



CARLOS MIGUEL LARA FREITAS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO
REALIZADO ACOMPANHANDO MÉDICO
VETERINÁRIO AUTÔNOMO NA REGIÃO DE
CARMÓPOLIS – MG E NA CENTRAL DE GARANHÕES
FAVARETTO CRIOVET EM ITAÚNA - MG**

LAVRAS – MG

2022

CARLOS MIGUEL LARA FREITAS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO
ACOMPANHANDO MÉDICO VETERINÁRIO AUTÔNOMO NA REGIÃO DE
CARMÓPOLIS – MG E NA CENTRAL DE GARANHÕES FAVARETTO
CRIOVET EM ITAÚNA - MG**

Relatório de estágio supervisionado
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Medicina Veterinária, para a
obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. José Camisão de Souza
Orientador

LAVRAS – MG

2022

CARLOS MIGUEL LARA FREITAS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO
ACOMPANHANDO MÉDICO VETERINÁRIO AUTÔNOMO NA REGIÃO DE
CARMÓPOLIS – MG E NA CENTRAL DE GARANHÕES FAVARETTO
CRIOVET EM ITAÚNA - MG**

**SUPERVISED INTERNSHIP REPORT PERFORMED ACCOMPANYING AN
AUTONOMOUS VETERINARIAN IN THE REGION OF CARMÓPOLIS – MG
AND IN THE FAVARETTO CRIOVET CENTRAL IN ITAÚNA - MG**

Relatório de estágio supervisionado
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Medicina Veterinária, para a
obtenção do título de Bacharel.

APROVADO em 20 de abril de 2022

Prof. Dr. José Camisão Souza

Orientador

LAVRAS – MG

2022

RESUMO

Este trabalho descreve o estágio supervisionado realizado no período de 03/01/2022 a 28/02/2022 acompanhando o Médico Veterinário autônomo Saulo Eduardo Rabelo Leblon, atuante em reprodução equina e sob supervisão do mesmo, com ênfase em controle reprodutivo de matrizes e receptoras, além da coleta de sêmen de garanhões na região de Carmópolis de Minas - MG. A segunda parte do presente trabalho relata o período de estágio compreendido entre 01/03/2022 e 31/03/2022 na central de garanhões Favaretto Criovet, na cidade de Itaúna – MG, sob supervisão do Médico Veterinário Henrique Favaretto Ariel Cabral Santos, realizando principalmente coleta, criopreservação e envio de sêmen equino. Durante a primeira etapa do estágio foram realizadas 66 IA, 24 TE e 47 coletas de sêmen, sendo 28 para IA na propriedade e 19 para envio. Já na segunda etapa foram realizadas 54 coletas, sendo 83 doses para envio resfriado e 2883 palhetas de sêmen criopreservado com 0,5ml envasadas.

Palavras-chave: Estágio supervisionado. Equino. Reprodução Animal. Sêmen. Andrologia.

ABSTRACT

This work describes the supervised internship carried out from 01/03/2022 to 02/28/2022 accompanying the autonomous Veterinarian Saulo Eduardo Rabelo Leblon, working in equine reproduction and under his supervision, with emphasis on reproductive control of mares and embryo, in addition to collecting semen from stallions in the region of Carmópolis de Minas - MG. The second part of the present work reports the internship period between 03/01/2022 and 03/31/2022 at the Favaretto Criovet reproduction center, in the city of Itaúna - MG, under the supervision of the Veterinary Doctor Henrique Favaretto Ariel Cabral Santos, performing mainly collection, cryopreservation and shipment of equine semen. During the first stage of the internship, 66 AI, 24 ET and 47 semen collections were carried out, 28 for AI on the property and 19 for shipment. In the second stage, 54 samples were collected, with 83 doses for sending cooled and 2883 cryopreserved semen straws with 0.5 ml straws.

Keywords: Supervised internship. Horse. Animal Reproduction. Semen. Andrology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Éguas e potros no Haras Sarimar	12
Figura 2 - Égua sendo rufiada no Haras Refúgio.	13
Figura 3 - Receptoras no Haras Ribeiro.	13
Figura 4 - Logomarca da central Favaretto Criovet.	14
Figura 5 - Baias de acomodação dos garanhões na central Favaretto Criovet.	15
Figura 6 - Conformação da vulva de égua que apresentava coleção de líquido intra uterino durante o Ultrassom.	24
Figura 7 - Ultrassonografia denotando a presença de líquido intra uterino na égua apresentada na figura 6.	25
Figura 8 - Ultrassonografia denotando a presença de um corpo lúteo no ovário.	26
Figura 9 - Edema uterino grau 2 evidenciado pela ultrassonografia.	27
Figura 10 - Folículo pré ovulatório observado via ultrassonografia transretal.....	30
Figura 11 - Inseminação artificial de égua.	31
Figura 12 - Gestação confirmada de 12 dias.	32
Figura 13 - Gestação Confirmada de 35 dias.	32
Figura 14 - Gestação confirmada de 45 dias.	33
Figura 15 - Materiais utilizados para a coleta de embriões.	36
Figura 16 - Lavado D8 positivo.....	36
Figura 17 - Embrião D8 no centro da placa de Petri.	37
Figura 18 - Coleta de sêmen no Haras Ribeiro.....	41
Figura 19 - Garanhão estimulado pela presença de égua no cio na sala de coleta da central Favaretto Criovet.	45
Figura 20 - Coleta de Sêmen na central Favaretto Criovet.....	46
Figura 21 - Sêmen acondicionado em bisnagas Botu IA para o envio.....	47
Figura 22 - Frasco de sêmen resfriado pronto para envio.	48
Figura 23 - Sêmen diluído acondicionado em tubos falcon antes da centrifugação.....	49
Figura 24 - Tubos falcon com sêmen diluído acondicionados na centrífuga.	49
Figura 25 - Pellet formado ao fundo do frasco.	50
Figura 26 - Envase das palhetas de sêmen para a criopreservação.	51
Figura 27 - Botijões de nitrogênio líquido em sua sala na central Favaretto Criovet. ...	52

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Total de procedimentos realizados em cada local visitado.	16
Gráfico 2 - Número de coletas de sêmen em cada Haras e seu destino.	17
Gráfico 3 - Total de Inseminações Artificiais e gestações confirmadas ≥ 15 dias por localidade.	17
Gráfico 4 - Lavados de embriões realizados e positivos em cada localidade.	18
Gráfico 5 - Transferências de embriões realizadas e confirmadas nos locais acompanhados.	18
Gráfico 6 - Número de coletas realizadas por ganhão no período de estágio.	19
Gráfico 7 - Envios de sêmen resfriado de cada ganhão.	19
Gráfico 8 - Total de palhetas de sêmen criopreservado de cada ganhão produzidas. .	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO	11
2.1 Acompanhamento da rotina de M.V. autônomo em Carmópolis de Minas ..	11
2.2 Central de Garanhões Favaretto Criovet	14
3 CASUÍSTICA	16
3.1 Casuística M.V. Autônomo na região de Carmópolis	16
3.2 Casuística na central de garanhões Favaretto Criovet	19
4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS	20
4.1 Acompanhamento da rotina a campo	21
4.1.1 Avaliação ginecológica de matrizes, receptoras e doadoras de embriões 22	
4.1.1.1 Considerações sobre a anatomia do sistema reprodutor feminino ...	22
4.1.1.2 Considerações sobre o ciclo reprodutivo da fêmea equina	23
4.1.1.3 A avaliação ginecológica da égua não gestante	24
4.1.2 Detecção de Cio	26
4.1.3 Inseminação Artificial	28
4.1.3.1 Considerações sobre o sêmen utilizado	28
4.1.3.2 Técnica de Inseminação Artificial empregada durante o período de estágio	29
4.1.4 Transferência de Embriões	34
4.1.4.1 Técnica utilizada para a TE durante o estágio	34
4.1.5 Coleta e envio de Sêmen	38
4.1.5.1 Considerações sobre a anatomia e fisiologia reprodutiva do garanhão	38
4.1.5.2 Método de Coleta do Sêmen	40
4.1.5.3 Avaliação do ejaculado	41
4.2 Rotina de estágio na Central de Garanhões Favaretto Criovet	43
4.2.1 Coleta de sêmen	44
4.2.2 Processamento do sêmen coletado	46
4.2.3 Criopreservação do sêmen	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
6 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

O curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA) é composto por dez semestres, sendo nove dedicados às disciplinas obrigatórias e eletivas intrínsecas à graduação e o último sendo destinado à disciplina PRG 107 – Estágio supervisionado, com 28 créditos, sendo 408 horas de atividades práticas e 68 horas de atividades teóricas utilizadas na confecção do presente trabalho. Dentro dos demais nove períodos da graduação, além das disciplinas obrigatórias e eletivas, atividades extracurriculares extremamente necessárias para a formação profissional são desenvolvidas, das quais abrangem um vasto leque, com os mais diversos focos e escopos, compreendendo atividades vivenciais no hospital e laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária (DMV), participação em núcleos de estudo, projetos de iniciação científica, projetos de extensão, monitorias, eventos e inúmeras possibilidades mais.

O estágio supervisionado, além de uma exigência para a conclusão do curso, é uma oportunidade para crescimento pessoal e profissional sem comparação, sendo possível a aplicação prática dos conhecimentos adquiridos durante toda a graduação. Possibilita vislumbrar sua área de atuação escolhida, porém também expandir os horizontes para outras áreas muitas vezes ainda não contempladas pelo estudante.

A reprodução equina possui um grande mercado à campo, com interação direta entre o médico veterinário e o proprietário, desde grandes haras até grandes propriedades, propiciando uma ampla gama de desafios e situações que muitas vezes não se tem a oportunidade de experimentar durante o curso. Visto isso, foi escolhido para parte deste trabalho acompanhar o Médico Veterinário autônomo Saulo Eduardo Rabelo Leblon, que ativamente atua na região de Carmópolis de Minas, Minas Gerais, há 10 anos, sendo 8 destes na reprodução equina.

Posteriormente ao estágio a campo também foi realizado o acompanhamento da rotina da Central de Garanhões Favaretto Criovet, especializada em coleta, processamento, criopreservação e envio de sêmen equino, na cidade de Itaúna, MG, sendo uma central prestigiada em seu campo, fundada em 2019.

Vista possibilidade de crescimento pessoal e profissional ao lado de experientes médicos veterinários do ramo da reprodução equina, estes foram os locais escolhidos para a realização do estágio supervisionado. Este trabalho tem como objetivo descrever as atividades

desenvolvidas durante o período de estágio, bem como apresentar uma apreciação crítica do trabalho realizado.

2 DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO

O período de estágio foi dividido em dois locais diferentes, por consequência duas etapas, a primeira correu entre os dias 03/01/2022 e 28/02/2022, onde a rotina do médico veterinário autônomo Saulo Eduardo Rabelo Leblon foi acompanhada. A região atendida foi a de Carmópolis de Minas, estado de Minas Gerais, onde a rotina consistiu principalmente na assistência reprodutiva a haras e pequenas propriedades no ramo da equideocultura, dentre estes se destacando o Haras Ribeiro, Haras Sarimar e Haras Refúgio, todos se localizando na microrregião de Carmópolis de Minas.

Durante a segunda etapa do estágio supervisionado, compreendida entre os dias 01/03/2022 e 31/03/2022, foi acompanhada a rotina da Central de Garanhões Favaretto Criovet, localizada na cidade de Itaúna, Minas Gerais, sob supervisão do Médico Veterinário Henrique Favaretto Ariel Cabral Santos. A Central foi fundada em abril de 2019, se destacando por seus serviços prestados na reprodução equina, realizando principalmente a coleta, avaliação, congelamento e envio de sêmen de garanhões, com sede na Zona Rural de Itaúna, na Rodovia MG 431, Itaúna/Pará de Minas – Parque de Exposições, Sem Número. Seu principal objetivo é a prestação de serviços de alta qualidade na reprodução de equinos, almejando a disseminação de biotecnologias reprodutivas e genética de garanhões de qualidade,

2.1 Acompanhamento da rotina de M.V. autônomo em Carmópolis de Minas

O Médico Veterinário Saulo Eduardo Rabelo Leblon é atuante na área de reprodução equina na região de Carmópolis de Minas desde o ano de 2014, dando assistência para haras e pequenas propriedades na implantação de biotécnicas reprodutivas como inseminação artificial e transferência de embriões, efetivamente produzindo animais de alto padrão e grande valor genético. As visitas são agendadas com os proprietários dos animais, onde as necessidades de cada um destes são avaliadas, desde exames andrológicos, ginecológicos e obstétricos até biotécnicas mais avançadas como a coleta de sêmen realizada a campo e a transferência de embriões, afim de propagar a genética dos melhores animais da propriedade.

