

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM  
DIFERENTES DOSES DE GONADOTROPINA  
CORIÔNICA HUMANA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Jordana Beal**

Santa Maria, RS, Brasil  
2008

**INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM  
DIFERENTES DOSES DE GONADOTROPINA CORIÔNICA  
HUMANA**

**por**

**Jordana Beal**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Fisiopatologia da Reprodução, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Mara Iolanda Batistella Rubin**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2008**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM DIFERENTES  
DOSES DE GONADOTROPINA CORIÔNICA HUMANA**

elaborada por  
**Jordana Beal**

como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

**Mara Iolanda Batistella Rubin, Dra.**  
(Presidente/Orientadora)

**Rodrigo Costa Mattos, Dr.**  
(UFRGS – Porto Alegre RS)

**Adriana Pires Neves, Dra.**  
(UFRGS - Porto Alegre RS)

Santa Maria, 28 de janeiro de 2008.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, em especial a minha mãe, Celi, por ser o meu porto seguro, por servir de inspiração e por jamais me deixar desistir. Ao meu pai, Carlos Alberto, mesmo não estando mais aqui para acompanhar essa etapa da minha vida, sempre serviu de exemplo com o seu caráter e sua determinação. À minha irmã, Andréia, por todo seu carinho e amizade.

Ao meu noivo, Fernando, por seu companheirismo, paciência e compreensão. Por ter estado ao meu lado nos momentos mais difíceis, por seu amor e incentivo.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Mara Rubin, pela oportunidade e por sua orientação e ao Prof<sup>o</sup> Carlos Antonio Mondino Silva, por seu apoio, auxílio e co-orientação.

À Cabanha Infinito, em especial ao proprietário Dr. Roberto Davis Jr. por ceder as instalações e os animais e ao Médico Veterinário Luis Sérgio Segala de Oliveira pela oportunidade, auxílio na realização desse experimento e por sua amizade.

Aos colegas de pós-graduação e estagiários do Embryolab, Fabrício Mozzaquatro, Rodrigo Arruda, Sandra Pozzobon, Bruna Ende, Gilson Pessoa, Juliano Calegari, Luciana Bortoluzzi, Roberta Cocco, Robinson Worst, Rodrigo Navarro e Stéphanou Dau por todo auxílio e principalmente pela amizade que construímos durante o convívio no laboratório, tornando os nossos dias mais agradáveis.

À amiga e colega de pós-graduação Andressa Bueno por compartilhar dessa experiência comigo, por seu companheirismo e palavras de estímulo, sucesso para nós.

Aos Professores Karin Erica Brass e Flávio Desessards De La Corte, aos pós-graduandos e estagiários da Clínica de Eqüinos e Laboratório de Imunogenética pela agradável convivência.

À Universidade Federal de Santa Maria por mais essa oportunidade, em especial ao seu excelente programa de pós-graduação em medicina veterinária, que certamente somará muito em minha vida acadêmica.

À CAPES pela bolsa de estudo.

## **RESUMO**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM DIFERENTES DOSES DE GONADOTROPINA CORIÔNICA HUMANA**

AUTORA: JORDANA BEAL  
ORIENTADORA: MARA IOLANDA BATISTELLA RUBIN  
CO-ORIENTADOR: CARLOS ANTONIO MONDINO SILVA  
Santa Maria, 28 de janeiro de 2008

O efeito de três diferentes doses endovenosas de gonadotropina coriônica humana (hCG) e a possível influência da idade dos animais, do diâmetro folicular e dos meses da estação de monta (setembro a janeiro) foram avaliados sobre a resposta ovulatória em cento e vinte e três éguas Crioulas, entre 2 e 24 anos de idade durante a temporada de monta de 2006. As éguas foram examinadas diariamente através de palpação retal e ultra-sonografia com transdutor trans-retal linear de 5MHz. Quando os folículos ovarianos em desenvolvimento alcançaram um diâmetro entre 30 a 35mm aplicou-se uma injeção endovenosa de hCG. As éguas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos, conforme a dose de hCG aplicada: 1000 UI (n=39), 1500 UI (n=41), e 2000 UI; (n=43). As fêmeas foram cobertas no dia seguinte à aplicação de hCG e examinadas diariamente até a detecção da ovulação. O percentual de éguas que ovularam antes de se passarem 24h da aplicação de hCG foi de 10,5%, 7,3% e 4,7%, e o das que o fizeram antes de decorrerem 48h da injeção foi de 92,5%, 83,7% e 86,0%, respectivamente, para os grupos tratados com 1000 UI, 1500 UI e 2000 UI de hCG. Não houve relação entre os meses da estação de monta, a idade das éguas, diâmetro folicular (30-35mm) no momento da aplicação do hCG e a resposta ovulatória. As três doses de hCG utilizadas apresentaram efeito similar ( $P>0,05$ ), induzindo a ovulação da maioria das éguas em até 48h. Éguas Crioulas em cio, apresentando folículos pré-ovulatórios com diâmetro entre 30-35mm respondem bem à indução da ovulação quando tratadas com 1000 UI, 1500 UI ou 2000 UI de hCG.

**Palavras-chave:** Indução da ovulação; hCG; Égua Crioula; eqüinos.

## **ABSTRACT**

Master's Dissertation in Veterinary Medicine  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.

### **OVULATION INDUCTION WITH DIFFERENT DOSES OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN IN CRIOLLO MARES**

AUTHOR: JORDANA BEAL  
ADVISER: MARA IOLANDA BATISTELLA RUBIN  
CO-ADVISER: CARLOS ANTONIO MONDINO SILVA  
Santa Maria, 28 de janeiro 2008.

