

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO EM EQUINOS (TAXA DE PRENHEZ PRÉ E PÓS OVULAÇÃO)

ARTIFICIAL INSEMINATION WITH FROZEN SEMEN IN EQUINES (PREGNANCY RATE PRE AND POST OVULATION)

Giulia Bobato¹, Maria Eduarda Gonçalves de Jesus², Liliane Aparecida Oliveira de Paula³

¹ Estudante do Curso de Medicina Veterinária

² Estudante do curso de Medicina Veterinária

³ Professora do Curso de Medicina Veterinária

Resumo: A evolução da equinocultura está ligada a ascensão não apenas dos animais para o lazer, mas dentro de cada raça a utilização para esportes e exposições, o que tem promovido o aumento da busca por melhoramento genético que proporciona uma seleção dentro dos plantéis dos criadores em raças variadas. A reprodução equina tem evoluído em busca de maximizar os índices reprodutivos e o uso da estação de monta que é afetada pelo fotoperíodo em éguas, com isso avaliar o melhor momento da inseminação artificial pode auxiliar na melhora desses índices. O objetivo da pesquisa foi avaliar a taxa de prenhez a partir da inseminação artificial com sêmen congelado nos períodos de pré e pós-ovulação em éguas. O projeto foi executado em um haras da cidade Ponta Grossa-PR, foram utilizadas 30 éguas híbridas em idade reprodutiva da raça Quarto de Milha doadoras de embrião, elas foram divididas em dois grupos: pré-ovulação (n=15) e pós-ovulação (n=15), ambos os grupos foram submetidos a avaliação folicular e indução ovulatória para definição do momento da inseminação artificial. O sêmen usado foi de diferentes garanhões da raça Quarto de Milha reconhecidos por sua qualidade reprodutiva e escolhidos devido a critérios genéticos para trabalho. Das 30 éguas avaliadas, 63% apresentaram coleta positiva e destas 58% eram do grupo inseminado na pré-ovulação e 42% do grupo pós-ovulação. Concluiu-se que a inseminação pré-ovulação se mostrou superior na quantidade de coletas positivas e na taxa de prenhez, o sêmen congelado obteve taxas semelhantes ao uso do sêmen fresco.

Palavras-chave: éguas; reprodução; ovulação.

Abstract: The evolution of equine farming is linked to the rise not only of animals for leisure, but within each breed the use for sports and exhibitions, which has promoted an increase in the search for genetic improvement that provides selection within breeders' breeding stock in breeds varied. Equine reproduction has evolved in search of maximizing reproductive rates and the use of the breeding season, which is affected by the photoperiod in mares, so evaluating the best time for artificial insemination can help improve these rates. The objective of the research was to evaluate the pregnancy rate based on artificial insemination with frozen semen in the pre- and post-ovulation periods in mares. The project was carried out in a stud farm in the city of Ponta Grossa-PR, 30 healthy mares of reproductive age of the Quarter Horse breed were used as embryo donors, they were divided into two groups: pre-ovulation (n=15) and post-ovulation (n=15), both groups underwent follicular evaluation and ovulatory induction to define the moment of artificial insemination. The semen used was from different Quarter Horse stallions recognized for their reproductive quality and chosen due to genetic criteria for work. Of the 30 mares evaluated, 63% had a positive collection and of these, 58% were from the pre-ovulation inseminated group and 42% from the post-ovulation group. It was concluded that pre-ovulation insemination was superior in terms of the number of positive collections and the pregnancy rate, with frozen semen achieving similar rates to the use of fresh semen.

Keywords: mares; reproduction; ovulation.

Contato: giulia.bobato6900@aluno.cescage.edu.br, maria.jesus7930@aluno.cescage.edu.br, liliane.paula@cescage.edu.br

1 Introdução

A equinocultura no Brasil conta com um rebanho de 5.834.544 cabeças, sendo na região Sudeste representada pelo estago de Minas Gerais onde se encontra a maior parcela. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022)

O Quarto de Milha é uma raça de extrema docilidade, tem a capacidade de partidas rápidas, paradas bruscas, de mudar de direção e enorme habilidade de girar sobre si mesmo. É adaptável a qualquer situação, transformando-se em instrumento de força, transporte e difícil de ser derrotado em provas eqüestres, além de melhorador de plantel. Considerado o cavalo mais versátil do mundo, é usado nas modalidades de Conformação, Trabalho e Corrida. (Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha, 2024)

A evolução da equinocultura está ligada a ascensão não apenas dos animais para o lazer, mas dentro de cada raça a utilização para esportes e exposições, o que tem promovido o aumento da busca por melhoramento genético que proporciona uma seleção dentro dos planteis dos criadores em raças variadas. Uma exceção a esta realidade é a raça Puro Sangue Inglês, pois devido a uma regra, a inseminação artificial se torna proibida nesta raça. (Sales, 2008)

Dentro do melhoramento genético é possível pressupor principalmente características como aptidão e pelagem do cavalo, além de outros fatores, e tem se mostrado um método de sucesso na fertilidade do animal. (Canisso *et al.*, 2008)

