

UNIVERSIDADE CESUMAR –UNICESUMAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS LIMPAS

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM ÉGUAS: UMA BIOTÉCNICA
SUSTENTÁVEL**

GABRIELA GENTA FANHANI

Maringá
2021

GABRIELA GENTA FANHANI

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM ÉGUAS: UMA BIOTÉCNICA
SUSTENTÁVEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas do Centro Universitário de Maringá (UniCesumar), como requisito à obtenção do título de Mestre em Tecnologias Limpas.

Linha de pesquisa: Agroindústria e Agropecuária Sustentável

Orientador: Fábio Luiz Bim Cavaliere
Coorientadora: Isabele Picada Emanuelli

Maringá

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F211a Fanhani, Gabriela Genta.

Aspiração folicular em éguas: uma biotécnica sustentável / Gabriela Genta Fanhani. – Maringá-PR: UNICESUMAR, 2021.
45 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Bim Cavalieri.

Coorientadora: Profa. Dra. Isabele Picada Emanuelli.

Dissertação (mestrado) – Universidade Cesumar - UNICESUMAR,
Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, Maringá, 2021.

1. Dinâmica folicular. 2. Dispositivo de progesterona. 3. Reprodução de equinos. 4. Biotecnologia. I. Título.

CDD – 636.082

Roseni Soares – Bibliotecária – CRB 9/1796

Biblioteca Central UniCesumar

Ficha catalográfica elaborada de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIELA GENTA FANHANI

ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM ÉGUAS: UMA BIOTÉCNICA SUSTENTÁVEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologias Limpas da Universidade Cesumar, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Limpas pela Comissão julgadora composta pelos membros:

Prof. Dr. Fábio Luiz Bim
Cavaliere Orientador /
UNICESUMAR.

Prof^a. Dr^a Maria de Los Angeles Perez Lizama
Membro interno / UNICESUMAR.

Prof. Dr. Thales Ricardo Rigo Barreiros
Membro externo / Universidade Estadual do Norte do Paraná/ UENP

Maringá, 24 de fevereiro de 2021

À Deus, aos meus pais Cláudio e Julia, ao meu irmão Bruno, ao meu namorado Luiz Carlos e á toda a minha família e amigos, que me apoiaramem todo o tempo, com muito carinho, para eu concluir essaetapa

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela proteção e bênçãos sem fim em toda a minha vida. Me ajudando e guiando em todos os momentos de dificuldade.

Aos meus pais, Cláudio e Juliaportodo o amor e apoio, por não medirem esforços para que eu realize meus sonhos e alcance meus objetivos.

A toda a minha família que esteve ao meu lado em todo o tempo me incentivando. E ao meu namorado Luiz Carlos, pelo amor, paciência, companheirismo e apoio incondicional.

À Universidade Cesumar/Unicesumar por me permitir desenvolver este projeto e pela bolsa institucional concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas da Universidade Cesumar/Unicesumar e a todos os seus professores e colaboradores, pelos ensinamentos compartilhados.

Ao profº. Drº. Fábio Luiz Bim Cavalieri, pela orientação dada, por toda a ajuda, conhecimento compartilhado e pelos conselhos, meu agradecimento.

A profª. Drª. Isabele Picada Emanuelli, pela co-orientação dada e ajuda durante o desenvolvimento desse trabalho.

A profª. Drª. Márcia Aparecida Andreazzi, por todo apoio, pelos seus ensinamentos, conselhos e ajudas desde o começo do mestrado até a escrita da dissertação, meus sinceros agradecimentos.

Ao profº. Drº. José Maurício Gonçalves dos Santos pela grande ajuda com a análise estatística dos dados do trabalho.

Ao profº. Msc. Antônio Hugo Bezerra Colombo, por todos os ensinamentos.

A todos meus amigos, estagiários e funcionários que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse concluir mais essa etapa, Deus os abençoe.

“Consagre ao Senhor tudo o que faz, e os seus planos serão bem sucedidos.”

Provérbios 16:3

ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM ÉGUAS: UMA BIOTÉCNICA SUSTENTÁVEL

RESUMO

O expressivo crescimento do mercado de cavalos e sua importância econômica em nosso país aumentam a demanda por animais geneticamente superiores. Para atender essa demanda o uso das biotécnicas da reprodução é de extrema importância. A aspiração folicular guiada por ultrassom é uma biotécnica que vem ganhando cada vez mais espaço no dia a dia das propriedades pois, pode ser realizada tanto quando as éguas estão acíclicas como quando estão cíclicas. Sendo este um diferencial das demais biotécnicas que dependem de um determinado período do ano onde os dias são mais longos para que as éguas estejam ciclando, devido ao seu fotoperíodo positivo. O objetivo deste estudo foi realizar aspirações foliculares transvaginais em éguas, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivos intravaginais de progesterona. Foram utilizadas seis éguas mestiças, com idade média de cinco anos e peso vivo aproximado de 400 kg. A cada 14 dias, foram realizadas aspirações, em animais com e sem dispositivo, totalizando sete aspirações na fase acíclica e sete aspirações na cíclica, obtendo-se um total de 21 aspirações em cada fase. A primeira colocação do dispositivo aconteceu de forma aleatória e depois os animais foram revezados a cada 14 dias. Foram coletados os dados de número e diâmetro folicular, número de ovócitos recuperados, número de ovócitos viáveis e porcentagem de ovócitos recuperados. Os resultados mostraram que o número de folículos das éguas na fase acíclica foi maior ($p < 0,005$), independente do tratamento com ou sem dispositivo de P4, porém, apesar do maior número de folículos observado, o diâmetro dos folículos foi menor ($P < 0,005$) a partir da 3ª avaliação. A porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica foi maior ($p < 0,005$) para as éguas que receberam o dispositivo de P4. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a utilização de dispositivos intravaginais de P4 em éguas SRD acíclicas, aumentou o número de folículos, contudo o diâmetro foi menor, evidenciando que o dispositivo de P4 conteve o crescimento dos folículos. Este fato traz vantagens para a técnica de aspiração folicular, pois facilita sua execução. Este benefício é evidenciado pelos resultados de maior porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica. Assim, essa biotécnica pode contribuir com a geração de mais produtos, atendendo a demanda do agronegócio do cavalo e as premissas do desenvolvimento sustentável.

Palavras-chave: dinâmica folicular; dispositivo de progesterona; reprodução de equinos; biotecnologia

FOLICULAR ASPIRATION IN MARES: A SUSTAINABLE BIOTECHNICS

ABSTRACT

The expressive growth of the horse market and its economic importance in our country increases the demand for genetically superior animals. To meet this demand, the use of reproductive biotechnologies is extremely important. The follicular aspiration guided by ultrasound is a biotechnique that has been gaining more and more space in the daily life of the properties because it can be performed both when the mares are acyclic and when they are cyclic. This is a differential from other biotechniques that depend on a certain period of the year where the days are longer for the mares to be cycling, due to their positive photoperiod. This study aimed to perform transvaginal follicular aspirations in mares, in the acyclic and cyclic phases, with and without the use of an intravaginal progesterone device. Six crossbred mares with an average age of five years and a live weight of approximately 400 kg were used. Every 14 days, aspirations were performed in animals with and without devices, totalizing seven aspirations in the acyclic phase and seven aspirations in the cyclic phase, obtaining a total of 21 aspirations in each phase. The first device placement happened randomly and then the animals were rotated every 14 days. Data on follicular number and diameter, number of recovered oocytes, number of viable oocytes, and percentage of recovered oocytes were collected. The results showed that the number of follicles of mares in the acyclic phase was higher ($p < 0.005$), regardless of treatment with or without P4 device, but despite the higher number of follicles observed, the diameter of follicles was smaller ($P < 0.005$) from the 3rd evaluation on. The percentage of oocytes recovered in the acyclic phase was higher ($p < 0.005$) for mares that received the P4 device. Based on the results obtained, we conclude that the use of intravaginal P4 devices in acyclic SRD mares increased the number of follicles, but the diameter was smaller, showing that the P4 device contained follicle growth. This fact brings advantages to the follicular aspiration technique because it facilitates its execution. This benefit is evidenced by the results of a higher percentage of oocytes recovered in the acyclic phase. Thus, this biotechnique can contribute to the development of more products, meeting the demand of the horse agribusiness and the premises of sustainable development.