O estágio foi realizado acompanhando a rotina de três Haras, Sarimar, Ribeiro e Refúgio, e sete pequenas propriedades, todos os quais se dedicavam à criação da raça

Mangalarga Marchador (Figuras 1, 2 e 3. As propriedades e haras foram visitados diariamente, com frequência semanal, durante os dias 03/01/2022 e 28/02/2022, totalizando 328 horas relativas a atividades práticas sob supervisão do Médico Veterinário Saulo Eduardo Rabelo Leblon.

Figura 1 - Éguas e potros no Haras Sarimar



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 2 - Égua sendo rufiada no Haras Refúgio.



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 3 - Receptoras no Haras Ribeiro.



Fonte: Do Autor (2022).

Ao final foram realizadas 47 coletas de sêmen dos garanhões, sendo destas 13 coletas no Haras Refúgio, 21 coletas no Haras Ribeiro e 13 coletas no Haras Sarimar, divididas entre envios e coletas para inseminação artificial na propriedade. Também foram realizadas 66 inseminações artificiais em matrizes, destas sendo 15 no Haras Refúgio, 22 no Haras Sarimar, 17 no Haras Ribeiro e 12 nas demais propriedades, além de 32 lavados de embriões, 8 no Haras Refúgio, 10 no Haras Sarimar, 9 no Haras Ribeiro e, por fim, 5 lavados nas demais propriedades visitadas.

2.2 Central de Garanhões Favaretto Criovet

A central de garanhões Favaretto Criovet foi fundada no ano de 2019 pelo Médico Veterinário Henrique Favaretto (Figura 4). Possui um laboratório isolado para análise dos ejaculados coletados quanto à concentração espermática, qualidade do ejaculado e preparo pré criopreservação, contando com fotômetro para a realização da análise da concentração espermática e dois congeladores de sêmen dos modelos TK3000 e NEOVET. Também conta com sala separada para o acondicionamento dos botijões de nitrogênio líquido contendo as paletas de sêmen criopreservado, além de centrífugas, microscópios e outros equipamentos utilizados na rotina da central. O estágio na central foi realizado entre os dias 01/03/2022 a 31/03/2022, sob supervisão do Médico Veterinário Henrique Favaretto Ariel Cabral Santos, totalizando 176 horas de atividades práticas.

Figura 4 - Logomarca da central Favaretto Criovet.



Fonte: Favaretto Criovet (2022).

Possui além disso um galpão de baias para receber os garanhões que vem para que seja realizada a coleta de sêmen (Figura 5), sendo uma destas isolada, servindo ao propósito de

quarentena dos animais recém chegados, afim de evitar a disseminação de qualquer doença, caso exista, para os demais animais. Para a entrada dos animais é exigida a Guia de Trânsito Animal (GTA) e certidões negativas recentes dos exames para Anemia Infecciosa Equina (AIE) e Mormo, emitidas por Médico Veterinário Habilitado.

Figura 5 - Baias de acomodação dos garanhões na central Favaretto Criovet.



Fonte: Do Autor (2022).

Os garanhões são manejados diariamente, onde são soltos em piquetes individuais pela manhã e levados de volta para as baias no período da tarde, sua dieta consiste em feno de tifton, ração concentrada, água e sal mineral *ad libitum*, além de suplementação com Botumix Plus Garanhão®, afim de garantir o melhor desempenho do garanhão e maior qualidade do sêmen e, por fim, as coletas ocorrem para cada animal dia sim, dia não.

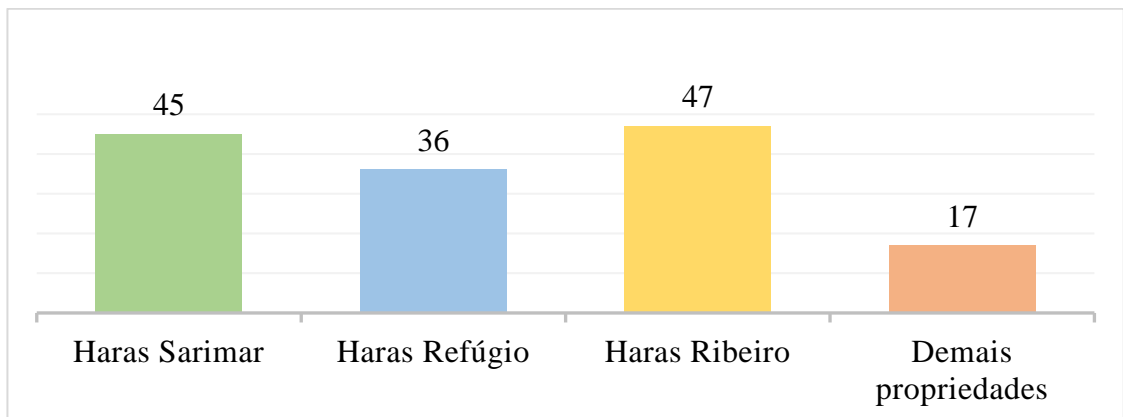
3 CASUÍSTICA

O número de coletas de sêmen, transferências de embriões, inseminações artificiais e prenhez confirmadas durante os dois terços iniciais do estágio, em haras e propriedades da região de Carmópolis de Minas, MG, no período de 03/01/2022 a 28/02/2022, juntamente com as coletas de sêmen, concentração espermática dos ejaculados e número de palhetas de sêmen congelado produzidas no terço final do estágio na central de garanhões Favaretto Criovet no período de 01/03/2022 a 31/03/2022 estão expostos abaixo nos gráficos de número 1 a 8:

3.1 Casuística M.V. Autônomo na região de Carmópolis

O Gráfico 1 demonstra a proporção de atividades realizadas em cada propriedade acompanhada durante o período de estágio supervisionado. Entre coletas de sêmen, IAs e TEs realizadas, totalizaram-se 145 procedimentos.

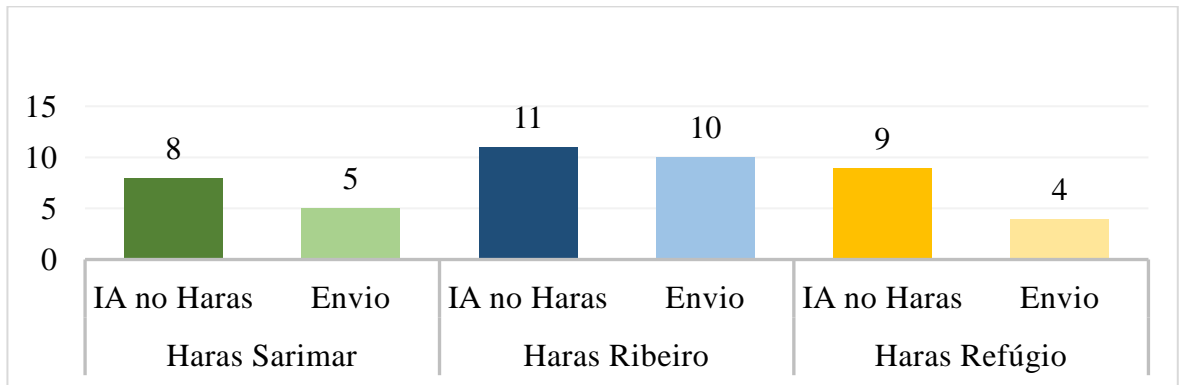
Gráfico 1 - Total de procedimentos realizados em cada local visitado.



Fonte: Do Autor (2022).

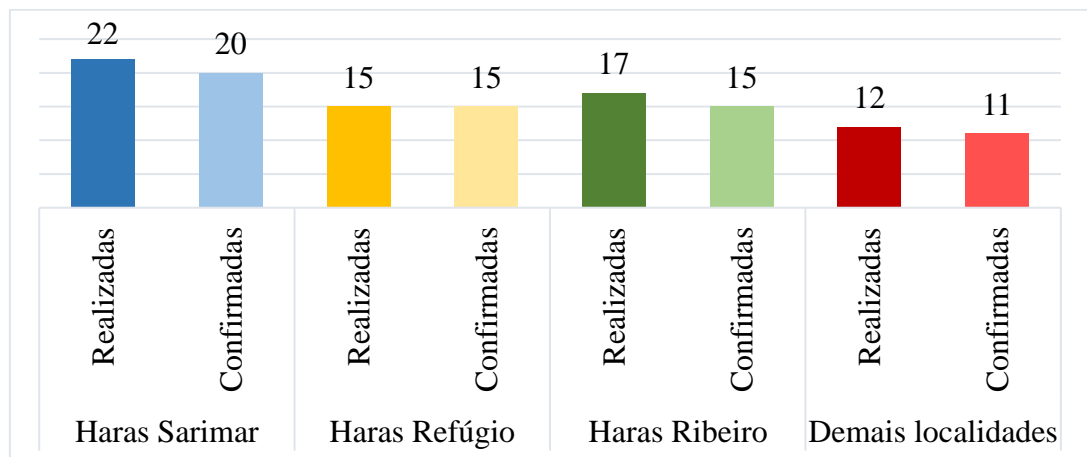
O Gráfico 2 representa o número de coletas de sêmen realizadas durante o período de dois meses de estágio, ao todo sendo realizadas 47 coletas, 28 para IA no Haras e 19 para envio de sêmen:

Gráfico 2 - Número de coletas de sêmen em cada Haras e seu destino.



Fonte: Do Autor (2022).

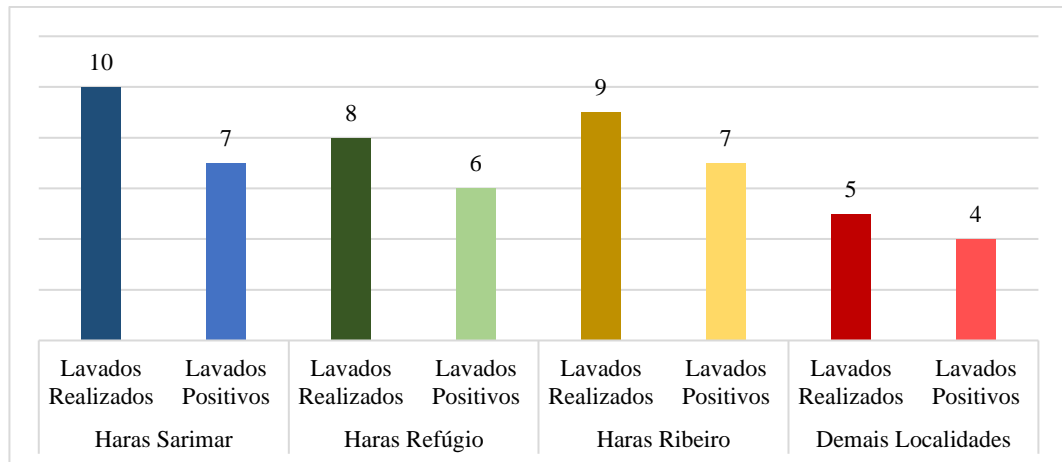
O Gráfico 3 mostra as IAs realizadas e confirmadas em cada localidade visitada. Ao todo foram realizadas 66 inseminações, com 61 confirmações de prenhez ≥ 15 dias após a ovulação, totalizando uma taxa de prenhez de 92,4%.

Gráfico 3 - Total de Inseminações Artificiais e gestações confirmadas ≥ 15 dias por localidade.

Fonte: Do Autor (2022).

O Gráfico 4 mostra a quantidade de lavados de embriões realizados e quantos destes foram positivos. Ao todo foram realizados 32 lavados de embriões, e destes 24 tiveram resultados positivos.