A reprodução é um aspecto fundamental da equinocultura, uma vez que a criação de cavalos depende da produção de potros saudáveis e bem adaptados às diversas atividades em que serão utilizados. (Sales, 2018)

A reprodução dos equinos pode ser dividida em três principais métodos: reprodução natural, inseminação artificial e transferência de embriões. Na reprodução natural, o acasalamento ocorre naturalmente entre o garanhão e a égua, em um ambiente controlado, esse método pode ser afetado por problemas comportamentais ou de saúde dos animais, bem como por questões de transporte e logística. (Samper, 2000)

A inseminação artificial envolve a coleta do sêmen do garanhão e a sua deposição no trato reprodutivo da égua, essa técnica permite a utilização de garanhões distantes ou falecidos, além de permitir uma melhor programação da gestação (Pycock, 2008). A transferência de embriões ocorre quando um embrião é coletado de uma égua doadora e transferido para uma égua receptora, que irá gestar e parir o potro. (Squires *et al.*, 1994)

A inseminação artificial (IA) é uma técnica bastante empregada na reprodução equina, sendo a mais utilizada no mundo. O Brasil é o segundo no ranking mundial na aplicação desta biotecnologia, perdendo apenas para EUA (Granemann, 2006). O início do seu emprego data do século XIV, quando foi registrada a primeira inseminação artificial visando a viabilidade econômica e a facilidade no manejo, transporte e armazenamento do sêmen via congelamento, através do uso de nitrogênio. (Lima *et al.*, 2000)

Além de impulsionar o avanço do melhoramento genético, a aplicação da IA reduz o risco de doenças sexualmente transmissíveis e exerce um impacto significativo na produção equina. Isso se deve ao fato de que um garanhão pode gerar uma quantidade considerável de descendentes ao longo de sua vida reprodutiva,

inclusive após sua morte (Canisso *et al.*, 2008). Dentre as biotecnologias reprodutivas a IA demonstra maior viabilidade econômica e facilidade de implementação em espécies domésticas. (Weiss *et al.*, 2003)

A IA em equinos pode ser realizada através do uso de sêmen fresco diluído, refrigerado ou congelado (Canisso *et al.*, 2008). Diversas técnicas de diluição, resfriamento e congelamento de sêmen são empregadas em equinos, apresentando diferentes taxas de sucesso. A eficiência reprodutiva está sujeita à tolerância individual do sêmen em relação ao diluente ou técnica utilizada, bem como a fatores relacionados à égua e ao manejo dos animais. (Weiss *et al.*, 2003)

A IA com sêmen congelado é um procedimento prático e de fácil execução (Oliveira *et al.*, 2014). Por muitos anos, a utilização da IA na espécie equina enfrentou restrições devido às imposições estabelecidas por diversas associações aos criadores interessados em adotar essa técnica. No Brasil, embora muitos plantéis sejam inseminados anualmente, ainda não há estatísticas oficiais sobre o uso da IA em equinos. No entanto, têm sido desenvolvidos métodos biotecnológicos, como a diluição, refrigeração e transporte do sêmen, adaptados às raças e práticas pecuárias do país. (Canisso *et al.*, 2008)

O congelamento do sêmen permite preservar o material genético de um garanhão de alta qualidade, podendo ser utilizado para a inseminação artificial em momentos futuros. Essa técnica é especialmente útil para garantir a disseminação de características desejáveis de um garanhão, mesmo que ele não esteja disponível fisicamente no momento da reprodução. (Oliveira *et al.*, 2014)

O sêmen é coletado por meio de uma técnica chamada "método da vagina artificial", na qual um recipiente estéril é acoplado ao pênis do garanhão durante a ejaculação, processado e avaliado quanto à qualidade, verificando-se a concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides. (Samper, 2000)

A partir da coleta do sêmen e avaliação seminal, o sêmen é diluído em um meio especial para proteger e nutrir os espermatozoides. A amostra diluída é então centrifugada em alta velocidade, geralmente em um tubo de centrifuga especializado. Durante a centrifugação, ocorre a separação dos componentes do sêmen. Os espermatozoides de qualidade superior tendem a se concentrar no pellet, enquanto as impurezas e as células danificadas ou mortas são separadas e descartadas. (Graham, 2001)

Na sequência o sêmen é diluído em um meio de congelação especial, que contém substâncias crioprotetoras para proteger os espermatozoides do estresse celular (Sprott *et al.*, 2000; Purdy, 2006; Silva *et al.*, 2012). Após o envase em palhetas ou palitos de inseminação ocorre o processo de congelamento. Durante essa etapa, a temperatura do sêmen é reduzida rapidamente para cerca de -196°C, usando nitrogênio líquido (BOCHIO, 2012). Esse processo é crucial para evitar a formação de cristais de gelo, que podem danificar os espermatozoides. (Carmo, 2006)

A inseminação da égua, seja natural ou artificial, envolve a introdução do sêmen intrauterina. Para realizar o procedimento de IA é necessário que a égua esteja devidamente contida e preparada, seguindo as técnicas de contaminação mínima (Kenney, 1975). A ponta do catéter deve ser protegida para evitar contato com o ambiente externo e com a mucosa vaginal, para evitar contaminações, assim como exposição à luz ultravioleta, frio, calor e ar. (Broussard, 1993)