The effect of three different i.v. doses of human chorionic gonadotropin (hCG), as far as the possible influence of aging, follicular diameter and the month of the breeding season (September to January), was evaluated for ovulation induction in one hundred and twenty three Criollo mares, between 2 and 24 years old, during the 2006 breeding season. The mares were examined daily by rectal palpation and ultrasonography with a 5MHz linear transrectal transducer. When the ovarian follicles reached a diameter of 30 to 35mm, ovulation was induced with an injection of hCG. Mares were assigned into three groups, each one receiving a different i.v. dose of hCG (1000 IU; n=39, 1500 IU; n=41, 2000 IU; n=43). Mares were bred in the next day and examined daily until ovulation was detected. Percentage of mares ovulating before 24h of pharmacology induction was 10.5%, 7.3% e 4.7%, and before 48h, 92.5%, 83.7% and 86.0%, respectively, for groups of 1000, 1500 and 2000 IU of hCG. The month of the breeding season, age of the mares or follicular diameter (30-35mm) had no influence on ovulation response. The injection of hCG showed similar ( $P>0.05$ ) effects with the tree doses studied. Ovulation was induced, until 48h after injection when a pre-ovulatory follicle 30-35mm in diameter was visualized. Criollo mares with 30 to 35mm diameter pre-ovulatory follicles can have their ovulation induced when treated with 1000 UI, 1500 UI or 2000 UI of hCG.

**Key words:** Ovulation induction; hCG; Crioulo mares; equine.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Indução da ovulação em éguas da raça Crioula com diferentes doses de gonadotropina coriônica humana (hCG), média e desvio padrão do diâmetro folicular no momento do tratamento e idade dos animais, no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.....28

TABELA 2 - Distribuição mensal das ovulações após indução com gonadotropina coriônica humana (hCG), em éguas Crioulas no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.....29

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

GRÁFICO 1 - Distribuição percentual de éguas que ovularam nos diferentes intervalos de tempo após aplicação das doses de gonadotropina coriônica humana (hCG) em éguas Crioulas no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.....27

## SUMÁRIO

<b>FOLHA DE ROSTO</b> .....	1
<b>FOLHA DE APROVAÇÃO</b> .....	2
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	6
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	7
<b>SUMÁRIO</b> .....	8
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	11
2.1 O ciclo estral na égua .....	11
2.2 Detecção do momento da ovulação .....	15
2.3 Indicações para o uso de indutores da ovulação .....	16
2.4 Momento da indução da ovulação .....	17
2.5 Gonadotropina Coriônica Humana .....	18
<b>3. CAPÍTULO 1. Indução da ovulação em éguas Crioulas com diferentes doses de gonadotropina coriônica humana</b> .....	21
3.1 Resumo .....	22
3.2 Abstract .....	23
3.3 Introdução .....	23
3.4 Materiais e métodos .....	25
3.5 Resultados e discussão .....	26
3.6 Referências Bibliográficas .....	29
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	32
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	33

## INTRODUÇÃO

Durante a estação de monta fisiológica, a égua pode mostrar variação na duração do ciclo, no intervalo entre o início do estro até a ovulação e no tamanho dos folículos pré-ovulatórios. Técnicas modernas de concepção, como inseminação com dose baixa no fundo de corno, transferência de embriões, inseminação com sêmen fresco, resfriado e congelado requerem precisa determinação do momento da ovulação (KÖLLING & ALLEN, 2005).

A ovulação geralmente é induzida para gerar maior sincronismo com a inseminação. Apesar de já ter sido mostrado que éguas cobertas com garanhões férteis podem conceber mesmo se a ovulação ocorrer alguns dias após a cobertura, entretanto, as taxas de concepção aumentam significativamente se as coberturas ocorrerem próximas às ovulações (SAMPER et al., 2002). Os fármacos mais utilizados para induzir as ovulações eqüinas são a gonadotropina coriônica humana (hCG) e os análogos do hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), sendo também utilizado o extrato de pituitária equina (EPE), o hormônio luteinizante eqüino (eLH eqüino) e as prostaglandinas (CHAVATTE & PALMER, 1998).

A gonadotropina coriônica humana foi o primeiro fármaco utilizado na indução da ovulação em éguas (DAY, 1939), e, no momento, este é, provavelmente, o hormônio mais utilizado em reprodução eqüina. A eficiência do hCG em induzir a ovulação em éguas no cio com folículos de no mínimo 35mm já foi demonstrado por vários pesquisadores (DAY, 1939; LOY & HUGHES, 1966; VOSS et al., 1975; WEBEL et al., 1977; DRIANCOURT & PALMER, 1982). No entanto, muitos estudos têm sido realizados na última década para encontrar uma solução alternativa na indução da ovulação em éguas, já que parece que o uso freqüente de hCG em éguas poderia levar a formação de anticorpos anti-hCG com uma perda subsequente da sua eficiência (SULLIVAN et al., 1973; VOSS et al., 1975; ROSER et al., 1979; DUCHAMP et al., 1987; WILSON et al., 1990).

Até o presente momento, poucos estudos sobre o comportamento reprodutivo na raça Crioula foram realizados e não existem informações pertinentes sobre o uso de indutores da ovulação nessas fêmeas. A variabilidade de resultados observada com o uso de diferentes doses de hCG e as diversas condições dos animais em que este hormônio foi aplicado em outras raças, indica a necessidade de estudos relacionados ao seu efeito, para poder, assim, vir a ser usado de forma segura na raça Crioula.

Por esta razão, avaliou-se a resposta ovulatória de éguas Crioulas submetidas às aplicações de 1000, 1500 e 2000 UI de hCG quando apresentavam folículos com diâmetros entre 30 e 35mm. Também foi observada a influência da idade das éguas e dos meses da estação reprodutiva em que o hormônio foi aplicado sobre a resposta ovulatória.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O ciclo estral na égua

O início da estação ovulatória nas éguas ocorre em resposta ao aumento de horas luz/dia que é interpretado através do sistema nervoso central. As mudanças na duração dos dias são reconhecidas pelos receptores da luminosidade do nervo ótico, que estão ligados à glândula pineal. Esta por sua vez, em resposta ao estímulo modifica a secreção de melatonina provocando transformações apropriadas no hipotálamo (GINTHER, 1992).