Keywords: follicular dynamics; progesterone device; equine reproduction; biotechnology

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1.Objetivo geral	17
2.2.Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1.Equinocultura e desenvolvimento sustentável	18
3.2.Fisiologia reprodutiva da égua	20
3.3.Aspiração folicular (OPU) em equinos	22
3.4. Utilização de dispositivo de progesterona (P4)	23
4. REFERÊNCIAS.....	25
5. ARTIGO: Dispositivo de progesterona melhora a eficiência da OPU em éguas acíclicas.....	28
Resumo	28
Abstract	29
Introdução	30
Materiais e Métodos	31
Resultado e discussão	35
Conclusões	38
Referências	39
NORMAS DO ARTIGO	41
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
ANEXO	

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal em éguas	21
Protocolo utilizado nas aspirações foliculares em éguas acíclicase	
Figura 2. cíclicas	33

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Propostas dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável(ODS)8 e9	20

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores médios do número e diâmetro dos folículos de éguasSRD, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego do dispositivo intravaginal de progesterona (P4), ao longo de 5 avaliações, com intervalos de dois a três dias.....	36
Tabela 2. Média do número de folículos aspirados, número de ovócitos recuperados, número de ovócitos viáveis e porcentagem de ovócitos recuperadosde éguas SRD, nas fases acíclicase cíclicas,comesemoempregode dispositivo intravaginalde progesterona (P4).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

OPU – *Ovum-pickup*

FSH –Hormônio folículo estimulante

GnRh – Hormônio Liberador de Gonadotrofina

LH – Hormônio luteinizante

PGF₂ α – Prostaglandina

CL – CorpoLúteo

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

P4 –Progesterona

TE – Transferência de embriões

IA – Inseminação artificial

ODS - Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

MM – Milímetros

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o 3º rebanho mundial de equinos, com mais de 5.850.154 cabeças e observa-se que o mercado de cavalos em geral vem crescendo no país, e esse crescimento tem aumentado a receita econômica do setor, movimentando cerca de R\$ 16,5 bilhões por ano, e gerado, em média, 3,2 milhões de empregos, de forma direta e indireta (IBGE, 2019). Ressalta-se que os responsáveis por esse crescimento econômico e social são, principalmente, as provas equestres, seguido pela comercialização de animais, a equoterapia e o uso dos animais para o lazer (LIMA; CINTRA, 2015).

Com o mercado aquecido a demanda por animais aumenta cada vez mais, e com isso crescem também as exigências por animais geneticamente superiores. Devido a isso, pesquisadores têm investido em estudos na área do manejo, sanidade, alimentação, treinamento e reprodução visando suprir essa demanda. Por isso, as biotécnicas da reprodução estão sendo cada vez mais utilizadas e tem se tornado uma aliada para contribuir com a sustentabilidade econômica e ambiental da cadeia de equinos (COLOMBO et al., 2017).

Para se obter a sustentabilidade ambiental nas cadeias produtivas em geral é necessário conhecer a definição de desenvolvimento sustentável, que é o crescimento e o desenvolvimento das comunidades, com ações que visam manter as necessidades da população atual, sem comprometer as necessidades das gerações futuras, em conjunto com métodos e práticas para reduzir os impactos ao meio ambiente (BOFF, 2017).

Tendo como finalidade estimular o desenvolvimento sustentável, a Organização das Nações Unidas (ONU) criou um conjunto de 17 objetivos e 169 metas universais, apresentados no relatório *Transformando Nosso Mundo de 2015* (UNESCO 2015, COSTA, 2018). Ao analisar esses objetivos e metas, observa-se que a pecuária e a agricultura possuem um papel fundamental para o alcance do desenvolvimento sustentável, por isso se torna necessário o estabelecimento de técnicas que ajudem a superar os desafios encontrados na produção e na reprodução animal e as tornem mais sustentáveis (CHOUDHARY et al., 2016).

No agronegócio do cavalo preconiza-se o uso das biotécnicas da reprodução pois, por meio delas se torna possível melhorar o desempenho reprodutivo das éguas e, conseqüentemente, aumentar o número de animais geneticamente superiores produzidos (BORTOT; ZAPPA, 2013). Entre as biotécnicas, estão à inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a aspiração folicular (*Ovum Pick-up*-OPU), cujos principais

objetivos incluem melhorar os índices reprodutivos, utilizando matrizes e garanhões com características desejáveis que sejam herdadas pela sua progênie e produzir mais animais em um menor intervalo de tempo.

Dentre essas biotécnicas a aspiração folicular equina está conquistando cada vez mais espaço pois, pode ser realizada tanto quando as éguas estão acíclicas como quando estão cíclicas. Ela consiste em recuperar ovócitos equinos, atendendo a demanda existente, por um maior número de animais com genética superior e em menor intervalo de tempo. Porém, o sucesso dessa técnica pode ser comprometido por diversos fatores como a pressão na bomba de vácuo, o tipo de agulha utilizada, os protocolos anestésicos, a fase do ciclo estral no momento da punção e a experiência do médico veterinário responsável pelo procedimento, entre outros (ARANGO et al., 2019).

Uma alternativa que vem sendo empregada associada às biotécnicas buscando melhorar ainda mais sua eficácia é a administração de hormônios exógenos (JARDIM et al., 2015). Assim, a utilização de progesterona (P4) por meio de dispositivos intravaginais é uma opção. A P4 não afeta a foliculogênese e a ovulação, mas inibe o pico do hormônio luteinizante (LH) (McKINNON et al., 2011; STAEMPFLI et al., 2011).

Portanto, para que a utilização da aspiração folicular em éguas associada à utilização de hormônios exógenos, como o dispositivo de P4, tenha uma influência positiva na cadeia produtiva de equinos é necessário conhecer as características fisiológicas e reprodutivas da égua e as particularidades da técnica, já que a recuperação de ovócitos pela aspiração folicular transvaginal, guiada por ultrassonografia, oriundos de folículos com diferentes diâmetros em éguas acíclicas e cíclicas, é um procedimento pouco explorado na prática e com poucos relatos na literatura. Esse fato mostra que pesquisas na área são relevantes e necessárias, a fim de aprimorar essa técnica, cooperando com a sustentabilidade da cadeia produtiva equina.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOGERAL

O objetivo deste estudo foi realizar aspirações foliculares transvaginais em éguas, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivo intravaginal de progesterona.

2.2.OBJETIVOSESPECÍFICOS

- Monitorar a quantidade e a taxa de crescimento dos folículos ovarianos em éguas;
- Realizar a aspiração folicular transvaginal em éguas;
- Avaliar a eficiência da aspiração folicular em éguas;
- Analisar a quantidade e a porcentagem de ovócitos recuperados e o total de ovócitos viáveis;
- Verificar se o uso do dispositivo intravaginal de progesterona em éguas pode melhorar a eficiência da aspiração folicular e, contribuir com o desenvolvimento da cadeia produtiva de equinos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Equinocultura e desenvolvimentos sustentável

A equinocultura no Brasil vem crescendo em números de animais e em investimentos financeiros em todo o setor e é considerada um dos mercados mais lucrativos do agronegócio movimentando, em média, R\$ 16,5 bilhões por ano e promovendo cerca de 3,2 milhões de empregos sejam estes diretos ou indiretos (IBGE, 2019).

As atividades esportivas se destacam nesse cenário, contudo, outros segmentos como trabalho, lazer, equoterapia, além dos setores de insumos, produtos, medicamentos, rações, acessórios, médicos veterinários, treinadores, ensino e pesquisa também ocupam uma parcela importante na equinocultura (LIMA; CINTRA, 2015) e, atualmente, todos buscam auxiliar o desenvolvimento sustentável do setor.

Para que isso aconteça o conceito de pecuária sustentável vem sendo cada vez mais discutido entre o poder público, a sociedade e o setor privado (BALBINO et al., 2012). A pecuária sustentável prevê práticas socialmente justas, ambientalmente corretas, viáveis economicamente e busca desenvolver uma pecuária com maior produção e menor impacto ambiental (GTPS, 2016).

Diversos estudos buscam a sustentabilidade no meio rural e, consequentemente, os melhores índices nas produções, por meio de pesquisas que promovam pequenas mudanças no manejo, uso de melhoramento genético e das biotécnicas da reprodução animal (GUERREIRO et al., 2014). A sustentabilidade envolve diversos fatores, entre eles o crescimento, desenvolvimento, pessoas, comunidades, cultura, política, indústria, cidades e o planeta Terra e seus ecossistemas. Ela vai ao encontro das práticas humanas e das características limitadas de cada bioma, isso sem comprometer às necessidades da presente e das futuras gerações (BOFF, 2017).

A sustentabilidade possui três principais vertentes: a econômica, ambiental e social. A econômica está relacionada ao aumento da produção e do consumo, juntamente com a inovação tecnológica associada a possíveis tecnologias limpas, ou seja, ações que economizem os recursos naturais e não utilizem energias fósseis. A ambiental idealiza que a produção e o consumo gerem o mínimo de impactos possíveis nos ecossistemas e, por fim a vertente social visa à erradicação da pobreza, com todos os cidadãos tendo o mínimo necessário para uma vida digna (NASCIMENTO, 2012).

Para o desenvolvimento sustentável acontecer de forma satisfatória são

necessárias ações e mudanças no governo, na sociedade, nas indústrias, e práticas antigas devem ser substituídas por outras que visam os princípios, objetivos e diretrizes do desenvolvimento sustentável (SILVESTRE; TIRCA, 2019).

Na busca da consolidação do desenvolvimento sustentável, diversos líderes mundiais se reuniram e elaboraram os Objetivos do Desenvolvimento do Milênio (ODM), uma agenda que vigorou de 2000 a 2015 e que buscou garantir a sustentabilidade ambiental e estabelecer uma parceria para o alcance do desenvolvimento sustentável. Após sua vigência, a Organização das Nações Unidas (ONU), em setembro de 2015, anunciou o relatório Transformando Nosso Mundo e apresentou os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), que consiste em uma agenda contendo 17 objetivos e 169 metas universais do desenvolvimento sustentável para serem atingidas até 2030, que contemplam ações para acabar com a pobreza, promover a prosperidade e o bem-estar para todos, proteger o meio ambiente e enfrentar as mudanças climáticas (UNESCO, 2015).