Ao introduzir a pipeta é importante verificar se há resistência. Caso não haja,

pode-se avançá-la cuidadosamente para o corno uterino desejado, geralmente ipsilateral ao folículo em desenvolvimento ou ovulação. No entanto, em casos de edema pronunciado e pregas no útero, é necessário tomar precauções para evitar lesões no endométrio. Uma vez que a pipeta estiver corretamente posicionada no útero, o êmbolo da seringa deve ser empurrado lentamente, depositando o sêmen no local com cuidado e precisão. (Metcalf, 2000)

O método de inseminação artificial pode ser realizado no pré e pós-ovulação, sendo a sua determinação crucial para a maximização da taxa de concepção em programas de reprodução assistida (García, 2021). A inseminação pré-ovulação geralmente é realizada cerca de 12 a 24 horas antes da ovulação prevista, enquanto a inseminação pós-ovulação é realizada até 12 horas após a ovulação. (McKinnon, 2009)

Na égua a duração do estro é incerta, a ovulação pode ocorrer entre 24 a 48 horas antes do seu término (Pace; Sullivan, 1975), nesse caso a determinação do melhor momento para cobertura se torna essencial o que evita a repetição de cio e melhor uso da estação reprodutiva (Hughes *et al.*, 1972). Para tanto, o manejo hormonal permite uma precisão maior na determinação do momento da inseminação, já que promove a previsão da ovulação na égua, aumentando as chances de fertilização bem-sucedida. (Silva, 2006)

Dentre os protocolos utilizados a sincronização do ciclo estral pela aplicação de hormônios como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é o mais utilizado. Inicialmente, administra-se GnRH para induzir a ovulação e, após cerca de 7 dias, uma dose de prostaglandina é aplicada para regressão do corpo lúteo em caso de éguas doadoras. (McCue, 2006)

A histrelina exerce sua ação farmacológica ao estimular a liberação de hormônios luteinizantes (LH) e folículo-estimulantes (FSH) pela glândula hipófise. Estes hormônios são essenciais para a regulação do ciclo estral e a promoção da ovulação. A administração de histrelina resulta em um aumento rápido e controlado dos níveis de LH e FSH, induzindo a ovulação em um período de tempo previsível, o que é crucial para a sincronização em protocolos de inseminação artificial. (Ginther, 1987)

Esse hormônio é um agonista do GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) utilizado em medicina veterinária para controlar o ciclo reprodutivo em éguas. A sua eficácia na supressão da função ovariana em éguas, está sendo útil em programas de sincronização de ovulação e no tratamento de distúrbios relacionados ao ciclo estral. (Samper, 2000)

A administração de histrelina pode proporcionar uma supressão eficaz das gonadotrofinas e da função ovariana por períodos específicos, facilitando manejo reprodutivo em animais de criação. As suas aplicações em técnicas avançadas de reprodução assistida, como a transferência de embriões e a inseminação artificial, destaca seu papel na otimização da fertilidade e na gestão eficiente de programas reprodutivos em éguas. (Squires, 1994)

Objetivou-se, nesta pesquisa, avaliar a taxa de prenhez a partir da inseminação artificial com sêmen congelado nos períodos pré e pós ovulação em éguas.

2 Material e Métodos

O projeto de pesquisa teve início após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Superior de Ensino dos Campos Gerais, sob o protocolo nº. 01.0668.2022-72.

O estudo de caráter experimental buscou avaliar a taxa de prenhez a partir da inseminação artificial com sêmen congelado nos períodos pré e pós ovulação em éguas da raça Quarto de Milha.

O projeto de pesquisa foi realizado em um haras da cidade de Ponta Grossa-PR, onde a médica veterinária responsável pela reprodução passou as todas as informações reprodutivas dos animais avaliados.

Para o experimento foram utilizadas 30 éguas saudáveis doadoras de embrião, todas elas da raça Quarto de Milha, com idade entre 3 e 6 anos, com média de 500 kg. Todas foram mantidas em sistema semi-intensivo, a pasto durante o dia e a noite em baias, onde recebiam ração, feno e água a vontade.

Como critério de inclusão foram consideradas a raça, a idade, o histórico reprodutivo, condições gerais de saúde e exame ginecológico sem alterações.

Os critérios de exclusão foram: éguas com problemas reprodutivos, com enfermidades diagnosticadas como por exemplo endometrite ou aquelas que não respondessem ao protocolo de indução ovulatória e, éguas acima de 15 anos de idade.

Para a execução do estudo as éguas foram monitoradas quanto ao seu ciclo estral via exame ultrassonográfico, nele foi observado durante o período o crescimento folicular. Após a detecção de um folículo pré-ovulatório com no mínimo 35 mm era feita a administração do protocolo hormonal (Figura 1).

FIGURA 1 - Avaliação ultrassonográfica folicular e uterina para indução da ovulação. à esquerda: folículo ovariano de 35mm. à direita: avaliação uterina.



Fonte: Lazarotto, 2024.

A indução da ovulação consistiu no uso de substância análoga ao Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), para isso foi realizada a aplicação de 2 mL de histrelina 250mcg/mL (Strelin®, da Botupharma) pela via intramuscular.