O aumento das secreções do GnRH pelo hipotálamo faz com que hipófise libere os hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), caracterizando a transição de inverno para a primavera. Conseqüentemente, os esteróides ovarianos provenientes das estruturas foliculares e luteais, controlam tanto a liberação de GnRH quanto das gonadotropinas durante o ciclo estral em um rápido ciclo rítmico que se repete a cada 21-22 dias até que este ciclo seja interrompido por prenhez, sazonalidade ou condições patológicas (BERGFELT, 2000).

O ciclo ovulatório da égua tem em média 21 dias de duração, sendo 14 dias de diestro (fase luteal) e 7 dias de estro (fase folicular) (PALMER & JOUSSET, 1975). No entanto, existe ampla variação entre os ciclos, que se deve à duração do cio, que pode durar de 2 a 15 dias. Além disso, os cios são mais longos durante o período transicional de primavera, quando as éguas começam a apresentar atividade ovulatória e mais curtos no final da estação ovulatória (GINTHER 1974; PALMER 1978).

O comportamento característico do cio é atribuído ao efeito de altos níveis de estrógeno sistêmico associados com o desenvolvimento dos folículos que ocorre na fase folicular. Em contraste, o comportamento de diestro é atribuído aos altos níveis sistêmicos de progesterona associado com o desenvolvimento do corpo lúteo,

caracterizando a fase lútea, que dura, geralmente, entre 14 a 16 dias (BERGFELT, 2000).

O crescimento folicular é um processo contínuo que acontece durante toda a vida reprodutiva das fêmeas, independente do seu estado fisiológico. A atividade folicular é mínima durante a metade da estação anovulatória, seguida de um aumento na atividade nos últimos dois meses do anestro estacional ou período de transição, apresentando atividade máxima no desenvolvimento do primeiro folículo ovulatório da temporada reprodutiva. Portanto, as ondas foliculares ocorrem tanto no anestro estacional quanto na estação ovulatória (DONADEU & GINTHER, 2002).

O crescimento folicular pode ser dividido em dois períodos. A primeira fase ocorre independente da regulação hormonal e é quando os folículos primordiais começam a crescer. As células foliculares se dividem e multiplicam-se para diferenciar-se em células da teca e da granulosa. Ao mesmo tempo, os oócitos começam a maturar e aumentar de tamanho. Após várias semanas de crescimento, a secreção do fluido folicular é iniciada por disjunção das células e o folículo torna-se um folículo antral. Neste momento, seu tamanho está em torno de 0,2 a 0,4mm (DRIANCOURT et al., 1982). Nas éguas, os folículos antrais tornam-se sensíveis as gonadotropinas quando seus diâmetros alcançam ao redor de 5-10mm. Nesse momento, se inicia o segundo estágio do crescimento folicular que se chama onda folicular, que ocorre uma vez por ciclo na maioria das éguas (CHAVATTE & PALMER, 1998).

O estímulo necessário para o recrutamento folicular, ou seja, para a continuidade do crescimento folicular depende da elevação das concentrações plasmáticas de FSH (FORTUNE, 1994). Conforme GINTHER et al. (2000) o maior folículo emerge em média, um dia antes da emergência do segundo maior folículo. As concentrações de FSH que estimulam a emergência da onda folicular iniciam seu declínio quando os folículos atingem o diâmetro de aproximadamente 13mm, devido a capacidade destes folículos para secretar inibina. Nos dois primeiros dias, a queda das concentrações de

FSH é causada somente pela inibina, baseada em uma relação temporal entre o FSH, a inibina imuno-reativa e o estradiol (DONADEU & GINTHER, 2001; MEDAN et al., 2004). Já as concentrações de estradiol começam a aumentar próximo ao início da divergência folicular (BERGFELT et al., 2001; GASTAL et al., 1999a), mas a contribuição do estradiol ao contínuo declínio do FSH não é conhecida (GINTHER et al., 2005).

A divergência folicular ocorre associada à lise do corpo lúteo. Nesse momento, o maior folículo mede em média 22-23mm de diâmetro e o FSH atinge concentrações que são suficientes para manter o crescimento do folículo dominante, mas são muito baixas para sustentar o crescimento dos futuros folículos subordinados, que acabam entrando em regressão (DONADEU & GINTHER, 2003). Após a divergência folicular, o folículo dominante parece passar por uma troca na dependência gonadotrópica, ou seja, o folículo que inicialmente era dependente de FSH passa a ser dependente predominantemente do LH. A aquisição de receptores de LH pelas células da granulosa do folículo dominante, junto com os receptores de FSH remanescentes, permite que o crescimento folicular continue apesar dos baixos níveis de FSH. Os outros folículos tornam-se atresícos e degeneram lentamente (GINTHER, 1992).

Se uma completa regressão do corpo lúteo permitiu o aumento dos níveis de LH, a ovulação ocorre após o folículo dominante sofrer a maturação final e alcançar mais de 35mm de diâmetro (CHAVATTE & PALMER, 1998). Segundo GINTHER (1992), o aumento sistêmico dos níveis de LH próximo ao início da fase folicular são atribuídos ao efeito feedback positivo do aumento dos níveis de estrógeno, provocado pelo crescimento folicular, no hipotálamo, e ao efeito de feedback negativo da queda da progesterona causada pela regressão lútea. As ovulações ocorrem de forma espontânea quando um folículo pré-ovulatório maduro (aproximadamente 40mm de diâmetro) é exposto a altos níveis de LH. Elas podem também, ser induzidas artificialmente através de fármacos de ação luteinizante, tais como, diretamente, o hCG ou, indiretamente, o GnRH.