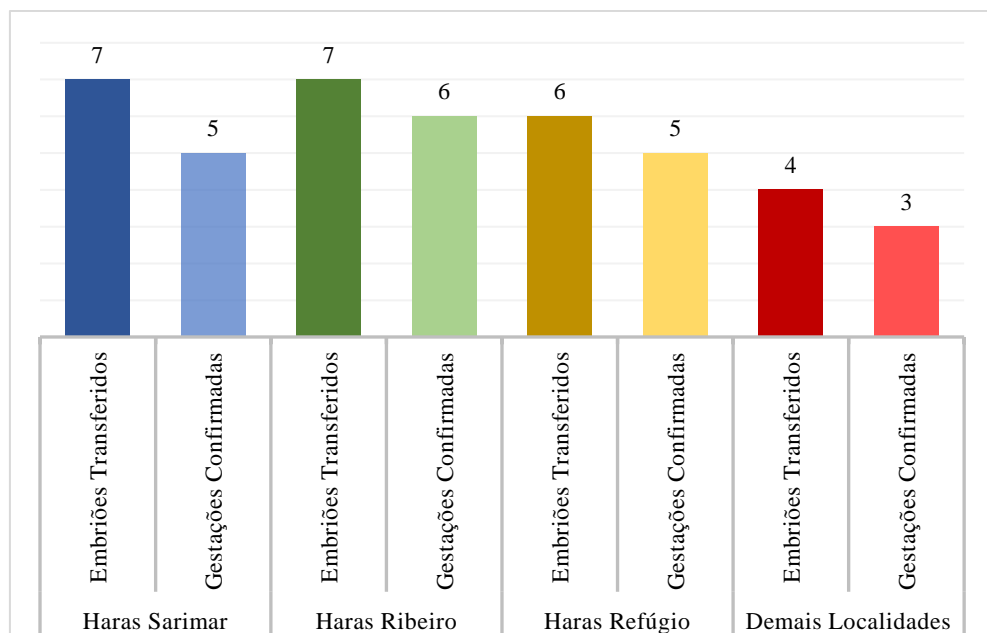
Gráfico 4 - Lavados de embriões realizados e positivos em cada localidade.



Fonte: Do Autor (2022).

O Gráfico 5 mostra quantos dos embriões recuperados nos lavados e transferidos para receptoras tiveram as gestações confirmadas com ≥ 15 dias. Ao todo foram realizadas 24 transferências de embrião, com 19 sendo confirmados com data ≥ 15 dias.

Gráfico 5 - Transferências de embriões realizadas e confirmadas nos locais acompanhados.

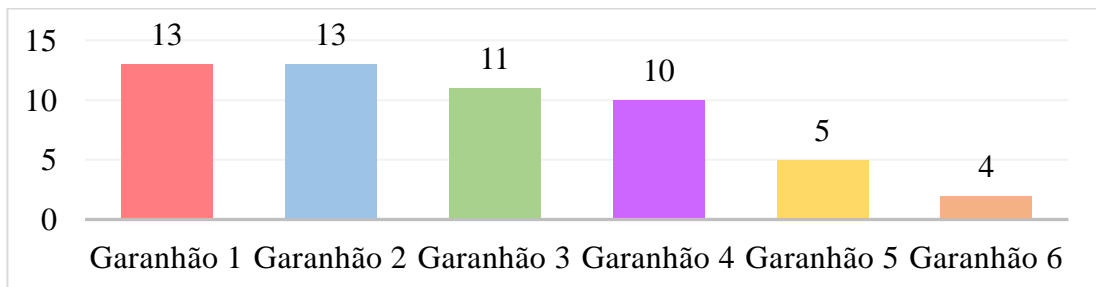


Fonte: Do Autor (2022).

3.2 Casuística na central de garanhões Favaretto Criovet

O Gráfico 6 mostra o número de coletas realizadas em cada garanhão, com seus nomes omitidos. Ao todo foram realizadas 56 coletas de sêmen de 6 garanhões distintos durante o período de estágio.

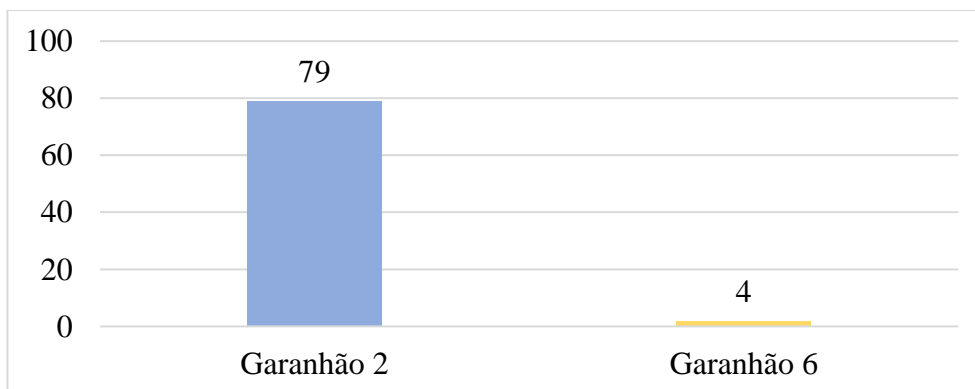
Gráfico 6 - Número de coletas realizadas por garanhão no período de estágio.



Fonte: Do Autor (2022).

O Gráfico 7 mostra quantos envios de sêmen refrigerado foram feitos a partir de cada garanhão, totalizando 83 envios. Vale ressaltar que não houveram envios de sêmen refrigerado dos demais garanhões.

Gráfico 7 - Envios de sêmen resfriado de cada garanhão.

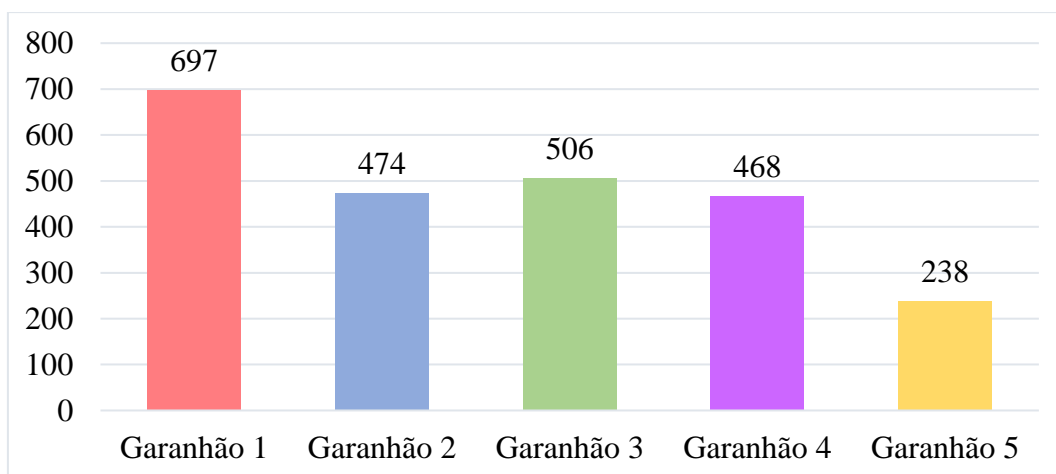


Fonte: Do Autor (2022).

O Gráfico 8 mostra quantas palhetas de sêmen criopreservado foram produzidas a partir do sêmen de cada garanhão, totalizando 2383 palhetas de sêmen criopreservado produzidas.

Vale ressaltar que não houveram congelamentos de sêmen do garanhão 6 sendo apenas enviado sêmen resfriado.

Gráfico 8 - Total de palhetas de sêmen criopreservado de cada garanhão produzidas.



Fonte: Do Autor (2022).

4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS

O enfoque principal deste estágio foi o acompanhamento da rotina em dois diferentes locais, a rotina a campo do Médico Veterinário Saulo Rabelo e a rotina da Central de Garanhões Favaretto Criovet, ambos trabalhando na reprodução equina, realizando as atividades de coleta de sêmen, avaliações ginecológicas e andrológicas, inseminação artificial e transferência de embriões, efetivamente contribuindo para o melhoramento genético da raça Mangalarga Marchador e de outras respectivas raças. As biotecnologias utilizadas permitem a diminuição do intervalo de gerações e a maior disseminação da genética dos animais selecionados, seja com a transferência de embriões de matrizes ou o congelamento de sêmen dos garanhões, afim de utilizá-lo em um maior número de matrizes. Todos os procedimentos realizados são pautados no recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA e pela literatura vigente (ALVARENGA; TONGU, 2017; COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; LOPES, 2015; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006; OLIVEIRA et al., 2013; PAPA et al., 2014).

O Agronegócio do Cavalo tem imensa importância no Brasil, movimentando cerca de 16,5 bilhões de reais anualmente, com algumas estimativas chegando a 30 bilhões, e gerando 3,6 milhões de empregos diretos ou indiretos (MAPA, 2016), além de possuir uma das maiores tropas de equídeos do mundo, composta por cerca de 5,96 milhões de animais no ano de 2021 segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Visto o tamanho deste mercado, movimentado por animais de lazer, esporte e trabalho vê-se a necessidade do melhoramento constante da espécie, sendo extremamente eficiente o uso de técnicas reprodutivas afins de aumentar a velocidade com que o mesmo ocorre, propiciando verdadeira evolução ao meio do cavalo.

4.1 Acompanhamento da rotina a campo

A rotina a campo consistiu em visitas a propriedades rurais e haras que criam a raça Mangalarga Marchador na microrregião de Carmópolis de Minas, onde o uso de biotecnologias reprodutivas propicia um maior ganho genético entre gerações, além de possibilitar maior disseminação genética de alguns animais e permitir melhores resultados refletidos na maior taxa de prenhez e concepção tanto em matrizes quanto receptoras (ALVARENGA; TONGU, 2017; BERTOZZO et al., 2014; BORTOT; ZAPPA, 2013; LOPES, 2015; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

A rotina do estágio consistiu em visitar e realizar o controle reprodutivo em três haras e sete pequenos criadores de cavalos da raça Mangalarga Marchador, acontecendo diariamente de segunda a sexta, ou conforme a agenda do supervisor e dos clientes. Os animais primeiramente são avaliados quanto ao seu estado geral de saúde, escore de condição corporal (ECC), além de ser realizado o exame ginecológico em matrizes, receptoras antes da realização de qualquer outro procedimento, como a inseminação artificial (IA) ou a transferência de embriões (TE), afim de garantir melhores resultados, estando de acordo com a literatura consultada (MUNROE, 2020; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019; SOARES, 2017).

4.1.1 Avaliação ginecológica de matrizes, receptoras e doadoras de embriões

A avaliação ginecológica é de suma importância para a reprodução animal como um todo, sendo a pedra angular de qualquer manejo reprodutivo, e de extrema necessidade principalmente para identificar fêmeas inférteis ou subférteis, as chamadas éguas problema, que não são desejáveis como receptoras, já que necessitarão de grande esforço, muitas vezes infrutífero, para que levem a gestação a termo, e se tratando de embriões transferidos, estes possuem alto valor agregado (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019; SOARES, 2017). Sendo assim, esse é o primeiro procedimento realizado em todas as éguas que os proprietários desejam utilizar para a reprodução, afim de se conhecer o animal e determinar se será possível realmente submeter ao manejo reprodutivo ou destiná-lo ao descarte.