Após 36 horas da administração da histrelina as éguas foram monitoradas, através do exame ultrassonográfico, cujo objetivo era a avaliação folicular:

- Quando o folículo apresentava características pré-ovulatórias, tais como uma parede mais mole e acentuada, indicando iminência de ovulação, procedia-se à inseminação artificial.
- Caso a ovulação não tivesse ocorrido após 36 horas, aguardava-se mais 4 a 6 horas para uma nova verificação ultrassonográfica.
- Em casos em que não se confirmava a ovulação após 36 horas, aguardava-se até 40 a 42 horas para nova verificação, garantindo assim a precisão no momento da inseminação.

Após a ovulação, o folículo ovariano sofre uma série de mudanças morfológicas e fisiológicas. A ovulação em éguas geralmente resulta na formação de um corpo lúteo funcional, essencial para a produção de progesterona, que responsável pela manutenção da gestação inicial.

As principais características do folículo pós-ovulação incluem o colapso do Folículo: Imediatamente após a ovulação, o folículo colapsa e o líquido folicular é liberado. Formação do Corpo Lúteo: As células da granulosa e da teca internas se proliferam e se diferenciam em células luteínicas, formando o corpo lúteo (Figura2). Este processo, conhecido como luteinização, é acompanhado por um aumento na vascularização do corpo lúteo. Produção de Progesterona: O corpo lúteo recém-formado começa a secretar progesterona, um hormônio essencial para a manutenção da gestação. Níveis adequados de progesterona são indicativos de um corpo lúteo funcional.

FIGURA 2 - A imagem abaixo ilustra um folículo pós-ovulação. observa-se o colapso folicular e o início da formação do corpo lúteo, evidenciado pela reorganização celular e aumento da vascularização.



Fonte: LDC reprodução equina, 2024.

A partir da indução ovulatória as éguas foram divididas em dois grupos o Grupo de inseminação pré-ovulatória (n=15) e o Grupo de inseminação pós-ovulatória (n=15):

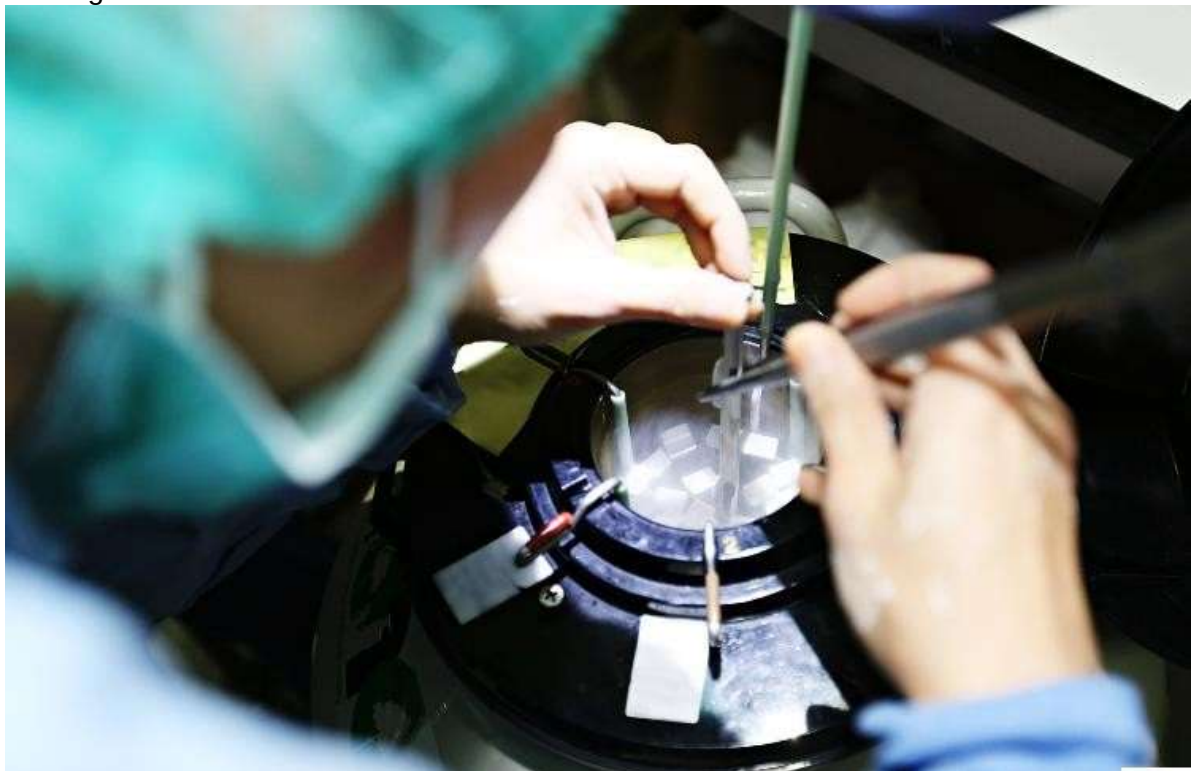
- O grupo inseminação pré-ovulatória foi inseminado 4 horas pré-ovulação.
- O grupo inseminação pós-ovulatória foi inseminado 4 horas pós-ovulação.