Em função dos ODS, existe uma preocupação em todas as cadeias produtivas com a busca pelo desenvolvimento sustentável, e alguns trabalhos abordam temas como sustentabilidade no manejo, nas práticas de produção, descarte de dejetos e uso de alimentos alternativos (WESTENDORF et al., 2012; COLOMBO et al., 2017; BOTELHO et al, 2019) e, essa preocupação também aparece na cadeia produtiva de equinos (LIMA; CINTRA, 2015; BOTELHO et al, 2019). Acredita-se que, de forma direta e/ou indireta, essa cadeia pode contribuir com o alcance de, no mínimo, dois dos 17 objetivos propostos pelos ODS, sendo o ODS 8 - Trabalho decente e crescimento econômico, já que o agronegócio do cavalo pode aumentar a oferta de empregos e o ODS 9 - Indústria, inovação e infraestrutura, pois essa cadeia pode desenvolver e empregar tecnologias, como é o caso das biotécnicas da reprodução (Quadro 1).

Porém ainda existem lacunas do conhecimento para a consolidação do desenvolvimento sustentável na equinocultura, por isso, algumas práticas de manejo aliadas ao emprego das biotécnicas da reprodução são apontadas como ferramentas desse processo, pois, se executadas corretamente, podem minimizar os impactos negativos, sobretudo ao meio ambiente (BOTELHO et al., 2019), mas, para que isso aconteça se faz necessário o conhecimento da fisiologia reprodutiva da égua.

Quadro 1. Propostas dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) 8 e 9.

ODS 8 Trabalho decente e crescimento econômico	ODS 9 Indústria, inovação e infraestrutura
<ul style="list-style-type: none"> • Promover políticas orientadas para o desenvolvimento que apoiem as atividades produtivas, geração de emprego decente, empreendedorismo, criatividade e inovação. • Até 2020, reduzir substancialmente a proporção de jovens sem emprego, educação ou formação. 	<ul style="list-style-type: none"> • Desenvolver infraestrutura de qualidade, confiável, sustentável e resiliente, incluindo infraestrutura regional e transfronteiriça, para apoiar o desenvolvimento econômico e o bem-estar humano. • Apoiar o desenvolvimento tecnológico, a pesquisa e a inovação nacionais nos países em desenvolvimento.

Fonte: UNESCO (2015), adaptado pelo autor.

3.2. Fisiologia reprodutiva da égua

O ciclo estral das éguas dura, em média, 21 dias, porém alguns fatores podem ser responsáveis por algumas variações, como o ambiente, a raça, o comportamento, a nutrição e a índole do animal (OLIVEIRA et al., 2017). Elas possuem algumas características fisiologias específicas que fazem com que seu ciclo estral tenha somente duas fases, o estro e diestro. Ele é dividido, em média, de 5 a 7 dias de estro, onde sua principal característica é aumento do estrógeno (E2) e o comportamento de cio, e em diestro, que possui duração média de 14 a 16 dias, e ocorre um aumento de progesterona (P4) (CLAES et al., 2017).

As éguas são consideradas animais poliestricos sazonal ou estacional, pois possuem um período determinado do ano, em que estão aptas para a reprodução, que ocorre quando os dias são mais longos, na primavera e no verão. Isso acontece pois elas possuem um fotoperíodo positivo e necessitam de mais horas de luz por dia, e nos meses com dias mais curtos e com menor luminosidade, ou seja, com fotoperíodo negativo, as mesmas ficam acíclicas (ALLEN; WILSHER, 2018).

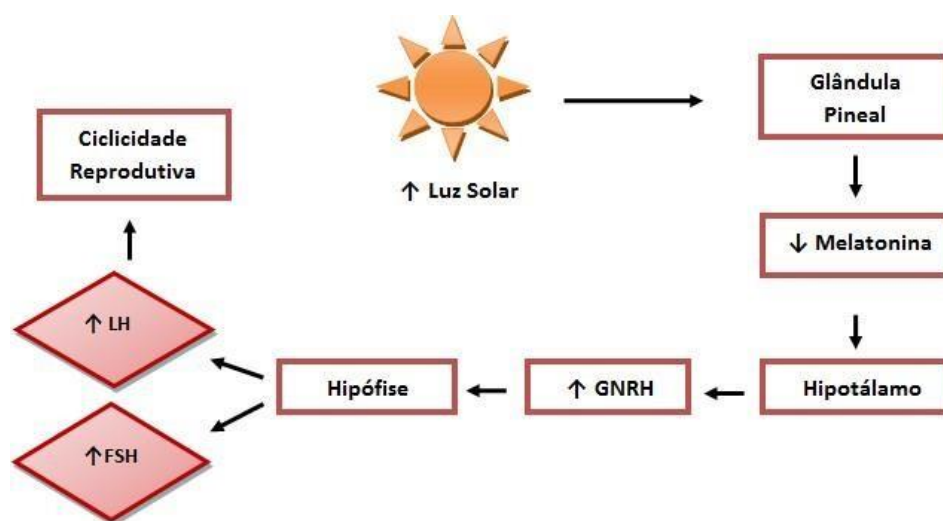
Essa sazonalidade reprodutiva se divide em quatro fases que variam de acordo com a dinâmica folicular, sendo a fase de anestro, transição de primavera, ovulatória e transição de outono (GINTHER, 2017). Nos meses de fotoperíodo positivo as éguas estão em estro e apresentam vários ciclos seguidos e este período é conhecido como estação de monta, quando elas estão aptas a se reproduzirem.

O fotoperíodo se deve ao hormônio melatonina, que é secretado pela glândula pineal, durante o período de ausência de luz (DIEKMAN et al., 2002). Esse hormônio atua no hipotálamo regulando a secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que, quando liberado, chega à hipófise, promovendo o estímulo e a liberação do hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). O LH possui a função de promover a maturação folicular, ovulação e luteinização já o FSH promove o crescimento

inicial do folículo e das células da granulosa (THORSON et al., 2014; GINTHER, 2017). A liberação desses hormônios pela hipófise acontece devido a alterações na frequência de pulsação do GnRH, sendo assim, quando ele chega com alta frequência ocorre a liberação do LH e quando chega com baixa frequência é liberado o FSH. (THORSON et al., 2014).

Na primavera e no verão, como os dias são mais longos, a secreção de melatonina é reduzida e com isso o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal funciona e as éguas começam a ciclar (GONZÁLEZ, 2002) (Figura 1).

Figura 1. Eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal em éguas



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

O crescimento folicular nas éguas é dividido em quatro fases, sendo elas, emergência da onda folicular, crescimento folicular comum, desvio e fase de dominância, nesta o folículo dominante continua crescendo (GINTER, 2017). Quando o existe um aumento nos níveis de FSH, a emergência da onda folicular acontece, e é nessa fase que os folículos que estavam em dormência são recrutados e começam seu desenvolvimento. Em seguida vem a fase do crescimento folicular comum, onde os folículos crescem igualmente, em uma média de 3mm/dia (GURGEL et al., 2008; GINTHER et al., 2017).

Com o aumento nos níveis de FSH, um dos folículos começa a atingir a dominância e a produzir inibina, que é o hormônio responsável pela redução nos níveis de FSH. Com essa diminuição, e o constante crescimento dos folículos, a produção de estrógeno (E2) é estimulada. O E2 é responsável pela aceitação do macho e todos os comportamentos relacionados ao estro (GINTHER, 2017). Ao atingir um diâmetro maior que 22,5 mm o folículo apresenta receptores para o LH, com isso seu crescimento folicular continua acontecendo devido à ação deste hormônio. Com o aumento da secreção GnRH devido ao pico de E2, acontece uma maior produção de LH e, quando o LH chega no seu

pico de produção, promove a ovulação (THORSON et al., 2014).

Após a ovulação, ocorre a luteinização, ou seja, a diferenciação das células da teca e da granulosa, formando o corpo lúteo (CL), responsável pela produção inicial de P4, que prepara o endométrio uterino para a chegada do embrião e contribui com manutenção da gestação (TREVISOL et al., 2013). Quando a égua não fica gestante, no prazo médio de 15 dias posterior a ovulação, alguns fatores levam a produção de prostaglandina ($\text{PGF}_2\alpha$) pelo endométrio uterino, que é responsável pela luteólise, iniciando um novo ciclo (BAZER et al., 2008).

3.3. Aspiração folicular (OPU) em equinos

A aspiração folicular foi descrita pela primeira vez em 1988, por Pieterse et al. que relataram o uso da técnica de transferência de ovócitos *in vivo* por meio da aspiração transvaginal guiada por ultrassom em bovinos. Porém, somente em 1992, Brück et al. descreveram a utilização dessa técnica em equinos e relataram que a coleta de ovócitos em éguas deve ser feita por meio da lavagem e aspiração folicular por via transvaginal, guiada por ultrassonografia. Os pesquisadores apontaram que a técnica é rápida, precisa e não causa traumas para os animais (BRUCK et al., 2000).

Existem três formas de se realizar a aspiração folicular, uma delas pode ser realizada por meio de laparotomia, que consiste na realização de uma incisão na parede abdominal e a exposição do ovário para que seja feita a aspiração. Outra forma é por meio da punção do folículo através de agulha introduzida pelo flanco. Porém, ambas as técnicas citadas estão em desuso por serem muito invasivas. Por isso, a forma mais utilizada para a obtenção de ovócitos equinos é pela aspiração folicular transvaginal (OPU) guiada por ultrassonografia, sendo considerada uma técnica mais prática, pouco invasiva, eficiente, repetível e pouco traumática para as éguas (CARNEVALE et al., 2005).