4.1.1.1 Considerações sobre a anatomia do sistema reprodutor feminino

Primeiramente deve-se considerar a anatomia do sistema reprodutivo da égua, composto pelos ovários, ovidutos, útero, cérvix e genitália externa, e suas particularidades. O ovário da égua possui uma fossa ovulatória em sua borda e um revestimento seroso, o que torna necessária a migração do folículo até a fossa para que ocorra sua ovulação, o formato do ovário da égua é característico devido a essas particularidades, sendo similar a um grão de feijão, já seu útero é bicornual, com seus cornos formando um ângulo reto em relação ao corpo, sendo visível um formato de 'T' (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). A cérvix é semelhante a um esfíncter, composta por tecido conjuntivo

fibroso e musculatura lisa, permanece fechada sempre, com exceção durante o cio e o parto, na égua é composta por dobras longitudinais que seguem até a vagina, tem a função de barreira física, protegendo o útero do meio externo e mantendo sua esterilidade, além de auxiliar no transporte de espermatozoides além de os reservar e selecionar, impedindo a entrada de defeituosos (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

A vagina é composta pelas camadas epitelial, serosa e muscular, é o local onde o sêmen é depositado durante a cópula, até ser transportado e também serve como canal de excreção de secreções da cérvix, útero e tubas uterinas, além de possuir microbiota variada e própria. Por fim, a genitália externa é o canal de comunicação entre o meio externo e o trato reprodutivo feminino, formado pelo vestíbulo, lábios maiores e menores, clitóris e glândulas vestibulares (HAFEZ; HAFEZ, 2004; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

4.1.1.2 Considerações sobre o ciclo reprodutivo da fêmea equina

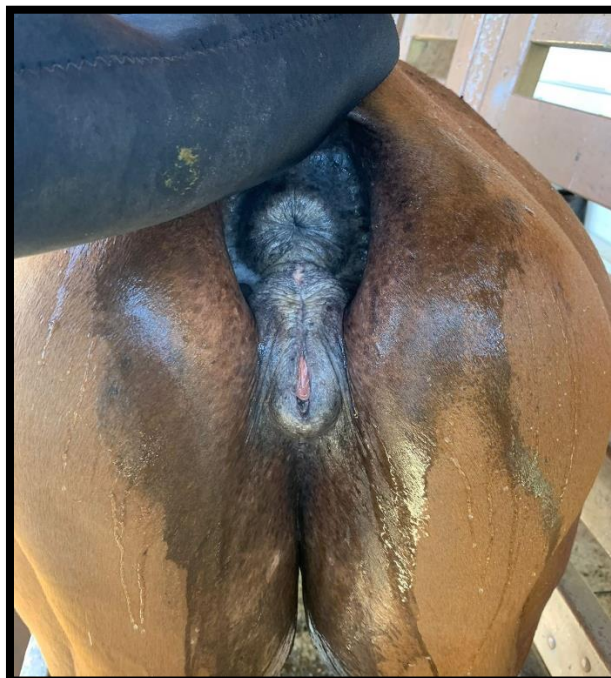
As éguas são poliétricas estacionais, sendo influenciadas por mudanças no fotoperíodo para começarem a ciclar, quando os dias começam a se tornar mais longos, após o solstício de inverno, durando em média 21 dias, podendo ser mais longo ou mais curto, a depender de uma série de fatores como a latitude onde se encontra, temperatura, estado nutricional, higidez fisiológica e até mesmo fatores genéticos, como raça ou linhagem do animal (BERTOZZO et al., 2014; HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; RAUBER, 2020).

Com o aumento gradativo das horas de luz a glândula Pineal diminuirá a produção da melatonina, que causa um feedback positivo que ativará o eixo Hipotálamo-Hipofisário, iniciando a secreção do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo, o qual agirá na hipófise, levando à secreção do Hormônio Folículo Estimulante (FSH), que estimula o crescimento das ondas foliculares, e do Hormônio Luteinizante (LH), que leva a luteinização do corpo hemorrágico estimula a ovulação (NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). O FSH e o LH possuem dois tipos de secreção, tônica, que estimulam o crescimento dos folículos ovarianos, e pulsátil, ligada principalmente a atividade do LH, que no fim da fase folicular apresentará pulsos de alta frequência, na égua ocorrendo um aumento gradual de sua secreção, até chegar em seu pico logo após a ovulação (GALLI et al., 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

4.1.1.3 A avaliação ginecológica da égua não gestante

A avaliação ginecológica propriamente dita acompanhada durante o período de estágio deu-se via palpação retal e, principalmente, a ultrassonografia do sistema reprodutivo das éguas examinadas. O exame é iniciado com a avaliação externa da vagina e do períneo, a qual deve possuir orientação vertical, afim de evitar que fezes e urina adentrem, o que predispõe a infecções uterinas ascendentes e, decorrente disso, baixa taxa de concepção desta égua (Figuras 6 e 7) (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; SOARES, 2017). Éguas mais velhas tem mais predisposição a essas afecções por perda da elasticidade dos tecidos e afrouxamento de ligamentos, o que traciona a região perineal, a angulando e permitindo a entrada de ar, fezes e urina na cavidade (ALVARENGA; TONGU, 2017; MUNROE, 2020; SOARES, 2017).

Figura 6 - Conformação da vulva de égua que apresentava coleção de líquido intra uterino durante o Ultrassom.



Fonte: Do Autor (2022).

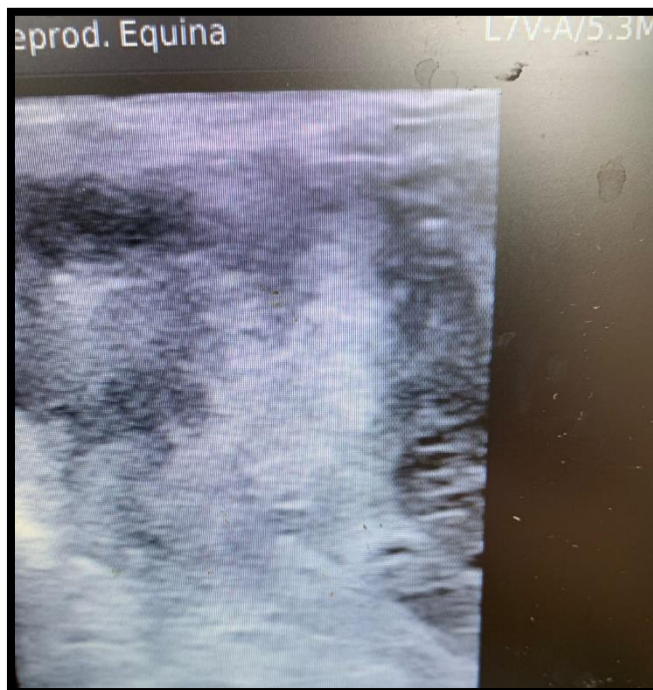
Figura 7 - Ultrassonografia denotando a presença de líquido intra uterino na égua apresentada na figura 6.



Fonte: Do Autor (2022).

Após a avaliação externa a próxima etapa do exame realizado durante o período de estágio é a avaliação de cérvix, útero e ovários, esta realizada através de palpação retal e ultrassonografia reprodutiva. A palpação transretal tem a função de avaliar a conformação dos órgãos reprodutivos das fêmeas examinadas, assim como o tônus da cérvix e do útero, tamanho e turgidez de folículos, assim como a fase do ciclo estral em que a égua se encontra, é uma ferramenta útil também na identificação de patologias reprodutivas como neoplasias e folículos anovulatórios, por exemplo, porém sempre que possível deve ser associada a ultrassonografia, permitindo maior precisão diagnóstica (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; SOARES, 2017). A ultrassonografia reprodutiva é de suma importância no exame ginecológico da égua, permitindo a visualização de estruturas internas dos órgãos, as quais não seriam observáveis caso fosse realizada a palpação retal, tais como a detecção de um corpo lúteo cavitário, gestações recentes, edema endometrial, presença de fluidos e secreções intrauterinas patológicas ou fisiológicas e afins (Figura 8) (GALLI et al., 2013; MAIA, 2021; SOARES, 2017).

Figura 8 - Ultrassonografia denotando a presença de um corpo lúteo no ovário.



Fonte: Do Autor (2022).

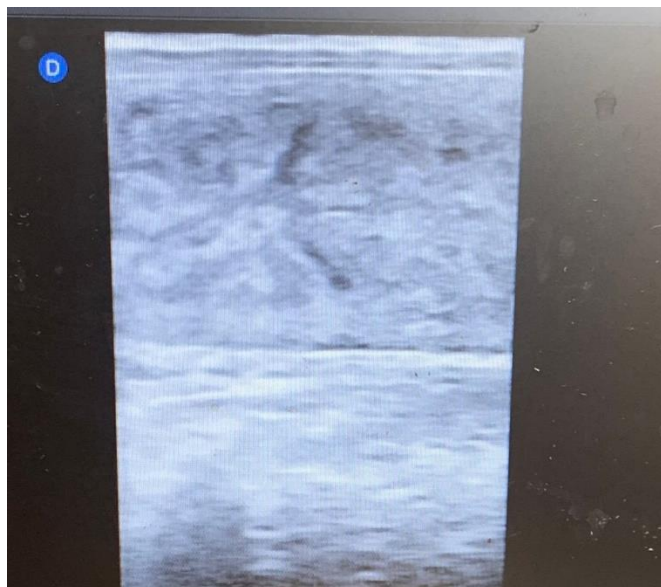
4.1.2 Detecção de Cio

O ciclo ovulatório da égua possui duas fases distintas, a fase luteínica, governada pelo corpo lúteo, também conhecida como Diestro, que dura cerca de 14 dias e a fase estrogênica, governada pelo folículo dominante, também chamada de Estro, onde ocorrem as manifestações do cio propriamente ditas, marcadas pela receptividade do macho, durando cerca de 7 dias (ALVARENGA; TONGU, 2017; BORTOT; ZAPPA, 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004). O estro possui diversas manifestações fisiológicas, as quais podem ser observadas em todo o sistema reprodutivo feminino.

No estro os lábios vulvares se tornam edemaciados e suas mucosas hiperêmicas, podendo ser facilmente examinados por se afrouxarem, além da vulva apresentar um muco transparente e brilhante, já na vagina ocorrerá o acúmulo de um muco aquoso e claro, a cérvix se abrirá, produzindo grandes quantidades de muco viscoso e opaco (HAFEZ; HAFEZ, 2004; SOARES, 2017). O útero é melhor avaliado via ultrassonografia, onde se apresentará aumentado devido ao edema, túrgido, além se apresentar caracteristicamente erétil, a ele será

atribuído um escore, pontuado de 1 a 4, baseado na sua vascularização e edema (Figura 9), que indicará o mínimo e o máximo edema e vascularização uterinos, Por fim, os ovários também são avaliados via ultrassonografia, onde o principal achado é a presença de um grande folículo dominante, com diâmetro superior a 30mm (CANESIN, 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; MAIA, 2021).

Figura 9 - Edema uterino grau 2 evidenciado pela ultrassonografia.



Fonte: Do Autor (2022).

A égua também apresentará durante o estro diversos sinais e mudanças comportamentais, principalmente pela ação do estrogênio, dentre estas observam-se a posição de micção, erguendo a cauda, relincha a procura do macho, urina em pequenas quantidades, e com odor característico e, por fim, ela contrai repetidamente a vulva, expondo o clitóris e é receptiva ao garanhão (HAFEZ; HAFEZ, 2004; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006; SOARES, 2017). A ultrassonografia é de suma importância, principalmente em casos de cios silenciosos, comuns em éguas acima do peso e em lactação, pois todas as alterações internas associadas ao mesmo ocorrerão, porém não as comportamentais, sendo necessária a avaliação do útero e dos ovários, afim de que este cio não seja perdido por ausência da observação (CANESIN, 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; MAIA, 2021). Durante o estágio supervisionado esses sinais foram observados e testados, expondo a égua a um garanhão lateralmente, evitando que a égua o atinja e permitindo que sejam visíveis

seus sinais comportamentais, auxiliando na detecção do estro para realização da inseminação artificial, juntamente com a avaliação ultrassonográfica do desenvolvimento folicular.

4.1.3 Inseminação Artificial

A inseminação artificial é uma das mais importantes técnicas reprodutivas desenvolvidas, pois possibilita que um único macho selecionado tenha descendentes com centenas, até mesmo milhares de fêmeas, que leva a um maior progresso genético do plantel e disseminação de características desejáveis (BORTOT; ZAPPA, 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006). Além da técnica correta, os animais devem estar hígidos, receberem um manejo alimentar adequado e balanceado e serem avaliados ginecologicamente, já o sêmen deve ser previamente avaliado quanto sua motilidade, vigor, espermatozoides viáveis e defeitos nos mesmos, sendo sua qualidade atestada, com todo o procedimento realizado higienicamente (BORTOT; ZAPPA, 2013; GALLI et al., 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006; SOARES, 2017).

