, tendo início no dia 1 de agosto e com término no dia 28 de outubro de 2017.

Após se formar em Medicina Veterinária pela Universidade de Brasília (UnB), Francisco iniciou e terminou seu mestrado em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa (UFV) na área de Reprodução Animal. No ano de 2007 começou sua carreira autônoma no campo, trabalhando juntamente com outro veterinário. Em 2009 abriu a Central de Reprodução Equina chamada Estábulo, que permaneceu funcionando até o ano de 2016, quando a empresa foi fechada.

Com atuação na área de Reprodução Assistida Equina, as atividades realizadas em campo foram: avaliação das receptoras e doadoras, sincronização das receptoras e doadoras, coleta de embrião, inovulação de embrião, diagnóstico de prenhez com 15 e 60 dias, ultrassonografias de acompanhamento e também para transferência de embrião ou inseminação artificial, inseminação artificial, coleta de sêmen, congelamento de sêmen, atendimentos veterinários e ginecológicos e requisição para exames de AIE, Mormo e hemograma. Os procedimentos acompanhados estão listados na tabela 3.

Os atendimentos eram realizados majoritariamente dentro do Distrito Federal, mas houveram ocasiões em que fomos em propriedades situadas em Padre Bernardo, Unaí e no Goiás.

Quadro 3 – Atividades acompanhadas durante o estágio curricular com o médico veterinário Francisco José Gonçalves Oliveira, no período de 01/08/2017 à 27/10/2017:

Procedimentos realizados:	Quantidade:
Atendimento veterinário	1
Atendimento ginecológico	2
Coleta de embrião	12
Coleta de sêmen	4
Congelamento de sêmen	4
Diagnóstico de prenhez	5
Diagnóstico de prenhez (60D) por transferência de embrião	3
Diagnóstico de prenhez (60D) por inseminação artificial	2
Inovulação de embrião	13
Inseminação artificial com sêmen congelado	25
Inseminação Artificial com sêmen fresco	18
Requisição de AIE e Mormo	2
Requisição de Hemograma	6
Ultrassonografia para transferência de embrião ou inseminação artificial	683
Ultrassonografia de acompanhamento	29

## 5.1 Considerações Finais

Através do estágio pude vivenciar a rotina no campo, tanto as desvantagens quanto as vantagens. Como desvantagens cito: longas distâncias a serem percorridas, estradas precárias, tempo perdido em razão do deslocamento até as propriedades, infraestrutura inadequada nos locais, falta de horário para começar a trabalhar e para terminar, cansaço devido à atendimentos de madrugada e durante os fins de semana.

Já como vantagens temos: a prática e tudo que ela traz, conhecimento das rotinas de cada propriedade e adequação do manejo, descoberta de novos lugares, desafios relacionados ao atendimento no campo e expansão dos horizontes.

Durante esses três meses de estágio tive a oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente. A rotina e os desafios que a vida no campo traz engrandecem a alma. A prática é uma vivência necessária e construidora de bons profissionais. Percebi que quando eu decidi por Medicina Veterinária há tantos anos atrás, eu estava correta e não poderia ter outra profissão.