Em muitas espécies, a ovulação ocorre após um pico de LH. Em éguas, a ovulação ocorre após uma constante e lenta elevação na concentração plasmática de LH (GINTHER, 1987). Sob determinado limiar no estímulo de LH, o folículo se rompe e o oócito é expelido, adotando o caminho para a fossa de ovulação. O oócito é, então, recolhido pelas fímbrias e liberado no infundíbulo do oviduto onde irá ocorrer a fertilização. Inicialmente, após a ruptura do folículo, ocorre uma hemorragia na parede folicular rompida que vai dar origem à formação do corpo hemorrágico. As células da granulosa e da teca se transformam estrutural e funcionalmente luteinizando-se, e na seqüência vão formar o corpo lúteo. A partir deste momento, inicia-se a fase lútea (HAFEZ & HAFEZ, 2000).

O início da fase lútea (diestro) é associado ao desenvolvimento do corpo lúteo tendo como substrato o coágulo intrafolicular. A ruptura do folículo pré-ovulatório durante a ovulação resulta em uma queda na produção de estrógenos e inibina, diminuindo, conseqüentemente, os níveis sistêmicos de ambos os hormônios. Simultaneamente, as concentrações do LH circulante também diminuem após a ovulação. A combinação do desaparecimento do feedback positivo do estrógeno e do aparecimento do feedback negativo da progesterona, aparentemente contribuem para o declínio do LH (GINTHER, 1992).

Existe uma relação negativa entre as mudanças sistêmicas nas concentrações de LH e progesterona. Um corpo lúteo recém formado inicia a secreção de progesterona no momento da ovulação, antes do início da regressão pós-ovulatória do LH. Também no final do diestro, a progesterona começa a diminuir dois dias antes do aumento do LH. Além disso, um efeito negativo da progesterona sobre o LH têm sido demonstrado ao se utilizar progesterona exógena (BERGFELT et al., 2001; GASTAL et al., 2000; GASTAL et al., 1999b).

O final da fase luteal envolve uma cascata de eventos hormonais resultando na síntese e secreção da prostaglandina –  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) pelo endométrio. O efeito luteolítico da  $PGF_{2\alpha}$  atinge o corpo lúteo pela via sistêmica provocando a sua regressão. As

concentrações sistêmicas começam a aumentar aproximadamente na metade do diestro com o pico máximo de concentração acontecendo ao redor do dia 14 pós-ovulação. Depois disso, os níveis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  decrescem gradativamente juntamente com a regressão lútea e a queda da produção de progesterona (GINTHER, 1992).

## **2.2 Detecção do momento da ovulação**

O uso da ultra-sonografia transretal nos últimos 25 anos para visualizar folículos ovarianos e medir precisamente seus diâmetros tem auxiliado consideravelmente na detecção do folículo pré-ovulatório (PALMER & DRIANCOURT, 1980). DE LA CORTE et al. (1992) relataram pioneiramente no Brasil o monitoramento do ciclo estral de uma égua, examinando-a diariamente com auxílio de um ultra-som para descrever as fases de um ciclo regular.

No início do estro, vários folículos podem ser palpados e medidos nos ovários. Eles crescem rapidamente até haver a divergência folicular, quando o folículo dominante produz fatores que inibem o crescimento e causam a regressão dos outros folículos. De uma forma prática, folículos ovulatórios usualmente são maiores que 35mm, e a sua parede pode apresentar espessura de até 6mm. No entanto, o tamanho folicular um dia antes da ovulação varia entre os ciclos e também com a época do ano, sendo os maiores folículos pré-ovulatórios observados no início da estação de monta (GINTHER & PIERSON, 1989). Imagens ultra-sonográficas do folículo dominante pré-ovulatório demonstraram aumento no volume do antro e espessamento da parede folicular (TOWNSON & GINTHER, 1989).

A consistência dos folículos, às vezes, é menor próximo a ovulação e a sensibilidade dos ovários à palpação aumenta, mas esses fenômenos não são confiáveis o suficiente para se prever o momento da ovulação. Instantes antes da ovulação, as imagens ultra-sonográficas do folículo perdem as suas forma arredondada, alongando-se em direção à fossa de ovulação e a parede folicular parece mais fina. No entanto, este estágio nem sempre é observado já que isto ocorre poucas horas do

momento da ovulação (DE LA CORTE et al., 1992; CHAVATTE & PALMER, 1998).

### **2.3 Indicações para o uso de indutores da ovulação**

A indução da ovulação geralmente é utilizada quando a égua apresenta folículos em crescimento acima do tamanho pré-ovulatório. Na maioria dos casos, a égua cíclica irá ovular espontaneamente, mas em um período indeterminado, além disso, na época de transição ou em condições patológicas, as éguas apresentam crescimento folicular normal, mas falham ao ovular (PALMER, 1993).

A indução confiável da ovulação é uma importante ferramenta para qualquer atividade na reprodução eqüina. Além de se melhorar as taxas de prenhez ao utilizar sêmen resfriado, congelado ou de baixa qualidade, próximo do momento da ovulação, a indução da ovulação reduz o número de inseminações necessárias por ciclo, resultando em um programa reprodutivo mais eficiente (SAMPER et al., 2002). Induzir o momento da ovulação é importante principalmente se tratando de éguas que são cobertas com garanhões altamente requisitados, que permitem apenas uma monta por ciclo; em éguas cobertas com garanhões sub-férteis, com baixa concentração espermática ou sêmen de baixa longevidade; em éguas com susceptibilidade às infecções uterinas e que não devem ser cobertas mais de uma vez em um único ciclo, e ainda nas inseminações artificiais com sêmen resfriado transportado ou sêmen congelado, já que o número de palhetas ou doses inseminantes são geralmente limitadas e a qualidade do sêmen é mais baixa (SAMPER et al., 2002).