4.1.3.1 Considerações sobre o sêmen utilizado

O sêmen utilizado para a IA pode passar por três diferentes tratamentos de conservação, cada qual com suas vantagens e desvantagens: fresco, recém colhido do garanhão, muitas vezes acrescido de diluentes e usado em no máximo duas horas, caso contrário perderá sua viabilidade; resfriado a 5°C e acrescido de diluente a base de antibióticos, açúcares e lipídeos, que auxiliam estender sua viabilidade por até 48 horas após a coleta original, possibilitando que seja transportado para localidades próximas e, por fim, o sêmen congelado, que é resfriado e conservado com crioprotetores, mantendo a célula espermática íntegra no processo de congelamento, e mantido conservado em nitrogênio líquido sob temperatura de -196°C (NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA; DUARTE; GAMBARINI, 2015; SNOECK et al., 2019).

Dentre as técnicas de conservação do sêmen, cada uma apresenta vantagens e desvantagens específicas, com o sêmen fresco possibilitando menores custos com diluidores, porém com rápida queda de seus parâmetros de qualidade, não os mantendo então e necessitando de se realizar a inseminação dentro da mesma propriedade em curto período de tempo (BERTOZZO et al., 2014; BORTOT; ZAPPA, 2013; RAUBER, 2020). Já o sêmen resfriado possui a vantagem de possibilitar melhor logística para a IA, onde pode ser utilizado

em éguas em propriedades mais distantes, além da redução da carga bacteriana pelo mix de antibióticos e os nutrientes presentes no diluidor contribuir para uma melhora na fertilidade e, por fim, possibilitar maior fracionamento do ejaculado, que poderá ser usado em mais éguas, sua desvantagem é a menor duração em relação ao sêmen congelado (BERTOZZO et al., 2014; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006). Por fim, o sêmen congelado pode durar anos em um botijão de nitrogênio líquido bem manejado, além de possibilitar que a genética de garanhões até mesmo de outros países, porém os espermatozoides congelados apresentam menor motilidade, impactando diretamente na fertilidade destes que torna necessária a inseminação no mínimo 24 horas antes da ovulação, e até 6 horas depois (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014; VITA et al., 2019).

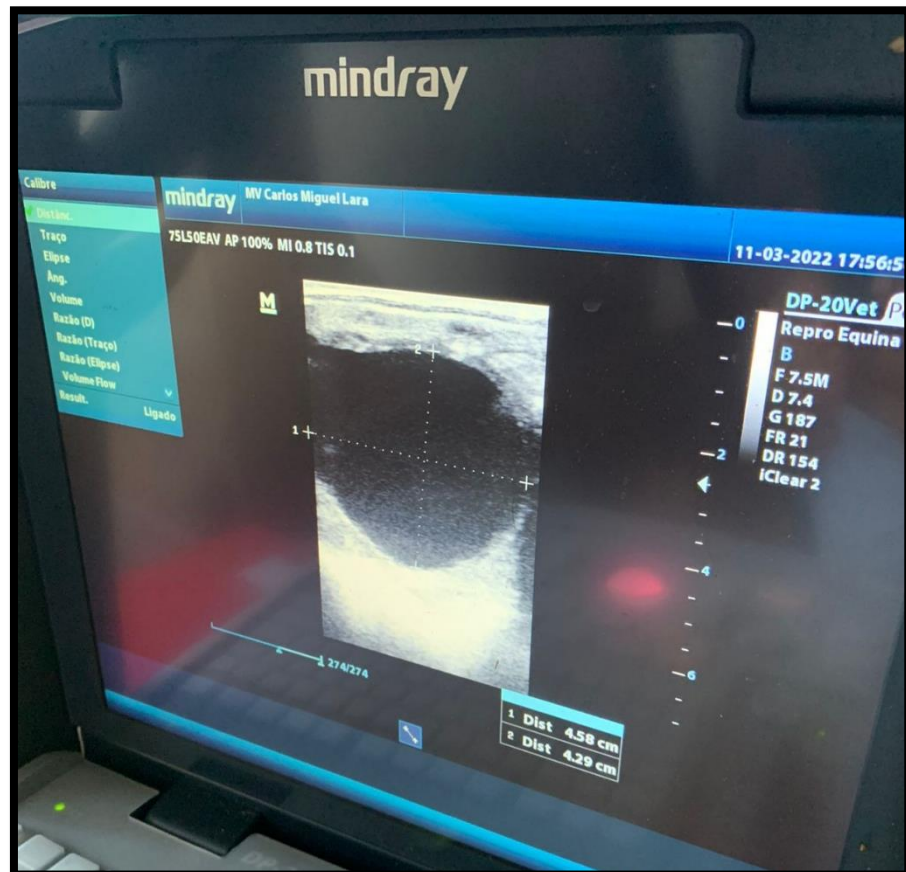
4.1.3.2 Técnica de Inseminação Artificial empregada durante o período de estágio

A inseminação artificial realizada durante o período de estágio foi realizada pela técnica convencional, com ênfase na higiene do procedimento. As éguas são contidas e suas caudas são enfaixadas e elevadas, afim de que não contaminem a região perineal ou o instrumental a ser utilizado caso as movam, em seguida a região perineal e caudal dos membros traseiros era higienizada com água corrente e solução detergente e germicida, garantindo a antisepsia da região, favorecendo o procedimento e a taxa de prenhez, além de evitar afecções de origem infecciosa na região da vagina e no útero, principalmente endometrites, as quais podem levar o animal à infertilidade (GALLI et al., 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006; SOARES, 2017).

As éguas eram submetidas a acompanhamento ultrassonográfico transretal uterino e folicular, avaliando o tamanho dos folículos e o grau de edema uterino de duas a quatro vezes ao dia, afim de prever o momento da ovulação, definindo então o melhor momento para a inseminação, que deve ocorrer entre 6 a 12 horas antes da ovulação até 6 horas depois, idealmente. Quando o era observado o diâmetro do folículo pré ovulatório igual ou maior que 35mm (Figura 10) associado a um edema uterino de escore 2 ou maior esses animais recebiam via intramuscular uma dose 1,5ml, correspondendo a 5.000 UI (Unidades Internacionais), de gonadotrofina coriônica humana (hCG) Vetecor®, associada a 3ml de Sincorrelin®, correspondendo a 750µg de acetato de deslorelina, um análogo sintético do GnRH, com a

função auxiliar na maturação final folicular e induzir a ovulação, a qual ocorrerá de 36 a 40 horas após a aplicação (BOAKARI, 2014; CANESIN, 2013; FARIA; GRADELA, 2010; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Figura 10 - Folículo pré ovulatório observado via ultrassonografia transretal.



Fonte: Do Autor (2022).

Assim que a ovulação é induzida é estimado o melhor horário para a inseminação da égua seguindo os parâmetros já supracitados. A técnica utilizada para a realização da IA é a convencional, com a égua adequadamente contida, cauda elevada e preferencialmente enfaixada, a região perineal e a comissura ventral da vulva é higienizada com água corrente e solução degermante e então segue-se para a inseminação propriamente dita, via palpação vaginal com luva plástica lubrificada, onde a pipeta de inseminação estéril é gentilmente inserida no canal vaginal e cérvix, até os transpassar, atingindo o corpo uterino anterior, onde

o sêmen será depositado, maximizando as chances de concepção (Figura 11) (BORTOT; ZAPPA, 2013; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006).

Figura 11 - Inseminação artificial de égua.

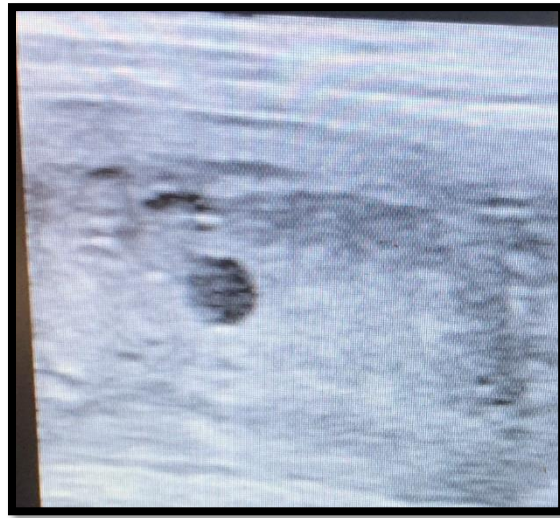


Fonte: Do Autor (2022).

Após a realização da IA, aos 14, 30 e 60 dias realiza-se o diagnóstico de gestação via ultrassonografia para a confirmação da prenhez ao cliente atendido. A principal vantagem do diagnóstico gestacional via ultrassonografia é a maior precocidade, permitindo a detecção da vesícula embrionária até 9 dias após a inseminação devido à sua morfologia distinta, sendo visualizada uma pequena esfera (Figura 12), aos 30 dias o embrião é visualizado circundado por uma área anecoica representada pelo líquido amniótico revestindo o mesmo, sendo que possuirá aproximadamente 30mm (Figura 13) (CAMACHO-ROZO et al., 2020; HAFEZ; HAFEZ, 2004; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). Aos 60 dias é possível a identificação das estruturas fetais já formadas, e principalmente, sendo possível a sexagem fetal pela observação do tubérculo genital, estrutura que dá origem ao pênis nos machos e ao clitóris na fêmea, ele se posiciona próximo ao cordão umbilical no macho e à base da cauda nas fêmeas,

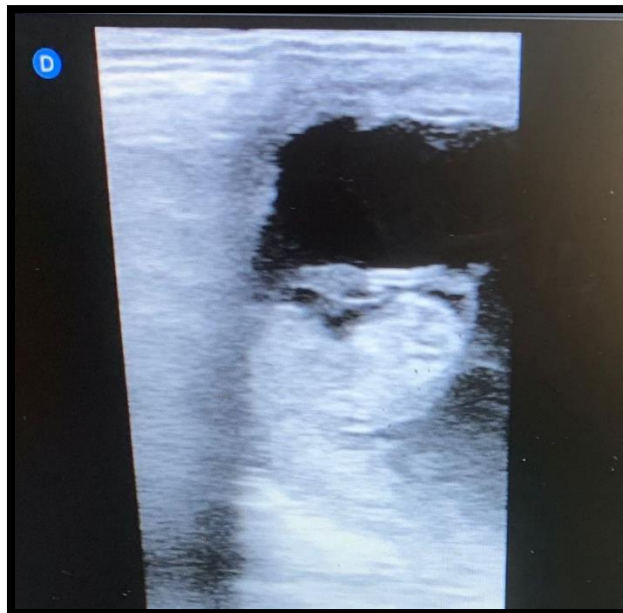
nesta fase o feto terá entre 66 e 90mm (Figura 14) (CAMACHO-ROZO et al., 2020; HAFEZ; HAFEZ, 2004; OLIVEIRA et al., 2014).

Figura 12 - Gestação confirmada de 12 dias.



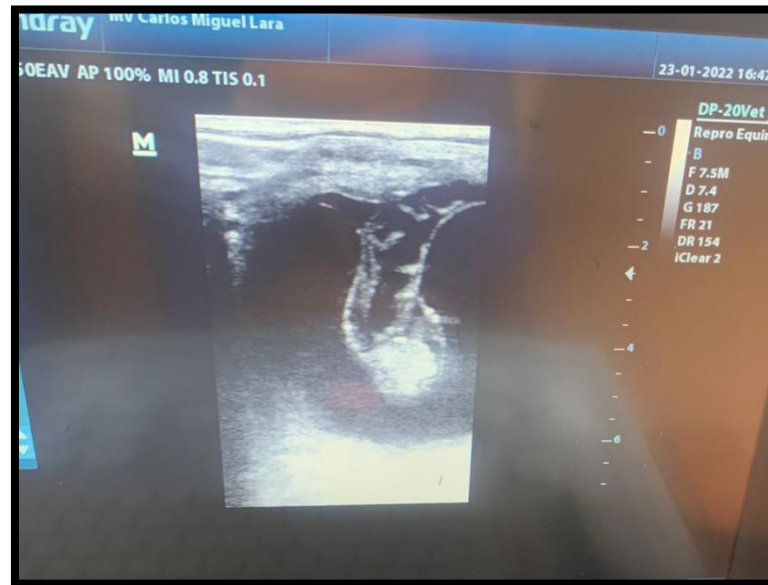
Fonte: Do Autor (2022).

Figura 13 - Gestação Confirmada de 35 dias.