As punções foliculares transvaginais guiadas por ultrassom são utilizadas nas éguas para se realizar diagnósticos, pesquisas e também para fins comerciais (DIEGO et al., 2016) e na aspiração folicular (OPU) é utilizado como alternativa para éguas inférteis, com algum tipo de patologia que interfira na reprodução, idosas, com algum problema anatômico e problemas de infertilidade quando submetidas à IA e a TE (GALLI et al., 2014), por isso, a produção *in vitro* de embriões (PIVE) por OPU vem sendo utilizada por vários profissionais que trabalham com cavalos (ARANGO et al., 2019).

Mesmo essa técnica sendo a mais indicada, diversos fatores podem interferir em seus resultados, como a pressão na bomba de vácuo, o tipo de agulha utilizada, os

protocolos anestésicos, a fase do ciclo estral no momento da punção e a experiência do médico veterinário responsável pelo procedimento (SÁ et al., 2017).

Além disso, as taxas de recuperação de ovócitos de folículos imaturos podem ser baixas devido ao grande diâmetro dos folículos e à forte ligação do *Complexo Cumulus Oócito* (COCs) à parede folicular. Como forma de resolver esse problema tem se utilizado agulhas de duplo lúmen, para que se consiga realizar de 8 a 10 lavagens em cada folículo (VANDERWALL, 2006).

Estudos mostram que além do procedimento ser realizado em éguas que estejam ciclando, existe a possibilidade de utilizar essa técnica em éguas que estão no período de transição (PURCELL et al., 2007) e, esse fato torna a técnica mais interessante para os proprietários dos equinos, visto que as éguas só ciclam durante os dias mais longos do ano, permanecendo em anestro nos outros dias.

3.4. Utilização de dispositivo de progesterona (P4)

A P4 é um progestágeno natural secretado pelas células luteínicas encontradas no corpo lúteo, na placenta e pelas glândulas adrenais (BOTELHO et al., 2019). Assim, o LH estimula a secreção de P4, que tem como função encerrar os sinais de estro e mantém a égua não receptiva ao macho, prepara o útero para o embrião, mantém a gestação no período inicial, aumenta o tônus uterino e a atividade secretora das glândulas endócrinas (RODRIGUES et al., 2012). Outra importante função da P4 é inibir a liberação episódica de LH quando o mesmo se encontra em níveis altos, se tornando assim responsável pela regulação do ciclo estral (ALLEN; WILSHER, 2017).

Com isso, a utilização da P4 é uma importante aliada da medicina veterinária na área de reprodução equina, pois a P4 permite controlar o ciclo reprodutivo, devido aos seus efeitos na supressão do crescimento folicular e, conseqüentemente, no controle da ovulação. Porém essa inibição do crescimento folicular não ocorre de maneira uniforme quando as éguas estão ciclando (STAEMPFLI et al., 2011). Uma das formas para a utilização da P4 é por meio de dispositivos intravaginais, semelhantes aos utilizados em vacas.

Jacobson et al., (2010) realizou um trabalho com éguas que recebiam 1,2 g de progesterona injetável semanalmente e avaliou a interação desse hormônio com a aspiração folicular que as éguas eram submetidas. Porém não foram encontrados trabalhos que associem o uso de dispositivos de progesterona com a aspiração folicular em éguas acíclicas e cíclicas.

4. REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R.; WILSHER, S. Half a century of equine reproduction research and application: a veterinary tour de force. **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 1, p. 10-21, 2018.
- ARANGO, J.C.; CLAES, A.N.; BEITSMA, M. et al. The Effect of Different Flushing Media Used to Aspirate Follicle on the Outcome of a Commercial Ovum Pickup–ICSI Program in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 75, p.74-77, 2019.
- BAZER, F. W., BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A. et al. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. **Reproductive Biology**, v. 8, p.179-211, 2008.
- BALBINO, L. C.; CORDEIRO, L. A. M.; DE OLIVEIRA, P.; KLUTHCOUSKI, J.; GALERANI, P. R.; VILELA, L. Agricultura sustentável por meio da integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF). **Informações Agronômicas**, v. 138, n.1, p. 1-32, 2012.
- BOFF, L. **Sustentabilidade: O que é - o que não é**. Edição. 5°. Petrópolis, RJ: Editora, Vozes, 2017. p. 224.
- BORTOT, D.C.; ZAPPA, V. Aspectos da reprodução equina: inseminação artificial e transferência de embrião: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, p. 21, 2013.
- BOTELHO, A.C.F.A.; CAVALIERI, L. B.; ANDREAZZI, M. A. et al. Hormonal Strategy for Advance of Mating Season in Mares Scored on Follicular Diameter. **Australian journal of basic and applied sciences**, v. 13, p. 60-63, 2019.
- BRUCK, I.; BÉZARD, J.; BALTSSEN, M., et al. Effect of administering a crude equine gonadotropin preparation to mares on follicular development, oocytes recovery rate and oocyte maturation in vivo. **Journal of Reproduction and Fertility, Cambridge**, v. 118, p. 351-360, 2000.
- CARNEVALE, E.M.; SILVA, M.A.C.; PANZANI, D. et al. Factors affecting the success of oocyte transfer in a clinical program for subfertile mares. **Theriogenology**, v. 64, n. 3, p.519-527, 2005.
- CHOUDHARY, K.K.; KAVYA, K.M.; JEROME, A. et al. Advances in reproductive biotechnologies. **Veterinary World**, v. 9, n. 4, p. 388-395, 2016.
- CLAES, A.; BOLA, B.A.; SCOGGIN, K.E. et al. The influence of age, antral follicle count and diestrous ovulations on estrous cycle characteristics of mares. **Theriogenology**, v. 97, p. 34-40, 2017.
- COLOMBO, A.H.B.; CAVALIERI, F.L.B.; ANDREAZZI, M.A. et al. Evaluation of biotechnics of reproduction under the environmental focus. **Archives Of Veterinary Science**, v. 22, n. 1, p.81-89, 2017.
- COSTA, M.A. Como avaliar o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável? Desafios e possibilidades para a agenda global de avaliação. **Revista Brasileira de Políticas Públicas e Internacionais - Rppi**, v. 3, n. 1, p. 100-123, 2018.
- DIEGO, R.; DOUET, C.; REIGNER, F. et al. Influence of transvaginal ultrasound-

guided follicular punctures in the mare on heart rate, respiratory rate, facial expression changes, and salivary cortisol as pain scoring. **Theriogenology**, v. 86, n. 7, p.1757-1763, 2016.

DIEKMAN, M.A.; BROWN, W.; PETER, D. et al. Seasonal serum concentration of melatonin in cyclic and noncyclic mares. **Journal of Animal Science**.v.80, p.2949-2952, 2002.

GALLI, C.; DUCHI, R.; COLLEONI, S. et al. Ovum pick up, intracytoplasmic sperm injection and somatic cell nuclear transfer in cattle, buffalo and horses: from the research laboratory to clinical practice. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p.138-151,2014.

GINTHER, O.J. Systemic and intrafollicular components of follicle selection in mares. **Domestic Animal Endocrinology**, v.59, p.116-133,2017.

GINTHER, O.J. Follicle selection in mares: 90 years from observation to theory. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.54, p.24-31,2017.

GONZÁLEZ, F.H.D. Características dos Hormônios. **Introdução a Endocrinologia Reprodutiva Veterinária**. 2002. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2017/05/endocrino_rep_vet.pdf>Acesso em: 29/12/2020.

GTPS – GRUPO DE TRABALHO DA PECUÁRIA SUSTENTÁVEL. **Manual de práticas para pecuária sustentável**. 2016. Disponível em: Acesso em: 04/01/ 2021.

GUERREIRO, B. M.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M. et al. Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from Bos taurus and Bos indicus donors. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 49, n. 1, p. 96-104, 2014.

GURGER, J. R. C.; VIANA, C. H. C.; PEREZ, E. G. A. et al. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafolliculares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 2, p. 122-132,2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#notas-tabela>>. Acesso em 28/02/2020.

JARDIM, I. B.; DUARTE, J. M.; VICENTE, W. R. R. et al. Eficiência do protocolo de transferência de embrião para éguas receptoras acíclicas. **Revista de Investigação em Medicina Veterinária**, v. 14, n.2, p.68-72, 2015.

JACOBSON, C.C.; CHOI, Y. H.; HAYDEN, S.S. et al. Recovery of mare oocytes on a fixed biweekly schedule and resulting blastocyst formation after intracytoplasmic sperm injection. **Theriogenology**, v. 73, n.8, p.1116–26,2010.

LIMA, R.A.S.; CINTRA, A.G. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. MAPA: Brasília, ed. 1, p. 52, 2015.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, E. W.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011.

NASCIMENTO, E.P. The trajectory of sustainability: from environmental to social, from social to economic. **Estudos Avançados**, v. 26, n. 74, p. 51-64, 2012.

OLIVEIRA, F.; FREIRES, L.; NETO, J. T. N. et al. Cadeia produtiva de carne bovina no Brasil. **Revista Interação Interdisciplinar**, v. 01, n. 01, p. 229-244, 2017.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU. **Convenção das Nações Unidas sobre diversidade biológica**. 1992. Disponível em: <<https://www.cbd.int/doc/legal/cbd->

en.pdf>. Acesso em 29/12/2020.