Em geral, um intervalo menor de 48 horas é recomendado entre a última inseminação e a ovulação quando a égua é coberta naturalmente ou inseminada com sêmen fresco. Quando sêmen congelado é utilizado, a ovulação não deve ocorrer além de 24 horas após a última inseminação, o que enfatiza a necessidade de precisão na previsão do momento da ovulação. Além disso, a técnica de punção folicular requer um controle desse intervalo ainda maior para coletar oócitos maduros de folículos pré-ovulatórios. Finalmente, a indução da ovulação também pode ser usada em programas

de sincronização e no período transicional quando a secreção endógena de LH é muito baixa para induzir a ovulação espontaneamente (CHAVATTE & PALMER, 1998).

#### **2.4 Momento da indução da ovulação**

A primeira pesquisa sobre indução da ovulação em éguas foi realizada por DAY (1939), que preconizou tempo fixo durante o estro, ou seja, as éguas eram tratadas, geralmente no segundo dia do cio e o efeito do tratamento caracterizado pela diminuição significativa da duração do estro ou do intervalo entre o início do estro e a ovulação. No entanto, a variabilidade no desenvolvimento folicular neste estágio do ciclo pode explicar algumas das diferenças nos resultados (causadas por folículos de tamanho insuficiente no momento do tratamento). Um método mais adequado consiste na detecção do folículo (diâmetro) e do seu crescimento por palpação retal ou ultrassonografia, induzindo a ovulação quando um folículo em desenvolvimento atinge determinado diâmetro (GINTHER, 1986).

Apesar de ainda não ter sido definido o tamanho mínimo para um folículo responder ao tratamento, atualmente recomenda-se que as éguas devam ser tratadas quando o folículo dominante atinge o tamanho mínimo de 33mm e 35mm de diâmetro em pôneis e éguas, respectivamente. É essencial, no entanto, ter certeza que o folículo está crescendo e não entrando em atresia. Portanto, é necessário realizar vários exames, começando cedo o suficiente para verificar o crescimento do folículo e adequar o tratamento ao tamanho deste. Além disso, folículos maduros crescem efetivamente entre a realização de dois exames enquanto folículos atrésicos continuam do mesmo tamanho ou diminuem, já que a taxa de regressão é muito mais lenta que a taxa de crescimento (PALMER, 1993).

Assim, o momento ideal para a aplicação do indutor de ovulação depende da combinação de fatores ou características, como a época do ano, a apresentação de cio, a eco textura endometrial, o tônus uterino e cervical, a eco textura da parede do folículo pré-ovulatório, bem como o diâmetro e forma do maior folículo (DE LA CORTE, 1992).

## 2.5 Gonadotropina Coriônica Humana

A gonadotropina coriônica humana (hCG) é uma proteína constituída de duas cadeias de peptídeos contendo galactose e hexoxamina com um peso molecular de 30.000 e uma meia vida de 8 a 12 horas. O hormônio é produzido pelos citotrofoblastos da vesícula coriônica da placenta humana e aparece na urina poucas semanas após a concepção, atingindo seu pico aproximadamente em 50 dias de gestação e diminuindo a quantidades insignificantes em seguida (McDONALD, 1988).

O hCG liga-se aos receptores de LH eqüinos no ovário (EVANS et al., 1982), apesar de ele ser quimicamente diferente do hormônio luteinizante pituitário (LH), a sua atividade biológica é primariamente semelhante ao LH com efeitos semelhantes aos causados pelo FSH (McDONALD, 1988). Nas éguas em estro, promove a maturação e ovulação do folículo dominante de éguas em estro (VOSS, 1993).

O uso do hCG para induzir a ovulação tem amplo histórico. No trabalho pioneiro de DAY (1939), inicialmente se administrou 1000 “unidades de égua” de hCG quando o folículo estava maturo o suficiente para a ovulação ser induzida. DAVIDSON (1947) mostrou que a ovulação era induzida entre 24 e 48 após a aplicação de hCG. NISHIKAWA (1959) administrou hCG no primeiro dia do estro e a ovulação ocorreu em 3 dias, em sete de nove éguas. BUTTERFIELD et al. (1964) relataram que a fertilidade se mantinha normal após injeções sistêmicas de 2500 UI de hCG. LOY & HUGHES (1966) utilizaram 2500 UI de hCG endovenoso no segundo dia do estro e obtiveram as ovulações ocorrendo em média 4,09 dias após o tratamento, enquanto as éguas controle ovularam em 6,53 dias após o tratamento.

Várias dosagens já foram testadas, de 1000 a 5000 UI, mas uma dosagem ideal ainda não foi definida (LOY & HUGHES, 1966; VOSS et al., 1975). Tradicionalmente, 2500 UI de hCG são injetadas endovenosamente em éguas em estro que possuem um folículo maior de 35mm de diâmetro e a ovulação ocorre em até 48 horas após a injeção em mais de 75% das éguas tratadas (DAY, 1939; DAVIDSON, 1947; VOSS et

al., 1975; DRIANCOURT & PALMER, 1982). A fertilidade não é afetada com o uso do hCG (LOY & HUGHES, 1966; VOSS et al., 1975). Estudos detalhados comprovaram que a ovulação ocorre na verdade entre 32 e 42 horas após o tratamento e que ovulações mais precoces não ocorrem devido ao hCG, mas provavelmente são induzidas por um pico endógeno de LH (FREEMAN et al., 1991; GRONDAHL et al., 1993; BATTUT et al., 1998).

Apesar de o hCG ser amplamente utilizado na reprodução eqüina, já foi demonstrado que o uso freqüente de hCG em éguas pode levar a formação de anticorpos anti-hCG com uma perda subsequente da eficiência. Portanto, vários estudos têm sido realizados na última década para encontrar uma solução farmacológica alternativa na indução da ovulação em éguas (SULLIVAN et al., 1973; VOSS et al., 1975).