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 14 - Gestação confirmada de 45 dias.



Fonte: Do Autor (2022).

Estas datas são escolhidas por representarem a janela de perda embrionária precoce em éguas, sendo multifatoriais, contando com fatores maternos, ambientais e embrionários, que englobam a idade da égua, manejo a qual é submetida, falha no reconhecimento materno da gestação, alterações no trato reprodutivo, deficiências nutricionais e afins, que contribuem para a perda precoce, já a perda tardia é mais rara, ocorrendo geralmente por causas infecciosas como a leptospirose e herpesvirose equina tipo I (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MARCHIORI SENA et al., 2016; MUNROE, 2020). A perda precoce pode ocorrer em até 10,7% das gestações entre 15 e 45 dias, sendo assim a confirmação nessas janelas específicas garante ao produtor maior confiabilidade que este conceito virá a termo, e também permite que não se desperdice tempo em caso de perda embrionária precoce, como ocorreria com apenas um diagnóstico aos 60 dias (CAMACHO-ROZO et al., 2020; HAFEZ; HAFEZ, 2004; MARCHIORI SENA et al., 2016).

4.1.4 Transferência de Embriões

A transferência de embriões (TE) é uma biotecnologia da reprodução considerada mais avançada que a IA sendo de certa forma uma contraparte desta para a fêmea, pois permite que uma égua selecionada tenha sua descendência ampliada através da transferência dos embriões produzidos, ou da coleta dos oócitos e fertilização *in vitro*, tornando possível que uma só égua gere centenas de descendentes, os quais serão transferidos para outras receptoras (ALVARENGA; TONGU, 2017; HAFEZ; HAFEZ, 2004; LIRA et al., 2009). Deve-se atentar que a técnica exige maior finesse e preparação que a inseminação artificial, necessitando de mais equipamentos, mesmo a campo, e maior preparação e avaliação das receptoras, pois o embrião na maioria das vezes possuirá grande valor agregado, vale ressaltar que todas as transferências de embrião realizadas durante o período de estágio foram à campo em éguas dos Haras Sarimar, Refúgio e Ribeiro, além de três lavados em outras propriedades.

4.1.4.1 Técnica utilizada para a TE durante o estágio

O início dos protocolos de TE acompanhados se deu pela seleção das matrizes doadoras e de suas receptoras, sendo preconizado duas receptoras por doadora se possível, avaliado aquela que apresentar o corpo lúteo melhor desenvolvido, além de útero e cérvix com o tônus adequados, já as matrizes são selecionadas quanto ao seu valor genético e baseadas na sua avaliação ginecológica, permitindo que até mesmo éguas de competição sejam utilizadas sem comprometer seu desenvolvimento (HAFEZ; HAFEZ, 2004; LIRA et al., 2009; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). Tão importante quanto a seleção da doadora e receptora é a sincronização de suas ovulações, o que ditará o sucesso do protocolo de transferência de embriões.

As receptoras e doadoras são avaliadas via ultrassonografia transretal durante o diestro, a fase progesterônica, buscando identificar um corpo lúteo ativo. Após a detecção do corpo lúteo essas éguas receberão uma dose de prostaglandina, afim de que ocorra a luteólise, seguida de uma segunda dose cerca de 10 dias após a primeira, o que sincronizará os ciclos estrais de todas as fêmeas, as receptoras recebem o mesmo tratamento que a doadora, porém dois dias depois, é importante que todas estejam entre os dias 6 e 14 do diestro para que o procedimento apresente os melhores resultados (ALVARENGA; TONGU, 2017; LIRA et al., 2009; LOPES,

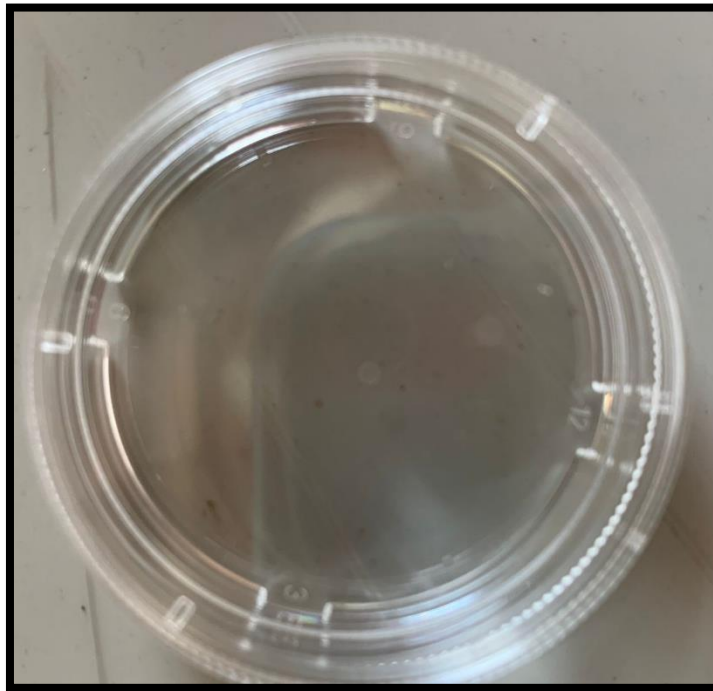
2015; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). Feito isso as éguas serão novamente acompanhadas via ultrassonografia, afim de definir o momento certo para realizar o protocolo de indução de ovulação, sendo o mesmo já citado anteriormente, usado na inseminação artificial, as doadoras então serão acompanhadas e inseminadas conforme a técnica descrita, diferentemente das receptoras.

Para éguas inseminadas com sêmen fresco ou refrigerado a o lavado para a coleta do embrião ocorrerá no D8 após a ovulação, já para o sêmen congelado este será realizado no D9, devido a perda de motilidade espermática decorrente do processo de criopreservação, garantindo então que todos os embriões estejam no intervalo ideal, entre D7 e D8 após a fertilização (ALVARENGA; TONGU, 2017; GALLI et al., 2013; LIRA et al., 2009). A égua deve ser adequadamente contida, levemente sedada se necessário, em seguida a antissepsia da região perineal e vulva para a realização da colheita de embrião transcervical.

Na realização da coleta um cateter de três vias com *cuff* é inserido por palpação vaginal, e através de manipulação digital transpassa a cérvix, sendo então inflado o *cuff* no corpo do útero, o que possibilita que a lavagem ocorra nos dois cornos ao mesmo tempo. A solução utilizada é o Ringer Lactato aquecido a 35°C, para que não haja nenhum dano ao embrião a ser recuperado, a lavagem é iniciada com a infusão de 1 a 2 litros da solução, que é recuperada via circuito fechado composto por equipos estéreis e um recipiente com filtro microporos para que o embrião seja retido, anexado ao cateter inserido no útero da doadora (Figuras 15 e 16) (LIRA et al., 2009; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019). São realizados 3 lavados por animal, com uma taxa de recuperação de embriões de 75% durante o período de estágio.

de coleta é disposto em uma placa de Petri marcada, e então é feito o rastreamento do embrião com o auxílio de uma lupa eletrônica no aumento de 10x (Figura 17). Encontrado o embrião este é aspirado com o auxílio de uma paleta e uma seringa de 1ml, e então transferido para o meio de manutenção comercial em outra placa, onde então serão avaliados e classificados.

Figura 17 - Embrião D8 no centro da placa de Petri.



Fonte: Do Autor (2022).

Os embriões recuperados podem estar nas seguintes fases de desenvolvimento: mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido. Estes serão avaliados quanto a integridade da zona pelúcida, extrusão, coloração, formato e simetria, então sendo atribuído um escore de 1 a 4 para os embriões, onde 1 é um embrião excelente, sem imperfeições visíveis, e 4 é um embrião morto ou degenerado, a qualidade do embrião interfere diretamente na taxa de prenhez deste, sendo então desejável a maior quantidade possível de embriões grau 1 e alguns grau 2 (LIRA et al., 2009; MCCUE, 2011; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

A transferência de embrião então ocorrerá em uma receptora pré selecionada e sincronizada, a qual deve possuir um corpo lúteo saudável e ativo, que possibilita altas concentrações de progesterona circulantes, levando a uma maior taxa de prenhez, cérvix firme e tônus uterino (HAFEZ; HAFEZ, 2004; LIRA et al., 2009; MCCUE, 2011; NOAKES;

PARKINSON; ENGLAND, 2019). O embrião selecionado é envasado em uma paleta junto com seu meio de manutenção em porções alternadas com ar, o que leva a uma maior proteção mecânica do mesmo. A inovulação é feita com uma pipeta de inseminação artificial embainhada, a qual protege o embrião de quaisquer contaminações, com técnica similar a descrita anteriormente para a IA o embrião será depositado no útero da receptora (ALVARENGA; TONGU, 2017; HAFEZ; HAFEZ, 2004; LIRA et al., 2009; LOPES, 2015).

As receptoras de embrião são avaliadas ultrassonograficamente de forma similar às éguas inseminadas artificialmente, onde são examinadas 30 e 60 dias após a transferência. Isso garante a prenhez após o fim do período de perda precoce embrionária, o mais crítico na gestação, onde pode ocorrer por diversos fatores já anteriormente descritos (CAMACHO-ROZO et al., 2020; MARCHIORI SENA et al., 2016; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019).

4.1.5 Coleta e envio de Sêmen

A coleta do sêmen é de suma importância para a realização das demais biotécnicas previamente descritas e acompanhadas durante o período de estágio, sendo um importante passo para possibilitar que o garanhão tenha sua descendência ampliada através da realização da IA em uma quantidade muito maior de fêmeas do que seria possível apenas com a monta natural, com maior aproveitamento do reprodutor (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014). A técnica de coleta é relativamente simples, porém deve-se realizar a mesma com segurança, o condutor do garanhão deve ter experiência e as éguas utilizadas para seu estímulo devem ser adequadamente contidas no caso da não utilização de um manequim para o procedimento, já que esta pode se debater e escoicear o garanhão, o lesionando, podendo até mesmo resultar em sua morte ou do condutor.

4.1.5.1 Considerações sobre a anatomia e fisiologia reprodutiva do garanhão

A atividade reprodutiva do garanhão, tal como na égua, é regida pelo eixo hipotálamo hipofisário gonadal, onde o GnRH estimula na hipófise a produção de LH, que agirá nas células de Leydig, que produzirão testosterona e estrógeno, e FSH, que age nas células de Sertoli, que secretam inibinas, ativinas e proteínas ligadoras de andrógeno, juntos estes hormônios

interferem na qualidade e quantidade de espermatozoides produzidos pelo testículo (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; PAPA et al., 2014). Os espermatozoides têm origem nas espermatogônias do epitélio seminífero, que passam por sucessivas divisões mitóticas e meióticas, formando espermátides, que passam pela espermiogênese e se tornam espermatozoides ainda não férteis, liberados na luz dos túbulos seminíferos, sendo direcionados para o epidídimo (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; PAPA et al., 2014).

No epidídimo ocorrerá a primeira fase da maturação espermática, adquirindo motilidade e capacidade de fecundação conforme são transportados pela estrutura e tem contato com o fluido epididimário, o que prepara os gametas para realizarem a fertilização e, por fim, são armazenados na cauda do epidídimo (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; PAPA et al., 2014). Ao saírem da cauda do epidídimo os espermatozoides terão contato com as secreções das glândulas anexas do sistema reprodutivo masculino, estimulando sua motilidade inicial. Essas glândulas são as glândulas bulbouretrais, próstata, ampola dos ductos deferentes e, por fim, as glândulas vesiculares, cada qual produzindo uma fração específica do ejaculado. Por fim, o pênis equino é do tipo musculocavernoso, que se intumescce com o estímulo da cópula com a fêmea ou um manequim caso seja condicionado, a ejaculação ocorre devido a esse mesmo estímulo, onde a contração do epidídimo, ductos deferentes e glândulas acessórias levam à ejaculação (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; PAPA et al., 2014).