PURCELL, S.H.; SEIDEL, G.E.; MCCUE, P.M. et al. Aspiration of oocytes from transitional, cycling, and pregnant mares. **Animal Reproduction Science**, v. 100, n. 3-4, p.291-300, 2007.

RODRIGUES, T. G., CAIADO, J. R. C.; FAGUNDES, B. et al. Uso de progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após a ovulação. **Acta Biomedica Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 14-26, 2012.

SÁ, M.A.F.; PAIVA, S.O.; DUTRA, G.A. et al. Use of different pressures for transvaginal follicular aspiration in mares. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p.529-534, 2017.

STAEMPFLI, S. A.; CLAVIER, S.; THOMPSON, D. L. et al. Effect of a single injection of long-acting progesterone on the first ovulation in early and late spring transvaginal mares. **Journal of Equine Veterinary Science, Champaign**, v. 31, n.1, p. 744-748, 2011.

SILVESTRE, B.S.; TIRCA, D.M. Innovations for sustainable development: Moving toward a sustainable future. **Journal of Cleaner Production**, v. 208, p.325-332, 2019.

THORSON, J.F.; PREZOTTO, L.D.; CARDOSO, R.C. et al. Hypothalamic distribution, Adenohypophyseal receptor expression, and ligand functionality of RFamide-Related Peptide 3 in the mare during the breeding and nonbreeding seasons. **Biology of Reproduction**, v. 90, n. 2, p. 1-9, 2014.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J.C.P.; ACKERMANN, C.L. et al. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v. 37, n. 1, p. 29-36, 2013.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA – UNESCO – **Agenda de Desenvolvimento pós-2015** – UNESCO e os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <<http://www.unesco.org/new/pt/brasil/post-2015-development-agenda/>>, acesso em: 08 de fevereiro de 2020.

VANDERWALL, D.K.; HYDE, K.J.; WOODS, G.L. Effect of repeated transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration on fertility in mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 2, p.248-250, 2006.

WESTENDORF, M.L.; WILLIAMS, C.; BURK. et al. Environmental impacts of equine operations: A U.S. Department of agriculture multistate project. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 6, p. 324-326, 2012.

5. ARTIGO

DISPOSITIVO DE PROGESTERONA MELHORA A EFICIÊNCIA DA OPU EM ÉGUAS ACÍCLICAS

(Progesterone device improves OPU efficiency in acyclic mares)

RESUMO

O crescimento do mercado de cavalos e sua importância econômica aumenta a demanda por animais geneticamente superiores. Com isso, o uso das biotécnicas da reprodução é de extrema importância, destacando-se a aspiração folicular. O objetivo deste estudo foi realizar aspirações foliculares transvaginais em éguas, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivo intravaginal de progesterona. Foram utilizadas seis éguas mestiças, com idade média de cinco anos. A cada 14 dias foram realizadas aspirações foliculares em animais com e sem dispositivo, sendo sete aspirações na fase acíclica e sete na fase cíclica, para a variável com e sem dispositivo. A primeira colocação de dispositivo aconteceu de forma aleatória e depois os animais foram revezados a cada 14 dias. Em cada intervalo, foram realizadas 5 avaliações foliculares. Foram coletados dados de número e diâmetro folicular, número de ovócitos recuperados, de ovócitos viáveis e porcentagem de ovócitos recuperados. O número de folículos das éguas na fase acíclica foi maior ($p < 0,005$), independente do tratamento com ou sem dispositivo de P4, porém, apesar do maior número de folículos observado, o diâmetro foi menor ($P < 0,005$) a partir da 3ª avaliação. A porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica foi maior ($p < 0,005$) para as éguas que receberam o dispositivo de P4. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a utilização de

dispositivos intravaginais de P4 em éguas SRDacíclicas, aumentou o número de folículos, contudo o diâmetro foi menor, evidenciando que o dispositivo de P4 conteve o crescimento dos folículos. Este fato traz vantagens para a técnica de aspiração folicular, pois facilita sua execução, sendo evidenciado pela maior porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica.

Palavras-chave: aspiração folicular; dinâmica folicular; dispositivo de progesterona; reprodução de equinos

ABSTRACT

The growth of the horse market and its economic importance increases the demand for genetically superior animals. Thus, the use of reproductive techniques is extremely important, especially follicular aspiration. This study aimed to perform transvaginal follicular aspirations in mares, in the acyclic and cyclic phases, with and without the use of an intravaginal progesterone device. Six crossbred mares, with an average age of five years, were used. Follicular aspirations were performed every 14 days in animals with and without device, seven aspirations in the acyclic phase and seven in the cyclic phase, for the variable with and without device. The first device placement happened randomly and then the animals were rotated every 14 days. At each interval, 5 follicular assessments were performed. Data were collected on follicular number and diameter, the number of recovered oocytes, viable oocytes, and the percentage of recovered oocytes. The number of follicles of mares in the acyclic phase was higher ($p < 0.005$), regardless of treatment with or without P4 device, but despite the higher number of follicles observed, the diameter was smaller ($P < 0.005$) from the 3rd evaluation on.

The percentage of oocytes recovered in the acyclic phase was higher ($p < 0.005$) for the mares that received the P4 device. Based on the results obtained, we conclude that the use of intravaginal P4 device in acyclic SRD mares increased the number of follicles, but the diameter was smaller, showing that the P4 device contained the growth of follicles. This fact brings advantages to the follicular aspiration technique, because it facilitates its execution, as evidenced by the higher percentage of recovered oocytes in the acyclic phase.

Keywords: follicular aspiration; follicular dynamics; progesterone device; equine reproduction

INTRODUÇÃO

No Brasil, a equideocultura vem crescendo muito nos últimos anos, gerando números consideráveis, com uma média de 3,2 milhões de empregos, de forma direta e indireta, e uma receita que movimenta cerca de 16,5 bilhões de reais por ano em todo o setor (IBGE, 2019). Para suprir a demanda desse mercado por animais geneticamente superiores, se faz necessário a utilização das biotécnicas da reprodução, que além de produzir mais produtos, se tornaram contribuem com a sustentabilidade econômica e ambiental da cadeia de equinos (Colombo et al., 2017).

Dentre as várias biotécnicas da reprodução, atualmente se destaca a aspiração folicular guiada por ultrassom transvaginal, que tem o objetivo de recuperar ovócitos férteis ou subférteis. Com sua utilização é possível obter um maior número de potros com genética superior, em um menor intervalo de tempo (Carnevale et al., 2010). Outra vantagem dessa biotécnica, é que

ela é uma alternativa para éguas com problemas na ovulação, infecções uterinas, entre outras patologias que dificultam sua reprodução (RUA et al., 2016). E também pode ser realizada em éguas acíclicas e cíclicas, diferente das demais biotécnicas que só podem ser realizadas em éguas cíclicas.

Porém, o sucesso dessa técnica pode ser comprometido por diversos fatores como a pressão na bomba de vácuo, o tipo de agulha utilizada, os protocolos anestésicos, a fase do ciclo estral no momento da punção e a experiência do médico veterinário responsável pelo procedimento, entre outros (Arango et al., 2019).

Verifica-se que a associação de hormônios exógenos pode contribuir e melhorar a eficácia das biotécnicas da reprodução (Jardim et al., 2015), dentre eles, uma opção é a utilização de progesterona (P4), por meio de dispositivos intravaginais. A P4 não afeta a foliculogênese e a ovulação, mas inibe o pico do hormônio luteinizante (LH) (Mckinnon et al., 2011; Staempfli et al., 2011). Assim, o objetivo deste estudo foi realizar aspirações foliculares transvaginais em éguas, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivo intravaginal de progesterona e avaliar a dinâmica folicular e a quantidade e porcentagem de ovócitos recuperados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Escola da Universidade Cesumar/ UNICESUMAR/ BIOTEC/ UNICESUMAR/ Maringá, estado do Paraná (23°25'S, 51°57'W e altitude de 550 metros). No período de julho a dezembro de 2020.

Foram utilizadas seis éguas sem raça definida (SRD), com idade entre

4 a 8 anos, com escore corporal entre 3 a 5 e peso vivo aproximado de 400 kg. Todas aptas a reprodução, depois de submetidas a exame ginecológico por meio de ultra-som transretal. Elas foram devidamente vacinadas e vermifugadas 30 dias antes no início do experimento, ficaram alojadas em piquete com pastagem de *Tifton 85*, receberam suplementação com concentrado e tiveram livre acesso a água e sal mineral.

O delineamento experimental foi um fatorial 2x2, considerando que as aspirações foliculares foram realizadas em duas fases reprodutivas: acíclica e cíclica, em animais que receberam ou não dispositivo de progesterona.

Inicialmente foi realizada a primeira aspiração em todas as éguas e, após a essa primeira aspiração, três animais foram escolhidos, de forma aleatória, para utilizarem o dispositivo bovino (CIDR® – Zoetis, São Paulo – SP, Brasil), contendo 1,9g de progesterona. Assim, iniciou-se um revezamento, onde o dispositivo desses animais só foi retirado na próxima aspiração em que a égua foi submetida, ou seja, 14 dias depois e, nessa próxima aspiração, essas éguas não receberam o dispositivo, mas as éguas do grupo que estavam sem o dispositivo, receberam. Então, a cada 14 dias, foram realizadas aspirações, em animais com e sem dispositivo, totalizando sete aspirações na fase acíclica e sete aspirações na fase cíclica para a variável com e sem dispositivo. Assim, obteve-se um total de 21 aspirações na fase acíclica (10 aspirações em animais com dispositivo e 11 em animais sem dispositivo) e 21 aspirações na fase cíclica (11 aspirações em animais com dispositivo e 10 em animais sem dispositivo).