Os primeiros estudos realizados sugeriram que a resposta ao hCG diminuía conforme o uso repetido na mesma égua, sugerindo uma origem imunológica (SULLIVAN et al., 1973; VOSS et al., 1975). Na verdade, hoje está definido que éguas produzem anticorpos anti-hCG após serem tratadas por 2 a 5 vezes em uma temporada de monta (ROSER et al., 1979; DUCHAMP et al., 1987; WILSON et al., 1990). No entanto, as éguas continuam ovulando espontaneamente, já que os anticorpos não interagem com o LH eqüino, mas elas não respondem mais ao tratamento. Em uma tentativa de reduzir a resposta inflamatória associada às aplicações e na tentativa de reduzir a produção de anticorpos, DUCHAMP et al. (1987) trataram as éguas simultaneamente com hCG e corticóides de longa ação, mas a produção de anticorpos não diminuiu.

NOGUEIRA (1990) testou a eficiência do hCG e de prostaglandinas na indução da ovulação e duração do cio em 104 éguas PSC. No estudo, verificou-se que ambos os fármacos induzem a ovulação, e que o hCG, na dose de 3000 UI reduz adequadamente a duração do cio, especialmente em éguas com cio prolongado. Posteriormente, BLANCHARD e colaboradores (2003) demonstraram que não houve

diminuição nas taxas de resposta quando o hCG foi administrado durante mais de quatro ciclos estrais diferentes na mesma estação de monta. BARBACINI et al. (2000) realizaram um vasto estudo retrospectivo na Itália, à latitude 45°3'52"92 norte detectando que a incidência de éguas que receberam hCG e não ovularam foi maior no grupo das solteiras e velhas (>16 anos). Eles também demonstraram que as éguas que receberam hCG em maio, junho e julho (final da estação) tiveram maior tendência de ovular antes de 24 horas após o tratamento, quando comparadas às tratadas em fevereiro, março e abril (início da estação). Finalmente, os autores concluíram que o uso repetido de hCG não diminuiu a resposta ovulatória das éguas tratadas.

### 3 CAPÍTULO 1

## INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM DIFERENTES DOSES DE GONADOTROPINA CORIÔNICA HUMANA

(Ovulation induction with different doses of human chorionic gonadotropin in the Criollo mares)

BEAL J.<sup>1,2</sup>, RUBIN, M.I.B.<sup>3</sup>, SILVA C.A.M.<sup>3</sup>, OLIVEIRA L.S.S.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> MV, Rua Dr. Bozano, 711/403, 97.015-001 – Santa Maria/RS

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFSM/RS

<sup>3</sup> DMV, Embryolab – Laboratório de Embriologia Animal, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Centro de Ciências Rurais – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) 97.105-900 Santa Maria/RS, Brasil

<sup>4</sup> Professor Adjunto UFSM - Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM.

### Agradecimentos

À Agropecuária Infinito por disponibilizar a infra-estrutura e os animais, ao professor José Henrique por ajudar na realização da estatística desse trabalho, aos colegas de pós-graduação Fabrício Desconzi Mozzaquatro, Sandra Elisa Pozzobon e Rodrigo Arruda pelo auxílio na pesquisa e à CAPES pela bolsa de estudos.

Artigo submetido à *Journal of Animal Science*.

# INDUÇÃO DA OVULAÇÃO EM ÉGUAS CRIOULAS COM DIFERENTES DOSES DE GONADOTROPINA CORIÔNICA HUMANA

## OVULATION INDUCTION WITH DIFFERENT DOSES OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN IN THE CRIOLLO MARES

### RESUMO

O efeito de três doses endovenosas de gonadotropina coriônica humana (hCG) e a possível influência da idade dos animais, do diâmetro folicular e dos meses da estação de monta (setembro a janeiro), foram avaliados considerando a resposta à indução da ovulação. Cento e vinte e três éguas Crioulas, entre 2 e 24 anos de idade foram utilizadas durante a temporada de monta de 2006. As éguas foram examinadas diariamente através de palpação retal e ultra-sonografia com transdutor trans-retal linear de 5MHz. Quando os folículos ovarianos alcançaram entre 30 a 35mm de diâmetro induziu-se a ovulação com uma injeção endovenosa de hCG. As éguas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos conforme a dose de hCG aplicada: 1000 UI (n=39), 1500 UI (n=41), e 2000 UI; (n=43). As éguas foram cobertas no dia seguinte à aplicação de hCG e examinadas diariamente até a detecção da ovulação. A análise dos dados foi feita pelo pacote estatístico SAS através do Teste Kruskal-Wallis. O percentual de éguas que ovularam antes de 24h da injeção de hCG foi 10,5%, 7,3 e 4,7%; e até 48h após injeção de 92,5%, 83,7% e 86,0% nos grupos tratados com 1000 UI, 1500 UI e 2000 UI de hCG, respectivamente. Não houve influência dos meses da estação de monta, da idade ou do diâmetro folicular no momento da aplicação sobre a resposta ovulatória. Portanto, as três doses de hCG tiveram efeito similar ( $P>0,05$ ), induzindo a ovulação em até 48h em éguas Crioulas com folículos ovarianos entre 30-35mm.

**Palavras-chave:** Indução da ovulação, hCG, diâmetro folicular, Crioula, égua

## ABSTRACT

The effect of three different i.v. treatments of human chorionic gonadotropin (hCG) and the possible influence of aging, follicular diameter and month of the breeding season (September to January) on ovulation induction was evaluated. One hundred and twenty three Criollo mares, between 2 and 24 years old, were used during the 2006 breeding season. The mares were examined daily by rectal palpation and ultrasonography with a 5MHz linear transrectal transducer. When the ovarian follicles reached a diameter of 30 to 35mm, ovulation was induced with an injection of hCG. Mares were assigned into three groups, each one receiving a different i.v. dose of hCG (1000 IU; n=39, 1500 IU; n=41, 2000 IU; n=43). Mares were bred in the next day and examined daily until ovulation was detected. Data was processed using the Kruskal-Wallis Test through the commercial software (SAS). The percentage of mares ovulating before 24h of hCG injection was 10.5%, 7.3% e 4.7% and until 48h after injection was 92.5%, 83.7% and 86.0%, for groups of 1000, 1500 and 2000 IU of hCG, respectively. The month of the breeding season, the age of the mares or the follicular diameter had no influence on ovulation response. The injection of hCG showed similar ( $P>0.05$ ) effects with the three doses studied in Criollo mares, inducing ovulation until 48h after injection when a pre-ovulatory follicle 30-35mm in diameter was visualized.