Anterior à coleta o garanhão deve ser minuciosamente avaliado, com o exame andrológico sendo a pedra angular de uma coleta de sêmen bem feita de um animal saudável, sendo iniciado com o exame clínico geral, com parâmetros respiratórios, cardíacos e digestivos, o animal também será avaliado quanto a conformação de sua pelve e membros pélvicos, esperando que esteja livre de quaisquer condições que impeçam a realização da monta, tal como afecções tendíneas, podais, laminite e afins, assim prosseguindo para exames específicos (MONTEIRO, 2017; MONTEIRO et al., 2018; PAPA et al., 2014). O exame do sistema reprodutivo será o ponto mais importante, iniciando-se pelos testículos, que serão palpados e avaliados quanto a seu tônus, tamanho e simetria, assim como buscando aderências à parede do saco escrotal, possíveis hérnias inguinoescrotais, neoplasias e afins, além da palpação do epidídimo afim de constatais quaisquer alterações, o exame ultrassonográfico também pode ser realizado, buscando áreas de degeneração testicular e zonas de fibrose em seu parênquima, evidenciadas por zonas hiperecóticas na imagem, além de avaliar o funículo espermático e epidídimo (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; MONTEIRO, 2017).

4.1.5.2 Método de Coleta do Sêmen

A coleta do sêmen de garanhões é um procedimento comum, realizado rotineiramente durante o período de estágio, mesmo com esta rotina, cuidado e preparo são necessários, afim de que nem o animal ou o condutor sofram alguma lesão. O primeiro passo para a realização da coleta é a higienização do pênis do garanhão, com este sendo exposto e lavado com água corrente, afim remover todo o esmegma, debris celulares, secreções e outras sujidades ambientais que interferem negativamente na qualidade do sêmen, o que afeta negativamente a fertilidade deste (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014).

Com o garanhão preparado, este é conduzido para o local de coleta, e o manequim ou a égua são preparados previamente. No caso do uso das éguas estas devem ser restringidas com auxílio de cordas e amarrios, afim de impedir que escoiceiem o macho, e seu condutor e o veterinário durante a monta, além de estarem no período do estro, afim de estimulá-lo. O modelo de vagina artificial utilizado é o Botucatu, e esta é preparada previamente, sendo desinfetada e seu compartimento enchido com água entre 42° e 45°, temperatura recomendada pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014). Assim que garanhão inicia a monta, seu condutor, utilizando luvas de procedimento afim de evitar qualquer contaminação, desviará o pênis para a vagina artificial previamente preparada, a mantendo estável durante as estocadas até o final da monta, esta deve ser angulada para que o ejaculado não seja perdido e escorra completamente para o fundo do coletor (Figura 18).

Figura 18 - Coleta de sêmen no Haras Ribeiro.



Fonte: Do Autor (2022).

4.1.5.3 Avaliação do ejaculado

Realizada a coleta do sêmen, ele parte para sua avaliação de características macroscópicas e microscópicas, sendo então dada a qualidade do ejaculado deste animal. A avaliação macroscópica consiste na medição do volume livre de gel, o qual é removido com seringas ou pipetas previamente, sendo o esperado para garanhões saudáveis entre 20 e 80ml de ejaculado de coloração branco acinzentada a leitosa, não sendo aceita a presença de sangue ou outras secreções no mesmo, odor *suis generis* e densidade leitosa (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014). O pH é avaliado com o auxílio de fitas de medição comerciais, sendo esperados valores entre 7 e 7,5, com qualquer valor acima ou abaixo desse intervalo comprometendo a fertilidade dos espermatozoides. A avaliação microscópica possui três principais etapas, não necessariamente realizadas em ordem específica, todos seguindo recomendações do CBRA: determinação da concentração espermática, avaliação da motilidade e vigor dos espermatozoides e avaliação morfológica dos espermatozoides (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014).

A determinação da concentração espermática é iniciada com a retirada de uma alíquota de 20µl usando uma micropipeta e então é diluída em 1ml de água destilada aquecida, uma fração será então colocada em uma câmara de Neubauer previamente montada. Feito isso, conta-se todos os espermatozoides em cinco quadrados de cada retículo, podendo ser feito de forma diagonal ou dos quatro cantos e o centro, em seguida realizando-se a média aritmética de entre todos os retículos, essa média é então dividida pela diluição realizada (1/20) multiplicada pela altura entre lamínula e base da câmara (1/10) e pela área dos quadrados contados em relação aos demais (5/25), então obtendo a concentração espermática em mm³, que será multiplicada por 10³, definindo a concentração espermática por ml, que em um garanhão saudável deve estar entre 100 e 200 milhões/ml (1 – 2 x10⁸/ml) (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; PAPA et al., 2014).

Os exames de motilidade e vigor são de realização relativamente simples, onde será colocada uma gota do sêmen coletado em uma lâmina de vidro, que em seguida é coberta com uma lamínula, ambas aquecidas. O conjunto lâmina-lamínula é então examinado via microscopia nas objetivas de 10x e 20x, sendo diluída com fórmula comercial caso a amostra esteja excessivamente concentrada. O vigor é baseado na velocidade de deslocamento dos espermatozoides, sendo atribuídos escores de 0 a 5, quanto maior a velocidade, maior o vigor, sendo desejável que este seja maior ou igual a 3, afetando negativamente a fertilidade do ejaculado os escores menores. Já a motilidade é mensurada em uma escala entre 0 e 100%, representando a porcentagem de células móveis neste ejaculado, onde o desejável é que esta seja acima de 70%, também afetando negativamente a fertilidade caso seja menor (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014).

O último exame a ser realizado é a avaliação morfológica dos espermatozoides presentes no ejaculado, feita também através da microscopia óptica. Uma gota de sêmen é depositada em uma lâmina de vidro e realiza-se o esfregaço, este é deixado secando à sombra e após isso segue-se para a coloração. Diversas colorações podem ser realizadas, como o Panótico e o Karras modificado, o segundo sendo recomendado pela CBRA, onde a lâmina é imersa no corante primário, o Rosa Bengala, por dois minutos, em seguida lavando-a em água corrente e imergindo-a por 60 segundos em Tanino, lava-se uma segunda vez e parte-se para o contracorante Azul Vitória por mais 30 segundos, realizando a lavagem final da lâmina e deixando que seque antes de examiná-la no maior aumento na microscopia de luz.

A análise da lâmina então corada é feita seguindo uma sequência lógica, lendo-a da esquerda para a direita, progredindo primeiro verticalmente e em seguida horizontalmente, em um movimento de sobe e desce constante enquanto se progride em direção à outra borda da lâmina. Desta forma se contam 200 espermatozoides, os separando em saudáveis ou anormais, estes divididos conforme suas patologias (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014).

As patologias espermáticas são classificadas em defeitos maiores, que afetam diretamente a fertilidade da célula, e defeitos menores, que não apresentam interferência direta sobre a fertilidade, dentre os defeitos maiores podem ser citadas as células com a cabeça subdesenvolvida, com conformação anormal, piriforme, defeitos na peça intermediária, cauda dobrada ou enrolada, formas teratológicas do espermatozoide e etc. Já os defeitos menores mais comuns são células com alterações de tamanho na cabeça, porém normais, caudas inseridas de forma oblíqua ou fora do eixo principal e com pequenas dobras. Estes defeitos podem ser de origem genética, por conta de degeneração testicular, animais há muito tempo sem coletar ou imaturos, disfunções epididimárias, e até mesmo pela idade avançada de um garanhão. o CBRA define que o máximo de defeitos espermáticos aceitos para garanhões não ultrapasse 30% das células examinadas (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004; SILVA et al., 2017).

Feita a coleta e terminada a análise do sêmen este estará pronto para a utilização na propriedade ou para o envio. O sêmen fresco *in natura* será usado diretamente na IA das éguas na mesma propriedade onde o garanhão se encontra, devendo isso ocorrer em menos de duas horas após a coleta, já o sêmen resfriado será diluído com diluentes comerciais compostos por antibióticos, complexos minerais, proteicos e açúcares na relação 1:1, em seguida este será resfriado em caixa térmica com o auxílio de pacotes de gelo reciclável em temperatura entre 5 e 10°C, enfim sendo enviado para que este seja utilizado em até 48 horas por outros criadores (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MUNROE, 2020; NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2019; NUNES; ZÚCCARI; COSTA E SILVA, 2006).

4.2 Rotina de estágio na Central de Garanhões Favaretto Criovet

A central de garanhões Favaretto Criovet trabalha desde 2019 com a coleta, avaliação, envio e criopreservação de sêmen equino. Os garanhões são advindos de diversos haras e

criadores de equinos, sua entrada só será permitida com a apresentação de um atestado negativo para Anemia Infecciosa Equina e Mormo, além da Guia de Trânsito Animal, ambos emitidos por um Médico Veterinário credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Após a entrada o animal será alocado em uma baia afastada das demais, iniciando seu período de quarentena, onde será acompanhado e avaliado diariamente, afim de evitar que este seja transmissor de possíveis patógenos para os outros garanhões, e também auxiliando na aclimatação do garanhão ao local.

Os garanhões recebem alimentação baseada em feno de tifton, ração peletizada, água e sal mineral *ad libitum*, além de serem suplementados com Botumix Plus Garanhão®, afim de garantir a melhor qualidade de gametas possível, eles são soltos durante a manhã em piquetes e estabulados durante o período da tarde e noite. A coleta é realizada seguindo as indicações do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA, sendo realizada dia sim, dia não, evitando a perda de qualidade do sêmen por coletas excessivas diárias. Estes animais também passarão por exames andrológicos frequentes, com avaliação da qualidade do sêmen e integridade do sistema reprodutivo, sendo realizada de forma similar à porção anterior do estágio.

4.2.1 Coleta de sêmen

O método de coleta de sêmen utilizado na Central de Garanhões Favaretto Criovet é o mesmo endossado pelo CBRA, diferenciando-se da porção anterior do estágio por utilizar um manequim para a monta e coleta do sêmen, com uma égua no estro próxima para estimulá-lo. O garanhão será conduzido de sua baia ou piquete até a sala de coleta, onde será estimulado pela égua no cio até que exponha o pênis para a higienização de seu pênis, ela será realizada apenas com água morna com o sistema da sala de coleta, afim de remover todo o esmegma, restos de urina, sujidades ambientais, debris celulares, secreções e afins, que impactam negativamente na qualidade do ejaculado coletado, feita a lavagem será realizada a secagem com toalhas de papel, prosseguindo para o próximo passo (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Figura 19 - Garanhão estimulado pela presença de égua no cio na sala de coleta da central Favaretto Criovet.



Fonte: Do Autor (2022).

Durante a higienização do pênis do garanhão, a vagina artificial será montada, sendo também usado o modelo Botucatu, preenchida com água entre 50 e 55°C e montado o copo coletor na sala suja da central, com descarte de todos os materiais após o uso, o manequim será envolvido com papel filme e reforçado com fita adesiva, afim de que as secreções de um garanhão não entrem em contato com as de outro. O garanhão será conduzido até o manequim, onde será estimulado a realizar a monta (Figura 20), então seu pênis será desviado para a vagina artificial, que deve ser firmemente segurada até que o animal ejacule e a monta chegue ao fim, ela será inclinada e esvaziada da água, facilitando que todo o sêmen escorra para o copo coletor, o garanhão então será reconduzido para seu piquete.

Figura 20 - Coleta de Sêmen na central Favaretto Criovet.



Fonte: Do Autor (2022).

4.2.2 Processamento do sêmen coletado

Realizada a coleta, o sêmen é levado para o laboratório da Favaretto Criovet, onde a primeira etapa será realizar os testes para a determinação da concentração espermática. A concentração espermática é realizada por um fotômetro SDM1 Minitub®, onde uma alíquota do ejaculado é colocada na microcuveta do fotômetro e este é iniciado e realizará uma série de leituras, realizando a média de concentração destas e apresentando em poucos segundos a concentração espermática por mililitro do sêmen testado (PEÑA; MARTIN-MUÑOZ; ORTEGA-FERRUSOLA, 2017). Com o resultado da concentração por mililitro de ejaculado, esta é multiplicada pelo volume total em ml do ejaculado, afim de obter a concentração espermática total deste ejaculado, deste resultado será subtraído 10% da concentração total, afim de que se tenha uma margem de segurança dos valores do ejaculado.