Para a colocação do dispositivo de P4 foi realizada uma lavagem na região perineal e vulvar, foi retirada a corda plástica que fica em sua

extremidade inferior e foi introduzido o dispositivo intravaginal de P4. Antes de colocá-lo nas éguas, foi borrifada uma solução de terramicina e hidrocortisona (Terra-Cortril Spray®, Pfizer, Nova York – NY, Estados Unidos), visando evitar possíveis vaginites.

Foram realizadas cinco avaliações foliculares, com intervalo de 2 a 3 dias após cada aspiração folicular, onde foram observados o número e o diâmetro dos folículos maiores (mm) (Figura 2). Essas avaliações foram feitas por meio do exame ultrassonográfico (US) com o aparelho Aloka SSD-500™, que permitiu a análise das condições uterinas e ovarianas.

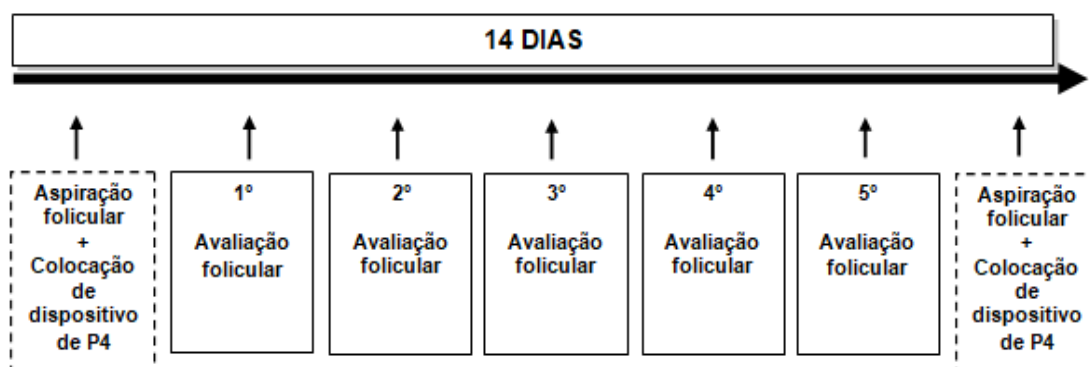


Figura 2. Protocolo utilizado nas aspirações foliculares em éguas acíclicas e cíclicas.

Para a correta realização da técnica de aspiração folicular, as éguas foram contidas dentro de um tronco apropriado, em estação, as fezes foram retiradas do reto, e após, foi realizada uma lavagem na região perineal evaginal com detergente neutro. A sedação utilizada foi 0,4mL de cloridrato de detomidina 1% (Domium®), 0,6mL de analgésico (Torbugesic®) e 10mL do analgésico, anti-inflamatório e antitérmico (Banamine®), todos por via intravenosa. Na aspiração foi utilizado o ultrassom Mindray DP-2200Vet, com transdutor micro convexo de 5MHz (UST 974-5), adaptado a uma probe endovaginal adaptada (WTA VET®), conectada a uma bomba de vácuo (COOK®) regulada com a pressão aproximada de 180 mm Hg, e

uma agulha de aspiração 12G com duplo lúmen. Nesse momento, os folículos visualizados foram avaliados quanto ao tamanho e na sequência, aspirados.

Cada ovário era manipulado e posicionado contra o fundo da parede vaginal para se obter as imagens dos folículos. Com a imagem ultrassonográfica do folículo a ser aspirado, a agulha era impulsionada em direção a ele, atravessando a parede do fundo vaginal, alcançando o folículo. As agulhas escolhidas para a aspiração apresentavam calibre duplo, fato que aumenta a chance de recuperação dos ovócitos. Nesse momento era iniciada a lavagem e escarificação do folículo, sendo este lavado uma média de 8 a 10 vezes, para a obtenção de um melhor resultado. A lavagem era realizada com solução de PBS heparinizado, mantido em banho Maria a 34°C. Após a aspiração, os ovócitos e o fluido folicular foram armazenados em um recipiente de vidro Boro 3.3 de 500mL e encaminhados para laboratório.

No laboratório o conteúdo coletado foi colocado em um filtro e lavado com PBS heparinizado mantido em banho Maria a 34°C, até ficar translúcido. Em seguida, o sedimento era depositado em uma placa de Petri, que era colocada na lupa onde se realizava a busca, contagem e a análise dos ovócitos.

Após a realização do experimento os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise estatística. A variável diâmetro folicular foi analisada pelo procedimento PROC GLM e as variáveis número de folículos, número de folículos aspirados, número de ovócitos recuperados, número de ovócitos viáveis e porcentagem de ovócitos recuperados foram analisadas

pelo procedimento PROC GENMOD do programa estatístico SAS (2000), versão 8.01, seguindo a distribuição de Poisson e função de ligação identidade.

Os protocolos das técnicas empregadas para coleta dos dados desta pesquisa foram submetidos à análise e aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Maringá/UNICESUMAR e aprovado conforme parecer N^o.06.1/2020.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada interação entre fase e tratamento para as variáveis número e diâmetro dos folículos. Mas, observou-se que o número de folículos das éguas na fase acíclica foi maior ($p < 0,005$), independente do tratamento com ou sem dispositivo de P4, porém, apesar do maior número de folículos observados, o diâmetro dos folículos foi menor ($P < 0,005$) a partir da 3^o avaliação (Tabela 1).

De fato, éguas na fase cíclica apresentam um maior diâmetro dos folículos como consequência de uma cascata hormonal, que envolve o eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal, que regula a dinâmica do crescimento folicular (Hafez et al., 2004), portanto, a ausência desta cascata hormonal na fase acíclica explica o menor diâmetro dos folículos nesta fase, observado neste estudo.

O uso de dispositivo intravaginal de P4 em éguas SRD afetou ($p < 0,005$) negativamente o diâmetro dos folículos na 2^o, 4^o e 5^o avaliação (Tabela 1). Em um estudo conduzido com o objetivo de verificar como quatro sessões de OPU, realizadas em éguas acíclicas e cíclicas, afetam a atividade ovariana, medida pelos níveis plasmáticos de progesterona (P4) e

17 β estradiol (E2), Iacono et al. (2016) observaram, semelhante a este estudo, que o diâmetro folicular médio foi significativamente maior durante a fase cíclica (16,0 vs. 10,2 mm), além disso, os autores observaram uma correlação negativa entre os níveis de P4 e o diâmetro folicular na fase cíclica.

Tabela 1. Valores médios do número e diâmetro dos folículos de éguas SRD, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivo intravaginal de progesterona (P4), ao longo de 5 avaliações, com intervalos de dois a três dias.

Variáveis	Avaliações				
	1	2	3	4	5
Número de folículos					
Acíclicas	9,7 \pm 0,63	10,92 \pm 0,67	10,96 \pm 0,68	11,25 \pm 0,68	11,83 \pm 0,7
Cíclicas	7,11 \pm 0,63	7,66 \pm 0,62	7,78 \pm 0,66	8,11 \pm 0,67	8,33 \pm 0,68
P valor	0,0041	0,0006	0,0009	0,0012	0,0004
Controle	8,86 \pm 0,65	9,81 \pm 0,68	9,67 \pm 0,68	10,05 \pm 0,69	10,62 \pm 0,7
P4	8,33 \pm 0,63	9,24 \pm 0,66	9,52 \pm 0,67	9,76 \pm 0,68	10,05 \pm 0,7
P valor	0,5626	0,5485	0,8812	0,7686	0,5646
Diâmetro dos folículos (mm)					
Acíclicas	10,77	13,36	16,79	19,47	20,86
Cíclicas	12,78	17,27	24,92	28,12	33,01
P valor	0,2018	0,0073	0,0001	0,0006	<0,0001
Controle	12,84	17,25	23,04	27,08	30,51
P4	10,43	12,83	17,51	19,28	21,62
p valor	0,1210	0,0019	0,0116	0,0021	0,0033

Apesar desta redução observada, ressalta-se que este efeito é considerado benéfico para a realização da aspiração folicular, pois a taxa de recuperação de ovócitos é maior em folículos com menor diâmetro, conforme apontado por Scott et al. (2006), que afirmaram que a

porcentagem de recuperação de folículos pequenos foi maior (21,6%) quando comparada com a recuperação percentual de folículos maiores (11,7%).

Não foram observadas diferenças ($p>0,005$) entre fases, tratamento e interações fase e tratamento para as variáveis: número de folículos aspirados, número de ovócitos recuperados e número de ovócitos viáveis, contudo, a porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica foi maior ($p<0,005$) para as éguas que receberam o dispositivo de P4 (Tabela 2).

Tabela 2. Média do número de folículos aspirados, número de ovócitos recuperados, número de ovócitos viáveis e porcentagem de ovócitos recuperados de éguas SRD, nas fases acíclicas e cíclicas, com e sem o emprego de dispositivo intravaginal de progesterona (P4).