**Key words:** Ovulation induction, hCG, follicular diameter, Crioulo, equine.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o cavalo Crioulo representa a terceira maior raça, com mais de 200 mil animais. A crescente participação de cavalos da raça Crioula em provas esportivas tem levado ao aumento dos investimentos pelos criadores. No entanto, o manejo reprodutivo destes animais ainda não acompanha o desenvolvimento da raça e vários fatores ainda necessitam ser estudados.

A gonadotropina coriônica humana (hCG) foi o primeiro hormônio utilizado para induzir ovulação em éguas (DAY, 1939), estando provavelmente entre os hormônios

mais usados no manejo da reprodução eqüina (McCUE et al., 2004). Esse hormônio luteinizante se liga aos receptores de LH do ovário induzindo a maturação e a ovulação do folículo dominante de éguas em estro (VOSS, 1993).

Identificar o momento da ovulação é particularmente importante quando se utiliza sêmen congelado, sêmen fresco transportado, ou ainda, ao utilizar garanhões que tenham sobrevivência espermática reduzida após a ejaculação (CHAVATTE & PALMER, 1998). Segundo WEBEL et al. (1977), a sincronização da ovulação é mais previsível quando o hCG é aplicado em éguas cujos folículos já alcançaram 30 a 35mm de diâmetro, enquanto para PALMER (1993), o tamanho mínimo para um folículo responder com sucesso à estimulação hormonal com LH é 33mm em éguas pôneis e 35mm de diâmetro em éguas maiores.

Não existe uma dose padrão de hCG para induzir a ovulação, no entanto a dose mais utilizada em éguas em cio que tenham folículos maiores de 35mm de diâmetro é de 2500 UI de hCG endovenoso (DAY, 1939; VOSS et al., 1975; CHAVATTE & PALMER, 1998). Em estudo realizado por GASTAL et al. (2006) em éguas Bretãs, o tempo médio para ocorrência das ovulações foi menor e o sincronismo das ovulações aumentou com a aplicação de doses de 1500 UI e 2500 UI de hCG quando comparadas com as éguas tratadas com 500 UI.

Na Itália, BARBACINI et al. (2000) avaliaram o efeito da estação do ano e idade das éguas sobre a resposta ovulatória ao hCG em éguas de salto. Nesses estudos as éguas mais velhas (>16 anos) responderam mais tarde ao hCG (>48h) quando comparadas as jovens. Já nas éguas utilizadas na metade final da estação de monta, a distribuição das ovulações foi sensivelmente alterada nas primeiras 24 horas pós-indução com hCG.

O experimento teve como objetivo avaliar a eficiência do uso de 1000 UI, 1500 UI e 2000 UI de hCG sobre a indução da ovulação de éguas Crioulas, bem como a influência da idade das éguas, do diâmetro folicular no momento da aplicação do hormônio e do mês na estação reprodutiva em que se utilizou o fármaco.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento foi realizado em um criatório de cavalos Crioulos em São Sepé (RS), durante a estação de monta de 2006 (setembro-janeiro). Cento e vinte três éguas Crioulas, lactantes ou não, com idade entre 2 e 24 anos, com peso médio de 415Kg criadas em pastagem nativa consorciada com pastagem de trevo branco serviram para o estudo. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, sendo que cada fêmea recebeu uma dose de 1000 UI (n=39), 1500 UI (n=41), ou 2000 UI (n=43) de hCG (Chorulon®; Intervet, São Paulo – SP, Brasil), via endovenosa. O frasco comercial de 5000 UI de hCG foi diluído em 5ml de diluente estéril tamponado e distribuído em seringas estéreis de 3ml conforme as doses do delineamento experimental.

Após a observação do cio, o trato reprodutivo das éguas foi examinado diariamente por palpação e ultra-sonografia com um aparelho modelo SSD-500 e transdutor trans-retal de 5MHz (Aloka, Co., LTD. 6-21-1, Mure, Mitaka-shi, Tokyo, 181-8622, Japan). No momento em que os folículos ovarianos das éguas alcançaram entre 30 e 35mm de diâmetro, induziu-se a ovulação. No dia seguinte à aplicação do hormônio, as éguas foram cobertas com garanhões comprovadamente férteis, sendo examinadas diariamente e cobertas a cada 48h, até o momento da ovulação.

A influência na resposta ovulatória das éguas foi avaliada levando-se em consideração a idade, o mês em que foi realizada a indução da ovulação e o diâmetro do folículo no momento do tratamento. As éguas foram separadas de acordo com a idade em éguas novas (2-9 anos), éguas maduras (10-16 anos) e éguas velhas (>16 anos). A estação reprodutiva foi separada em duas partes: setembro e outubro; novembro, dezembro e janeiro.