A diluição será feita utilizando diluidor de sêmen comercial Botu Turbo® para envios de sêmen resfriado, sendo feita na proporção de uma parte de sêmen para uma parte de diluidor, ou até que atinja as concentrações preconizadas pelo CBRA de 50 milhões de espermatozoides por ml (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014). O sêmen já diluído então passará pelo espermograma, determinando-se o vigor, motilidade progressiva e motilidade total, essas informações são anotadas nas etiquetas de cada frasco e nos atestados de qualidade que são enviados com o sêmen, a técnica dessas análises é a mesma descrita anteriormente (HAFEZ; HAFEZ, 2004; PAPA et al., 2014; SILVA et al., 2017). Caso o sêmen seja utilizado a fresco ou resfriado, este será envasado nos frascos de transporte de sêmen Botu IA®, que serão etiquetados com as informações acima citadas, e em doses suficientes para a realização da IA (Figura 21). Os frascos são acondicionados então nas caixas térmicas de transporte Botuflex®, juntamente com dois pacotes de gelo reciclável, mantendo a temperatura abaixo de 20°C para que o metabolismo dos espermatozoides diminua, o que prolonga a sua viabilidade, as caixas são lacradas e despachadas para os clientes (Figura 22).

Figura 21 - Sêmen acondicionado em bisnagas Botu IA para o envio.



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 22 - Frasco de sêmen resfriado pronto para envio.



Fonte: Do Autor (2022).

4.2.3 Criopreservação do sêmen

O procedimento para a criopreservação do sêmen segue os mesmos passos iniciais que o sêmen que será comercializado refrigerado, seguindo sua própria linha de procedimentos padrões operacionais após a realização da diluição e análise da motilidade e vigor. Feita a diluição com Botu Special® ou Botu Gold® o sêmen será fracionado em tubos Falcon, que serão acondicionados em uma centrífuga específica, onde serão centrifugados a 600G/2200rpm por 10 minutos (Figuras 23 e 24).

Figura 23 - Sêmen diluído acondicionado em tubos falcon antes da centrifugação.



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 24 - Tubos falcon com sêmen diluído acondicionados na centrífuga.



Fonte: Do Autor (2022).

Após a centrifugação o plasma seminal e o diluente anterior serão removidos, restando apenas o pellet centrifugado de células espermáticas ao fundo do frasco (Figura 25). O novo diluente, específico para a diluição de sêmen que será congelado é então adicionado, sendo utilizada a formulação comercial Botucrio®, até que a concentração de 220 milhões de espermatozoides por mililitro seja atingida, 10% acima do recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014; SNOECK et al., 2019). O Sêmen diluído com crioprotetor será envasado em palhetas médias de 0,5ml, as quais possuirão 110 milhões de espermatozoides cada, estas são identificadas com o nome do garanhão, sua raça, número de registro e partida, que serão finalmente lacradas com esferas de vidro ou álcool polivinílico (Figura 26).

Figura 25 - Pellet formado ao fundo do frasco.



Fonte: Do Autor (2022).

Figura 26 - Envase das palhetas de sêmen para a criopreservação.



Fonte: Do Autor (2022).

As palhetas lacradas seguem para o congelamento, o qual ocorrerá pela utilização dos congeladores automáticos de sêmen NEOVET ® ou TK3000, onde serão dispostas nos racks e o protocolo de congelamento de sêmen será iniciado na temperatura ambiente (OLIVEIRA; DUARTE; GAMBARINI, 2015; VITA et al., 2019). Começa-se por uma curva de resfriamento leve, de 0,8°C por minuto, até que a temperatura de 5°C seja atingida e mantida estável por 20 minutos. Feito o resfriamento inicial das palhetas de sêmen, a curva negativa é iniciada, com uma diminuição muito mais brusca das temperaturas, com a redução de -40°C por minuto até que a temperatura de -196°C seja atingida e o protocolo de congelamento finalizado(OLIVEIRA; DUARTE; GAMBARINI, 2015; VITA et al., 2019).

Antes do armazenamento das palhetas uma amostra será descongelada em banho maria a 46 °C por 20 segundos, para que a análise da qualidade espermática do sêmen criopreservado. As análises de motilidade e vigor serão realizadas normalmente, e o sêmen será liberado para o armazenamento caso atinja os parâmetros mínimos estabelecidos pelo Central na qual era de 40% ; 10% acima do recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, onde a motilidade deverá ser maior ou igual a 30%, o vigor deverá ser maior ou igual a 3 e os espermatozoides normais deverão representar fração maior ou igual a 60% do total, os quais garantem a qualidade do sêmen a ser utilizado e permitem a maior chance de fertilização os óvulos em IA (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998; PAPA et al., 2014). O sêmen que passar pela aprovação será então armazenado em botijões de nitrogênio líquido específicos para palhetas de sêmen, que por sua vez ficarão na sala de botijões da

Favaretto Criovet, o garanhão será identificado nas palhetas e no rack em que forem acondicionadas no botijão (Figura 27).

Figura 27 - Botijões de nitrogênio líquido em sua sala na central Favaretto Criovet.



Fonte: Do Autor (2022).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reprodução equina tem faces distintas, a rotina autônoma a campo e a rotina de uma central de garanhões, porém ambas intimamente ligadas de intrincada forma, sendo necessário o serviço a campo para o sucesso das centrais, Médicos Veterinários capacitados que podem realizar com qualidade a disseminação de genética dos garanhões de renome dentro das raças. É uma área com imenso potencial para crescimento pessoal e profissional, visto o tamanho do complexo do agronegócio do cavalo, que possibilita a disseminação facilitada de biotécnicas avançadas da reprodução, já que há fluxo financeiro o suficiente para tal

Todas as atividades realizadas e acompanhadas mostram apenas uma fração de todo o mercado equino e da rotina de reprodução animal, este sendo vasto e cheio de minúcias. As biotécnicas empregadas são de grande valia principalmente para a raça Mangalarga Marchador, a presente em todos os haras e propriedades visitados, possibilitando que essa raça genuinamente brasileira e mineira se torne a cada dia mais única, refletindo toda sua significância para a equideocultura nacional.

6 CONCLUSÕES

O período de estágio Central Favaretto Criovet e com Saulo Eduardo Rabelo me propiciaram muito aprendizado e uma imersão e vivência inestimáveis no vasto mundo da reprodução equina, abrindo minha mente dentro da área e criando laços e contatos dentro do meio do cavalo.

Ainda concluo que há muito a se estudar e desenvolver quanto a reprodução equina, e o próximo grande desafio é a transição para uma era de genômica e tecnologias reprodutivas mais complexas, como a coleta de ovócitos de animais infantis e até mesmo a clonagem, que propiciam rápido melhoramento e conservação de animais superiores, porém sendo limitado pelos custos das técnicas supracitadas. Ainda concluo que as biotécnicas de inseminação e transferência de embriões jamais deixarão de ser relevantes, sendo a base para todas as demais biotécnicas mais avançadas e ainda propiciando imensas vantagens e ganhos genéticos para o plantel equino brasileiro.

O aprendizado obtido durante este período de estágio certamente se mostra inestimável para a formação profissional, o qual será aplicado não mais apenas academicamente, e sim de maneira prática, permitindo com que seja trilhado o caminho para em minha área escolhida dentro da medicina veterinária, abrindo novos horizontes e ampliando ainda mais a busca por conhecimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, M. A.; TONGU, E. A. O. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 41, n. 1, p. 19–24, 2017.
- BERTOZZO, B. R. et al. Vantagens e desafios das biotécnicas avançadas utilizadas na reprodução equina assistida. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 1, p. 84–93, 2014.
- BOAKARI, Y. L. **EFEITO DA HCG OU DESLORELINA SOBRE A HEMODINÂMICA FOLICULAR E PERFIL ENDÓGENO DE LH EM ÉGUAS CÍCLICAS**. Botucatu: 2014.
- BORTOT, D. DO C.; ZAPPA, V. ASPECTOS DA REPRODUÇÃO EQUINA: INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E TRANFERÊNCIA DE EMBRIÃO: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, n. 21, 2013.
- CAMACHO-ROZO, C. A. et al. Avaliação inicial da gestação equina por ultrassonografia 3D – Relato de caso. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 44, n. 1, p. 39–42, 2020.
- CANESIN, H. DE S. **CARACTERIZAÇÃO DA HEMODINÂMICA UTERINA DE ÉGUAS DURANTE O CICLO ESTRAL**. Botucatu: 2013.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal - CBRA**. 2ª ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. v. 1
- FARIA, D. R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina Hormoniototherapy applied to equine gynecology. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 34, n. 2, p. 114–122, 2010.
- GALLI, C. et al. Equine assisted reproduction and embryo technologies. **Anim. Reprod.**, v. 10, n. 3, p. 334–343, 2013.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. [s.l.] Manole, 2004.
- LIRA, R. A. et al. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM EQUINOS: REVISÃO [Embryo transfer in equine species: review]. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, p. 132–140, 2009.
- LOPES, E. DE P. Transferência de embriões equinos: maximizando resultados com a escolha de receptoras. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 39, n. 1, p. 223–229, 2015.
- MAIA, H. G. O. **CONDIÇÃO UTERINA E OVARINA NO PÓS-PARTO E FERTILIDADE NO CIO DO POTRO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR**. Montes Claros: 2021.
- MAPA. **Estudo do Complexo do Agronegócio do Caval**. Brasília: 2016.
- MARCHIORI SENA, L. et al. Principais causas de perdas gestacionais na espécie equina: Revisão. **PUBVET**, v. 10, n. 12, p. 933–945, 2016.
- MCCUE, P. M. Transferência de embriões em equinos: avaliação do embrião. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia CRMV SP**, v. 9, n. 3, p. 80–83, 2011.

MONTEIRO, G. A. Ultrassonografia aplicada ao exame andrológico em garanhões. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 41, n. 1, p. 157–168, 2017.

MONTEIRO, G. A. et al. **Afecções reprodutivas e sua influência na fertilidade do garanhão**. Anais da III Reunião Anual da ABRAA - Associação Brasileira de Andrologia Animal. **Anais...** Editora UFMS, 2018.

MUNROE, G. **Equine Clinical Medicine, Surgery and Reproduction**. 2^a ed. Boca raton, Florida: CRC Press, 2020.

NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C. W. **Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 10^a ed. [s.l.] ELSEVIER, 2019.

NUNES, D. B.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; COSTA E SILVA, E. V. DA. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 30, n. 1/2, p. 42–56, 2006.

OLIVEIRA, G. C. et al. Criopreservação do sêmen equino: uma revisão Cryopreservation of equine semen: a review. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 37, n. 1, p. 23–28, 2013.

OLIVEIRA, R. A. et al. Sexagem fetal em equinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 38, n. 1, p. 37–42, 2014.

OLIVEIRA, R.; DUARTE, F.; GAMBARINI, M. Comparison between the conventional and automated systems for frozen cooled equine semen. **Anim. Reprod.**, v. 12, n. 2, p. 324–327, 2015.

PAPA, F. O. et al. **MANUAL DE ANDROLOGIA E MANIPULAÇÃO DE SÊMEN EQUINO**. 1^a ed. Botucatu: 2014. v. 1

PEÑA, F. J.; MARTIN-MUÑOZ, P.; ORTEGA-FERRUSOLA, C. Advances in flow cytometry in basic and applied equine andrology. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 1, p. 136–142, 2017.

RAUBER, O. H. **RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO: ÁREA DE REPRODUÇÃO EQUINA**. Caxias do Sul: 2020.

SILVA, L. T. DA et al. **COMPARAÇÃO MORFOLÓGICA DA CÉLULA ESPERMÁTICA EQUINA NO SÊMEN FRESCO E REFRIGERADO**. Anais: Encontro Anual da Biofísica (2017). **Anais...** Editora Edgard Blucher, Ltda., 29 mar. 2017.

SNOECK, P. P. DAS N. et al. Can we use LDL instead of egg yolk in BotuCrio® extender to cryopreserve sperm from the Mangalarga Marchador stallion? **Animal Reproduction**, v. 16, n. 2, p. 340–347, 2019.

SOARES, C. M. T. **Avaliação ginecológica de éguas receptoras de embrião via diferentes métodos de diagnóstico**. Viçosa: 2017.

VITA, B. et al. Influence of systems and freezing curve in equine semen freezability and fertility. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 3, p. 770–776, 1 maio 2019.