Para o projeto foram utilizados sêmen de garanhões da raça Quarto de Milha reconhecidos por sua qualidade reprodutiva e escolhidos devidos a critérios genéticos para trabalho.

Para o procedimento de inseminação artificial a égua era separada e contida, a região vulvar era higienizada com sabão neutro, o enxágue com água e feita a secagem com papel toalha. Durante a preparação e o procedimento a cauda da égua deve isolada com uso de bandagem e amarrada e mantida longe, evitando qualquer contato com a vulva e o períneo.

O sêmen escolhido foi descongelado em banho-maria a uma temperatura de 37°C por um minuto. Em seguida colocado em um aplicador (mandril) de inseminação estéril e com uso de luva estéril.

FIGURA 3 - Demonstrando a retirada de palheta do botijão de n2 para o descongelamento



Fonte: Christovão, 2023.

Após a inseminação, as éguas foram monitoradas através de exames ultrassonográficos. Estes exames foram realizados 24 horas após a ovulação para identificar a formação do corpo lúteo.

O embrião é coletado de éguas doadoras entre 8 e 9 dias. O momento exato da coleta depende de quando a inseminação ocorreu em relação à ovulação:

- Para as éguas inseminadas do grupo pré-ovulação, a coleta foi realizada em média de 9 dias.

- Para as éguas inseminadas do grupo pós-ovulação, a coleta foi realizada com média de 8 dias, para verificar a presença ou não da gestação.

Os dados obtidos foram tabulados de acordo com as inseminações pré e pós ovulação e de acordo com a resposta positiva ou negativa na coleta e submetidos a distribuição de frequência relativa e absoluta.

3 Resultados e discussão

Dos 30 animais avaliados, 19 apresentaram coleta positiva e 11 coleta negativa (Tabela 1).

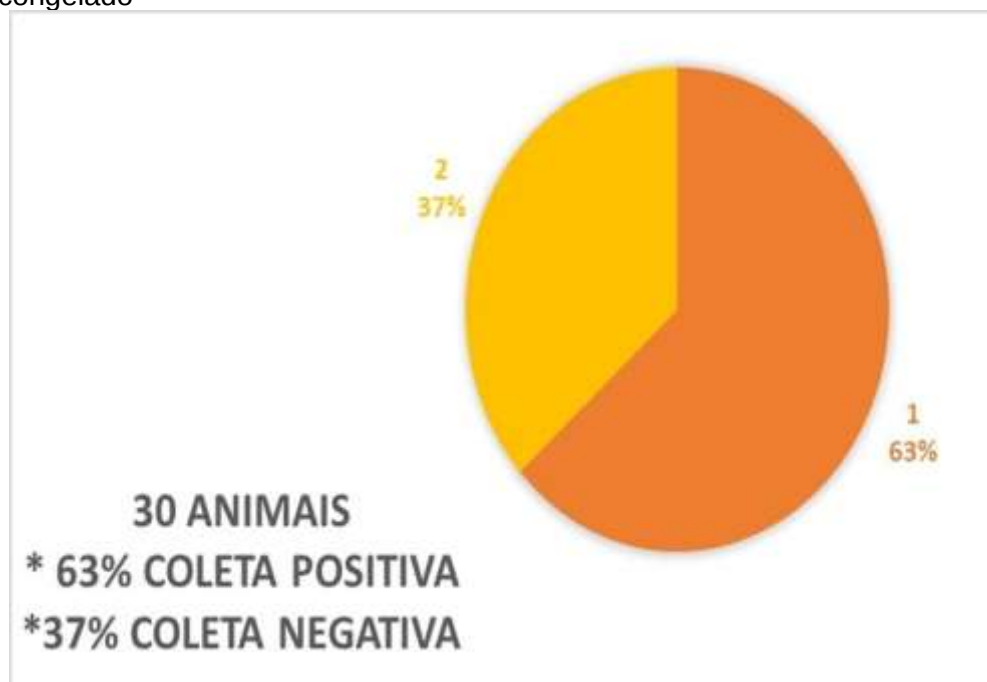
TABELA 1 - Distribuição absoluta dos animais avaliados no experimento com o número de coletas positivas e negativas na pré e pós-ovulação

Fêmeas acompanhadas	pré ovulação	pós ovulação	coleta positiva	coleta negativa
1		1	1	
2		1		1
3		1		1
4		1		1
5		1	1	
6	1		1	
7	1			1
8	1		1	
9	1		1	
10	1		1	
11		1	1	
12	1			1
13	1			1
14	1		1	
15	1		1	
16		1	1	
17	1		1	
18	1		1	
19		1	1	
20		1		1
21		1	1	
22		1	1	
23		1		1
24	1		1	
25		1	1	
26		1		1
27		1		1
28	1			1
29	1		1	
30	1		1	
Total	15	15	19	11

Durante o experimento observou-se que éguas bem ovuladas retornavam ao estado normal após 40 a 42 horas da administração da histrelina, evidenciando a eficácia do protocolo de indução da ovulação. Esses resultados são de suma importância para o sucesso da reprodução assistida em éguas doadoras de embrião, contribuindo para o avanço da equinocultura e da biotecnologia reprodutiva equina.