Variáveis	Controle	P4	p valor
Acíclicas			
Número de folículos aspirados	8,50 ± 0,84	7,33 ± 0,78	0,3098
Número de ovócitos recuperados	2,50 ± 0,47	3,08 ± 0,51	0,3920
Número de ovócitos viáveis	2,50 ± 0,46	3,08 ± 0,51	0,3924
Ovócitos recuperados (%)	34,51 ± 1,70	42,39 ± 1,88	0,0018
Cíclicas			
Número de folículos aspirados	7,00 ± 0,88	7,22 ± 0,90	0,8597
Número de ovócitos recuperados	3,00 ± 0,58	3,22 ± 0,60	0,7893
Número de ovócitos viáveis	2,89 ± 0,57	3,22 ± 0,60	0,6858
Ovócitos recuperados (%)	43,29 ± 2,19	44,68 ± 2,23	0,6571

Jacobson et al. (2010) mostraram resultados parcialmente divergentes aos deste estudo, ao constatar que a administração de progesterona não teve efeito no número de folículos aspirados ou nas taxas de recuperação de ovócitos. Porém, os autores afirmaram que houve uma maior quantidade

de folículos aspirados em éguas em que a média do diâmetro folicular era de 20 a 29mm, do que nas éguas com folículos menores que 20mm ou maiores que 30 a 40mm. De fato, a taxa de recuperação de ovócitos tende a diminuir quando o diâmetro dos folículos aspirados é maior (Kanitz et al., 2007).

Diante dos resultados encontrados, que confirmaram que as melhores taxas de recuperação de ovócitos estão relacionadas diretamente com o diâmetro dos folículos aspirados e, considerando que as éguas, mesmo quando acíclicas, ou seja, fora da estação reprodutiva, são doadoras de ovócitos, que podem ser utilizados na produção in vitro e no congelamento de embriões, apontam-se os resultados positivos do protocolo empregado utilizando dispositivo de P4 em éguas acíclicas, submetidas à aspiração folicular, contudo, mais estudos devem ser conduzidos a fim de comprovar sua eficiência e avaliar os custos deste protocolo.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos conclui-se que, a utilização de dispositivo intravaginais de P4 em éguas SRD acíclicas aumentou o número de folículos, contudo, o diâmetro foi menor, evidenciando que o dispositivo de P4 conteve o crescimento dos folículos. Este fato traz vantagens para a técnica de aspiração folicular, pois facilita sua execução. Este benefício é evidenciado pelos resultados de maior porcentagem de ovócitos recuperados na fase acíclica. Porém, o desenvolvimento de mais pesquisas é necessário a fim comprovar sua eficiência e, além disso, avaliar os custos do emprego do protocolo.

REFERÊNCIAS

ARANGO, J.C.; CLAES, A.N.; BEITSMA, M. et al. The Effect of Different Flushing Media Used to Aspirate Follicle son the Outcome of a Commercial Ovum Pickup–ICSI Program in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**,v. 75, p.74-77, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31002097/>>. Acesso em: 05/02/2021.

CARNEVALE, E.M., FRANK-GUEST, B.L. & STOKES, J.E. Effect of equineocyte donor age on success of oocyte transfer and intracytoplasmic sperm injection. **Animal Reproduction Science**, v. 121, p. 258-259, 2010.

COLOMBO, A.H.B.; CAVALIERI, F.L.B.; ANDREAZZI, M.A. et al. Evaluation ofbiotechnics of reproduction under the environmental focus. **Archives OfVeterinary Science**,v.22,n.1,p.81-89,2017. Disponível em:<<file:///C:/Users/usuario/Downloads/50814-207534-1-PB.pdf>>. Acesso em: 05/02/2021.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. Foliculogênese, maturação ovocitária e ovulação.**Reprodução animal**. São Paulo: Manole, ed. 7, p.69-82, 2004.

IACONO. E.; MERLO. B.; RIZZATO. G.; et al., Effects of repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations performed in anestrous and cyclic mares on P4 and E2 plasma levels and lutel function. **Theriogenology**. v. 82, n. 2, p.225-231. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24780115/>>. Acesso em: 05/02/2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE.**Pesquisada Pecuária Municipal**.Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#notas-tabela>>. Acesso em: 28/02/2020.

JARDIM, I.B.; DUARTE,J.M.; VICENTE, W.R.R. et al. Eficiência do protocolo de transferência de embrião para éguas receptoras acíclicas. **Revista Investigação Medicina Veterinária**, v. 14, n.2, p.68-72,2015.Disponível em:<<http://publicacoes.unifran.br/index.php/investigacao/article/view/893>>. Acesso em: 05/02/2021.

JACOBSON, C.C.; CHOI, Y.H.; HAYDEN, S.S. et al. Recovery of mare oocytes on a fixed biweekly schedule and resulting blastocyst formation after intracytoplasmic sperm injection.**Theriogenology**. v.73,p.1116–1126, 2010 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20202674/>>.Acesso em: 05/02/2021.

KANITZ, W.; SCHNEIDER, F.; HOPPEN, H.O. et al. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. **AnimalReproduction Science**. v.97, p.55-62, 2007.Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037843200600008X>>.Acesso em: 05/02/2021.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, E.W. et al. **Equine**

Reproduction.2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011.

RUA S. A. M., QUIRINO, R. C., JUNIOR, B. A., BARRETO, P. A. M. Métodos diagnósticos de endometrite em éguas. **PUBVET**, v.10, n.12, p.895-908, 2016. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/uploads/be2dc6525a9d7f1b76074d88a8f2dd79.pdf>>. Acesso em: 05/02/2021.

SCOTT, H.P.; GEORGE E.S.; PATRICK M.M. et al. Aspiration of oocytes from transitional, cycling, and pregnant mares. **Animal Reproduction Science**, n.100, p. 291–300. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16938415/>>. Acesso em: 05/02/2021.

STAEMPFLI, S.A.; CLAVIER, S.; THOMPSON, D.L. et al. Effect of a single injection of long-acting progesterone on the first ovulation in early and late spring transvaginal mares. **Journal of Equine Veterinary Science, Champaign**, v. 31, n.1, p. 744-748, 2011. Disponível em: <https://betpharm.pharmacy/wpcontent/uploads/2018/03/SIMOM_S_Effect_of_a_Single_Injection_of_Longacting_Progesterone_on_theFirst_Ovulation_in_Early_and_Late_Spring_Transitional_Mares.pdf>. Acesso em: 05/02/2021.

NORMAS DO ARTIGO

DIRETRIZES PARA AUTORES INSTRUÇÃO AOS AUTORES

O periódico **ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE (AVS)** é publicado trimestralmente, sob orientação do seu Corpo Editorial, com a finalidade de divulgar artigos completos e de revisão relacionados à ciência animal sobre os temas: clínica, cirurgia e patologia veterinária; sanidade animal e medicina veterinária preventiva; nutrição e alimentação animal; sistemas de produção animal e meio ambiente; reprodução e melhoramento genético animal; tecnologia de alimentos; economia e sociologia rural e métodos de investigação científica. A publicação dos artigos científicos dependerá da observância das normas editoriais e dos pareceres dos consultores "ad hoc". Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e os conceitos e/ou patentes emitidos nos artigos, são de inteira responsabilidade dos autores, eximindo-se o periódico de quaisquer danos autorais. A submissão de artigos deve ser feita diretamente na página da revista (www.ser.ufpr.br/veterinary). Mais informações são fornecidas na seção "Informações sobre a revista".

APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

Para agilizar a tramitação e publicação de seu artigo, recomendamos fortemente que as normas sejam obedecidas, inclusive para as referências

1. Digitação: O artigo com no máximo vinte e cinco páginas deverá ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297 mm, com margens laterais direita, esquerda, superior e inferior de 2,5 cm. As páginas deverão ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito. Deverá ser utilizado fonte arial 12 em espaço duplo; em uma coluna. Tabelas e Figuras com legendas serão inseridas diretamente no texto e não em folhas separadas.

2. Identificação dos autores e instituições (máximo 6 autores por artigo): Todos os dados referentes a autores devem ser inseridos exclusivamente nos metadados no momento da submissão online. Não deve haver nenhuma identificação dos autores no corpo do artigo enviado para a revista. Os autores devem inclusive remover a identificação de autoria do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista.

3. Tabelas: Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte superior da tabela em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título. (Ex.: Tabela 1 – Título.). As abreviações devem ser descritas em notas no rodapé da tabela. Estas serão referenciadas por números sobrescritos (1,2,3). Quando couber, os cabeçalhos das colunas deverão possuir as unidades de medida. Tanto o título quanto as notas de rodapé devem fazer parte da tabela, inseridos em "linhas de tabela".

4. Figuras: Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte inferior da figura em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título (Ex.: Figura 1 – Título). As designações das variáveis X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses. São admitidas apenas figuras em preto-e-branco. **Figuras coloridas terão as despesas de clicheria e impressão a cores pagas pelo autor.** Nesse caso deverá ser solicitada ao Editor (via ofício) a impressão a cores.

NORMAS EDITORIAIS

Artigo completo - Deverá ser inédito, escrito em idioma português (nomenclatura oficial) ou em inglês. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Nota informando aprovação por Comitê de Ética (quando houver); Referências.