Dos 30 animais avaliados, 63% (19/30) apresentaram coleta positiva e 37% (11/30) coleta negativa (Gráfico 1).

GRÁFICO 1 - Porcentagem de éguas com coleta positiva e negativa após inseminação com sêmen congelado



Fonte: as autoras, 2024.

O resultado do presente estudo foi semelhante ao realizado por Vicente e Ferraz (2006), que em seu trabalho avaliaram o melhor momento para cobertura de éguas Puro sangue inglês, eles observaram que éguas cobertas antes da ovulação tiveram melhores taxas de concepção que as acasaladas no dia da ovulação.

Moreira *et al.* (2018), encontraram uma taxa de prenhez semelhante, 63,9%, com o uso de sêmen fresco. Segundo Hoffman *et al.* (2011) as taxas de prenhez com sêmen congelado oscilam entre 25 e 40%, o que mostra que o presente estudo obteve uma taxa superior à esperada, podendo ser comparada ao uso do sêmen fresco.

As taxas com sêmen congelado são correlacionadas na literatura a baixa taxa de prenhez, apenas na espécie bovina tem se observado taxas melhores, já que a viabilidade e a fertilidade dos espermatozoides podem ser afetadas em consequência de lesões durante o processo de congelamento (Holt, 2000; Miller, 2008).

Dos 19 animais com coleta positiva 58% (11/19) eram do grupo inseminado na pré-ovulação e 42% (8/19) do grupo pós-ovulação (Gráfico 2).

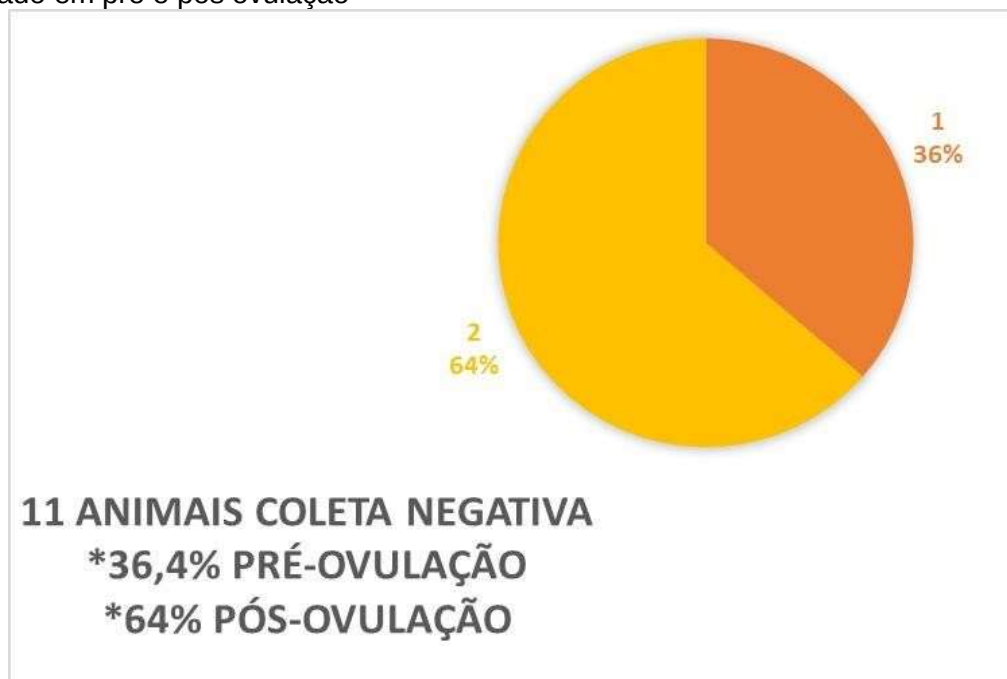
GRÁFICO 2 - Porcentagem de éguas com coleta positiva após inseminação com sêmen congelado em pré e pós ovulação



Fonte: as autoras, 2024.

Dos 11 animais com coleta negativa 36,4% (4/11) foram do grupo inseminado na pré-ovulação e 63,6% (7/11) do grupo pós-ovulação (Gráfico 3).

GRÁFICO 3 - Porcentagem de éguas com coleta negativa após inseminação com sêmen congelado em pré e pós ovulação



Fonte: as autoras, 2024.

Ferraz e Vicente (2006), observaram nas éguas acasaladas até 12 horas após a ovulação uma taxa de concepção similar à do grupo pré-ovulatório. Diferente do encontrado por Rodrigues (2011), que encontrou no tempo pós ovulação entre 0 e 6 horas as maiores taxas no pós-ovulação.

O resultado do presente estudo foi semelhante ao realizado por Rodrigues (2019), que em seu trabalho avaliou a fertilidade e duração da gestação na égua puro sangue lusitano que concluiu que a menor taxa obtida correspondeu às éguas inseminadas no dia em que o folículo atingia 35 mm nos 4 dias ou mais anteriores à ovulação (45%) quando comparada com três dias ou menos antes da ovulação (76%). Concluiu que a taxa de gestação foi maior (+6%) em éguas inseminadas entre as 0-6h pós-ovulação do que em éguas inseminadas entre 18 e 24h depois.