Artigo de Revisão - Os artigos de revisão deverão ser digitados seguindo a mesma norma do artigo científico e conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-

chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Referências. **A publicação de artigos de revisão fica condicionada à relevância do tema, mérito científico dos autores e disponibilidade da Revista para publicação de artigos de Revisão.**

ESTRUTURA DO ARTIGO

TÍTULO - em português, centralizado na página, e com letras maiúsculas. Logo abaixo, título em inglês, entre parêntesis e centralizado na página, com letras minúsculas e itálicas. Não deve ser precedido do termotítulo.

RESUMO - no máximo 1800 caracteres incluindo os espaços, em língua portuguesa. As informações devem ser precisas e sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço duplo. Deve ser precedido do termo “Resumo” em caixa alta e negrito.

PALAVRAS-CHAVE – inseridas abaixo do resumo. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título, e alinhado à esquerda. Não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Palavras-chave” em caixa baixa e negrito.

ABSTRACT -deve ser redigido em inglês, refletindo fielmente o resumo e com no máximo 1800 caracteres. O texto deve ser justificado e digitado em espaço **duplo**, em parágrafo único. Deve ser precedido do termo “Abstract” em caixa alta e negrito.

KEY WORDS - inseridas abaixo do abstract. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título em inglês, e alinhado à esquerda. Não precisam ser traduções exatas das palavras-chave e não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Key words” em caixa baixa e negrito. **INTRODUÇÃO** – abrange também uma breve revisão de literatura e, ao final, os objetivos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Introdução” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

MATERIAL E MÉTODOS - o autor deverá ser preciso na descrição de novas metodologias e adaptações realizadas nas metodologias já consagradas na experimentação animal. Fornecer referência específica original para todos os procedimentos utilizados. Não usar nomes comerciais de produtos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra do termo “Material e Métodos” (escrito em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

RESULTADOS (O item Resultados e o item Discussão podem ser apresentados juntos, na forma RESULTADOS e DISCUSSÃO, ou em itens separados)

o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Resultados” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Símbolos e unidades devem ser listados conforme os exemplos: Usar **36%**, e não 36 % (não usar espaço entre o **no** e %); Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o **no** e kg, que deve vir em minúsculo); Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em **L maiúsculo**, conforme padronização internacional); Usar **25oC**, e não 25 oC (sem espaço entre o **no** e oC); Usar (**P<0,05**) e não (p < 0,05); Usar **r² = 0,89** e não r²=0,89; Nas tabelas inserir o valor da probabilidade como “valor de P”; Nas tabelas e texto utilizar média ± desvio padrão (15,0 ± 0,5). Devem ser evitadas abreviações não-consagradas, como por exemplo: “o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6”. Este tipo de redação é muito cômodo para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Escreva os resultados e apresente suporte com dados. Não seja redundante incluindo os mesmos dados ou resultados em tabelas ou figuras.

DISCUSSÃO - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Discussão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem

esquerda. Apresente a sua interpretação dos seus dados. Mostre a relação entre fatos ou generalizações reveladas pelos seus resultados. Aponte exceções ou aspectos ainda não resolvidos. Mostre como os seus resultados ou interpretações concordam com trabalhos previamente publicados ou discordam deles, mas apresente apenas trabalhos originais, evitando citações de terceiros.

Discuta os aspectos teóricos e/ou práticos do seu trabalho. Pequenas especulações podem ser interessantes, porém devem manter relação factual com os seus resultados. Afirmarções tais como: "Atualmente nós estamos tentando resolver este problema..." não são aceitas. Referências a "dados não publicados" não são aceitas. Conclua sua discussão com uma curta afirmação sobre a significância dos seus resultados.

CONCLUSÕES - preferencialmente redigir a conclusão em parágrafo único, baseada nos objetivos. Devem se apresentar de forma clara e sem abreviações. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Conclusão" (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

AGRADECIMENTOS - os agradecimentos pelo apoio à pesquisa serão incluídos nesta seção. Seja breve nos seus agradecimentos. Não deve haver agradecimento a autores do trabalho. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Agradecimento" (escrita em caixa baixa).

NOTAS INFORMATIVAS - quando for o caso, antes das referências, deverá ser incluído parágrafo com informações e número de protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética e ou Biossegurança. (quando a Comissão de Ética pertencer à própria instituição onde a pesquisa foi realizada, deverá constar apenas o número do protocolo).

REFERÊNCIAS - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Referências" (escrita em caixa alta e negrito). Omitir a palavra bibliográficas. Alinhada somente à esquerda. Usar como base as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 10520 (NB 896) - 08/2002). Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es). Os destaques deverão ser em NEGRITO e os nomes científicos, em ITÁLICO. NÃO ABREVIAR O TÍTULO DOS PERIÓDICOS. Indica-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes. Mencionam-se os autores separados por ponto e vírgula. Digitá-las em espaço simples e formatá-las segundo as seguintes instruções: `nomenuFORMATAR,escolhaaopção PARÁGRAFO... ESPAÇAMENTO...ANTES...6 pts.`

Exemplo de como referenciar:

ARTIGOS DE PERIÓDICOS:

(citar os 3 primeiros autores seguido de "et al.")

JOCHLE, W.; LAMOND, D.R.; ANDERSEN, A.C. et al. Mestranol as an abortifacient in the bitch. *Theriogenology*, v.4, n.1, p.1-9, 1975.

Livros e capítulos de livro. Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sinenomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.l.:s.n.].

REFERÊNCIA DE LIVROS (*in totum*):

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Small animal practice**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1997. 1467 p.

REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo com autoria)

SMITH, M. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986, Cap.x, p.585-586.

REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo sem autoria)

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4., p.72-90.

OBRAS DE RESPONSABILIDADE DE UMA ENTIDADE COLETIVA: A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas**

- **SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

REFERÊNCIA DE TESE/DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA:

BACILA, M. **Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos**. 1989. Curitiba, 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

bibliográfico publicado em CD ROM, o autor deve proceder como o exemplo abaixo:

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gnosis, 1999, 17par. CD-ROM. Forragicultura. Avaliação com animais.FOR-020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Bases de dados em Ciência e Tecnologia**. Brasília, n. 1, 1996. CD-ROM.

E.mail Autor, < e-mail do autor. "Assunto", Data de postagem, e-mail pessoal, (data da leitura)

Web Site Autor [se conhecido], "Título"(título principal, se aplicável), última data da revisão [se conhecida], < URL (data que foi acessado)

FTPAutor [se conhecido] "Título do documento"(Data da publicação) [se disponível], Endereço FTP (data que foi acessado)

CITAÇÕES NO TEXTO: As citações no texto deverão ser feitas em caixa baixa. Quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados, seguido apenas do ano da publicação; três ou mais autores, citar o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. obedecendo aos exemplos abaixo:

Silva e Oliveira (1999)

Schmidt et al. (1999)

Archives of Veterinary Science

Setor de Ciências Agrárias

Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Rua dos Funcionários, 1540 80035-050 - Curitiba - Paraná - Brasil

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o número de folículos das éguas na fase cíclica é menor, contudo, o diâmetro dos folículos é maior. Além disso, aponta-se que o uso de dispositivo intravaginal de progesterona em éguas reduziu o diâmetro dos folículos, o que comprova o benefício do seu uso na aspiração folicular.

Os resultados mostraram uma redução no diâmetro dos folículos para as éguas que receberam o dispositivo de P4 e uma porcentagem maior de ovócitos recuperados na fase acíclica.

O uso de dispositivo intravaginal de P4 em éguas apresentou resultados satisfatórios que justificam sua indicação de uso nas éguas não cíclicas, desde que avaliado o custo do emprego da técnica. Já na fase cíclica são necessárias que mais pesquisas sejam conduzidas a fim de buscar, alterar e adequar as biotécnicas da reprodução em equinos a fim de contribuir, de forma sustentável, com a cadeia produtiva de equinos.

ANEXO


PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Cesumar - UniCesumar
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
CEUA – Comissão Ética no Uso de Animais

PARECER

USO EXCLUSIVO CEUA			
PROTOCOLO Nº	006	PARECER	06.1/2020
PROTOCOLADO EM:	21/09/2020	ESPÉCIE ANIMAL:	Equina
SEXO:	F	IDADE APROXIMADA:	5 anos
QUANTIDADE:	6	PESO APROXIMADO:	400kg

I – IDENTIFICAÇÃO
() PROJETO DE ENSINO (X) PROJETO DE PESQUISA () PROJETO DE EXTENSÃO () PLANO DE AULA
II – PESQUISADOR RESPONSÁVEL
Fábio Luiz Birn Cavaliari
III – INSTITUIÇÃO/DEPARTAMENTO
Unicesumar/ Fazenda Biotec
IV – TÍTULO DO PROJETO
ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM ÉGUAS: UMA BIOTÉCNICA SUSTENTÁVEL
V – CONSIDERAÇÕES DO PARECERISTA
VI – SITUAÇÃO
(X) APROVADO () PENDENTE () REPROVADO
De acordo,
 Prof. Marcelo Bernucci Coordenador CEUA
Data <u>19 / 11 / 2020</u>

DIRETORIA DE PESQUISA

CEUA – Comissão Ética no Uso de Animais

Av. Guedner, nº 1610 BL 11 – 5º piso Fone: (44) 3027-6360 Ramal 1345

CEP 87050-390 – Maringá – Paraná

e-mail: pesquisa@unicesumar.edu.br site: <https://www.unicesumar.edu.br/pesquisa/comissao-de-etica-no-uso-de-animais-ceua/>