4 Conclusão

No presente estudo observou-se que a inseminação pré-ovulação se mostrou melhor, sendo a somatória maior entre as coletas positivas. Com relação a taxa de prenhez também se mostrou superior em relação a inseminação pós-ovulação.

Através das taxas e em comparação com a literatura observou-se uma taxa de prenhez do sêmen congelado semelhante ao relatado para sêmen fresco.

Os resultados destacam a importância da sincronização para a promoção da inseminação no momento ideal da ovulação para melhorar as taxas de fertilização em programas de reprodução assistida equina.

Futuras pesquisas podem se concentrar em refinamentos técnicos para otimizar ainda mais os resultados reprodutivos utilizando sêmen congelado em equinos, inclusive estudos comparando o sêmen fresco com o congelado, já que os diluidores e as técnicas de preparação do sêmen congelado sofrem constante evolução.

Embora haja diversos estudos na reprodução, os dados para pesquisa são bastante antigos, mesmo em trabalhos mais recentes consultados.

Agradecimentos

A professora Cleide Lazarotto que contribuiu com os dados do trabalho e para a nossa formação acadêmica, nossa sincera gratidão. Suas aulas e orientações foram fundamentais para a construção do nosso conhecimento, assim como deste trabalho também.

Deixamos nosso agradecimento a professora Liliane de Paula, por toda orientação e paciência com nosso trabalho.

Aos nossos pais, Adriane e Luciano Bobato, Rosir e Silvio Gonçalves, nossa eterna gratidão pelo amor, apoio incondicional e por acreditarem em nós em todas as etapas da nossa vida acadêmica. Vocês são a base de todas as nossas conquistas e seu incentivo foi essencial para que nós pudéssemos chegar até aqui. Agradecemos também pelo suporte emocional e financeiro, sem o qual nada disso seria possível.

Aos nossos animais de quatro patas, pois através deles foi possível descobrir o nosso amor e dom pela medicina veterinária, sendo eles nossos cavalos, Dallas, Soberano e Paloma e nossos cachorros, Loren, Olívia e Patty, vocês

sempre estarão sobre nossos cuidados e atendimentos .

Agradecemos aos nossos amigos e colegas, onde nesse período de faculdade também fazem parte do nosso crescimento profissional, saibam que não é um adeus ,mas sim um até logo na carreira profissional, contem sempre com nós .

Aos profissionais que contribuíram com nossa rotina na prática fornecendo estágios , Clínica Via Animale (Dr. Frank Bernardino), Funcional Vet (Gabriela Ditzel Degraf Mainardes), LDC Reprodução Equina (Lorena de Carli) , Clínica Veterinária Cesvet (Mathias Mendes Araújo) , Apeie Associação Equestre (Eros Spartalis e Viviane Coccia) , Chácara Constentation (Alessandro e Marisa Dekkers) , Haras Treviso (Família Bobato).

Por fim, agradecemos a Deus, pela força e sabedoria concedidas ao longo desta caminhada, e a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial nossos irmãos, Cassiano Bobato e Guilherme Gonçalves e filha Maria Luiza Gonçalves. Muito obrigada a todos.

Referências

BOCHIO, I.; MARTINS, S. M. M. K.; DELL'AQUA JUNIOR., J. A. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 2, p. 101-104, 2012.

BROUSSARD, J. R.; GOODEAUX, S. D.; GOODEAUX, L.L.; THIBODEAUX, J. K.; MOREAU, J. D; GODKE, R. A.; ROUSSEL, J. D. The effects of different types of syringes on equine spermatozoa. **Theriogenology**, v. 39, n. 2, p. 389-399, 1993.

CANISSO, I. F.; SOUZA, F. A.; DA 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, n. 1, p. 389-398, 2008. Disponível em:< <https://periodicos.pucpr.br/cienciaanimal/article/view/10622/10019>>. Acesso em: 14 jun. 2024.

CARMO, M. T.; LOSINNO, L.; AQUILAR, J. J.; ARAUJO, G. H. M.; ALVARENGA, M. A. Oocyte transport to the oviduct of superovulated mares. **Animal Reproduction Science**, v. 94, n.1, p. 337-339, 2006.

FERRAZ, L. E. S.; VICENTE, W. R. R. Influência do momento da cobertura, em relação à ovulação, na fertilidade e na ocorrência de morte embrionária precoce em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.537-543, 2006.

GARCÍA, M. Avaliação de diferentes métodos de inseminação artificial em equinos. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 45, n. 3, p. 210-217, 2021.

GINTHER, O. J. *et al.* Suppression of ovulation in mares with a GnRH agonist (leuprolide acetate). **J Reprod Fertil Suppl**, v. 35, p. 515-24.

GRAHAM, J.K. Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. **Animal Reproduction Science**, v. 68, n. 3-4, p. 239-247, 2001.

GRANEMANN, L.C. **Avaliação comparativa do sêmen eqüino colhido com vagina artificial e por lavado intraluminal da cauda do epidídimo pósorquiectomia.** 48f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

HOFFMANN, H.; OLDENHOF, H.; MORANDINI, C.; ROHN, K.; SIEME, H. Optimal concentrations of cryoprotective agents for semen from stallions that are classified 'good' or 'poor' for freezing. **Animal Reproduction Science**, v.125, p.112-118, 2011.

HOLT, W. V. Fundamental aspects of sperm cryobiology: The importance of species and individual differences. **Theriogenology**, v.53, p.47-58, 2000.

HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. Estrous cycle and ovulation in the mare. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.161, n.12, p.1367-1374, 1972.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Rebanho de equinos.** Disponível em < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>>. Acesso em: 14 jun. 2024.

KENNEY, R. M.; BERGMAN, R.V.; COOPER, W.L. Minimal contamination techniques for breeding mares: technique and preliminary findings. **In Proceedings of the 22nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)**, v. 21, p. 327-336, 1975.

LIMA, M. C. C.; SILVA FILHO, J. M.; CARVALHO, G. R.; PALHARES, M. S.; VALLE, G. R.; OLIVEIRA, H. N.. Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1649-1653, 2000.

MCCUE, P. Clinical cases in equine reproduction. **In Proceedings of the 52nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)**, v. 2-6, p. 465-467, 2006.

MCKINNON, A.O. Hormonal control of equine reproduction. **In Proceedings of the AAEP Annual Resort Symposium**: v. 25-28, p. 138-174, 2009.

METCALF, E.S. The effect of post insemination endometritis on fertility of frozen stallion semen. **In Proceedings of the 40th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)**, v. 46, p. 330-331, 2000.

MILLER, C.D. Optimizing the use of frozen-thawed equine semen. **Theriogenology**, v.70, p.463-468, 2008.

MOREIRA, E. *et al.* (2018). Taxa de prenhez semelhante ao utilizar sêmen congelado em nitrogênio líquido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 42, n. 1, 123-130, 2018.

OLIVEIRA, R. R.; RATES, D. M.; PUGLIESI, G.; KER, P. G.; ARRUDA R. P.; MORAES, E. A.; CARVALHO, G. R. Use of Cholesterol-Loaded Cyclodextrin in Donkey Semen Cryopreservation Improves Sperm Viability but Results in Low Fertility in Mares. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n.5, p. 845–850, 2014.

PACE, M.M.; SULLIVAN, J.J. Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen. **Journal of Reproduction Fertility**, v.23, p.115-121, 1975. Suppl.

PURDY, P. H. **A review on goat sperm cryopreservation. Small Ruminant Research**, v.63, n. 3, p. 215- 225, 2006.

PYCOCK, J.F. (2008). Artificial insemination. In **Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association (WEVA)**, v. 28 213-215, 2008.

Qualidade da raça. Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Quarto de Milha. Disponível em: <<https://abqcm.com.br/quarto-de-milha/qualidade-da-raca>>. Acesso em 07 de jun. 2024.

RODRIGUES, A. B. Tempo específico no pós-ovulação que é crucial para a inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 4, 223-229, 2011.

RODRIGUES, J. A. T. **Fertilidade e Duração da Gestação na Égua Puro Sangue Lusitano**. 97 f. Dissertação (Mestrado), Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2019.

SALES, J. F. Aspectos reprodutivos do cavalo Puro Sangue Inglês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 4, p. 245-250, 2008.

SALES, J. N. S. Equinocultura com produção de potros saudáveis: Desafios e estratégias. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 40, n. 3, p. 211-218, 2018.

SAMPER, J.C. “Management and fertility of mares bred with frozen semen”. **Animal Reproduction Science**, v. 68, p. 219-228, 2001.

SILVA, P. F. N.; GADELLA, B. M. Detection of damage in mammalian sperm cells. **Theriogenology**, v.65, p.958-978, 2006.

SILVA, A.; *et al.* Crioprotetores: Mecanismos de ação e aplicações. **Revista de Biotecnologia Aplicada**, v. 15, n. 2, p. 78-85, 2012.

SQUIRES, E., BARBACINI, S., MATTHEWS, P., BYERS, W., SCHWENZER, K., STEINER, J., & LOOMIS, P. Retrospective study of factors affecting fertility of fresh, cooled and frozen semen. **Equine Veterinary Education**, v. 18, n. 2, p. 96-99, 2006.

SQUIRES, E. L.; MORAN, D. M.; FARLIN, M. E., JASKO, D. J.; KEEFE, T. J.; MEYERS, S. A.; FIGUEIREDO, E.; MCCUE, P. M.; JOCHLE, W. Effect of GnRH

analog on ovulation in mares. **Theriogenology**, v. 41, n. 3, p. 757-769, 1994.

SPROTT, L. R.; HARRIS, M. D.; FORREST, D.W.; YOUNG, J., ZHANG, H. M., OYARZO, J. N., BELLIN, M. E.; AX, R. L. Artificial insemination outcomes in beef females using bovine sperm with a detectable fertility-associated antigen. **Journal of Animal Science**, v.78, n. 4, p.795- 798, 2000.

WEISS, R. R.; VIANNA, B. C.; MURADÁS, P.R. Inseminação artificial em éguas com sêmen "IN NATURA" e diluído. **Archives of Veterinary Science**. v. 8, p. 19-22, 2003.