Os dados deste estudo foram analisados pelo pacote estatístico SAS (*Software of the Statistical Analysis System Release 8.01, 2001*) e se utilizou o teste não paramétrico Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

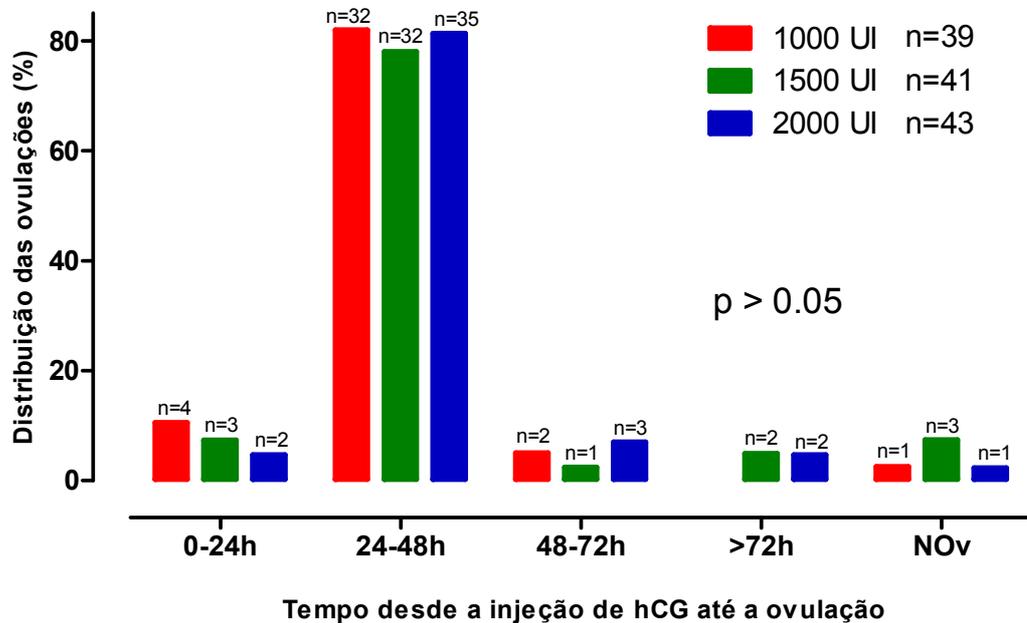
Na espécie eqüina, inúmeros estudos foram conduzidos para avaliar o efeito de doses entre 500 UI e 6000 UI de hCG. A dose ideal para indução da ovulação em éguas ainda não foi determinada e tradicionalmente diferentes equipes utilizam 2500 UI de hCG (DAY, 1939; CHAVATTE & PALMER, 1998; BERGFELT, 2000; GASTAL et al., 2006).

De acordo com CHAVATTE & PALMER (1998), a indução da ovulação acontece entre 32 e 42 horas após a aplicação do hCG. As ovulações que ocorrem antes das 24 horas não são causadas pelo fármaco, mas induzidas por um pico endógeno de LH. No presente experimento, as éguas foram examinadas apenas uma vez ao dia e foi possível perceber maior incidência de ovulações (Gráfico 1) ocorrendo entre 24-48h, já que 80,5% (99/123) das éguas utilizadas no experimento ovularam neste intervalo e apenas 7,3% (9/123) ovularam entre 0-24h, ou seja, 10,5%, 7,3% e 4,7% das éguas tratadas com 1000 UI, 1500 UI e 2000 UI respectivamente, ovularam antes de 24h após a indução hormonal.

Após a aplicação endovenosa de 1000, 1500 ou 2000 UI de hCG, o percentual de éguas que ovularam em até 48 horas resultou em 92,5% (36/39), 83,7% (35/41) e 86% (37/43), respectivamente; correspondendo a 87,8% do total de animais utilizados no experimento (Tabela 1). Não houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes grupos de éguas. Esses resultados são similares aos relatados por DAY (1939), BARBACINI et al. (2000), SAMPER et al. (2002) e por McCUE et al. (2007) que obtiveram 75-91% das éguas ovulando em até 48 horas após administração de hCG.

A idade média dos animais utilizados em cada grupo neste experimento foi  $10,4 \pm 0,97$  anos (1000 UI),  $8,6 \pm 0,77$  anos (1500 UI) e  $8,6 \pm 0,82$  anos (2000 UI). As ovulações ocorreram em até 48 horas após a aplicação do hCG em 88,7% das éguas novas, 83,8% das éguas maduras e 93,4% das éguas velhas. Após a aplicação de hCG 2,8% (2-9 anos), 5,4% (10-16 anos) e 6,7% (>16 anos) das éguas não ovularam evidenciando que não houve influência da idade na resposta a indução da ovulação

com hCG ( $P > 0,05$ ).



**Gráfico 1-** Distribuição percentual de éguas que ovularam nos diferentes intervalos de tempo após aplicação das doses de gonadotropina coriônica humana (hCG) em éguas Crioulas no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.

Embora a idade tenha influenciado na resposta ovulatória ao hCG nas pesquisas desenvolvidas por BARBACINI et al. (2000) com éguas Puro Sangue de Corrida durante o período de 1994 a 1999 e por McCUE et al. (2004), nas estações de monta de 1996 a 2002 em éguas de Salto, Quarto de Milha, Paint Horse e Árabes, nossos resultados indicam que fatores tais como a longevidade possam favorecer a resposta em éguas Crioulas, o que não aconteceu com as éguas das raças utilizadas pelos autores citados. Nesses estudos, as éguas velhas (>16 anos) não responderam adequadamente ao hormônio, havendo maior percentual de ovulações após 48h do tratamento, quando comparado aos animais mais jovens. Segundo McCUE et al. (2004), é possível que esse fato ocorra devido à exposição repetida ao hormônio com o passar dos anos.

**Tabela 1.** Indução da ovulação em éguas da raça Crioula com diferentes doses de gonadotropina coriônica humana (hCG), média e desvio padrão do diâmetro folicular no momento do tratamento e idade dos animais, no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.

<b>Dose de hCG</b>	<b>Ovulação até 48h</b>	<b>Diâmetro folicular</b>	<b>Idade</b>
(em UI)	n (%)	(mm)	(em anos)
<b>1000</b>	32/39 (92,5)	32,6 ± 0,34	10,4 ± 0,97
<b>1500</b>	35/41 (83,7)	32,9 ± 0,31	8,6 ± 0,77
<b>2000</b>	37/43 (86,0)	33,4 ± 0,26	8,6 ± 0,82

P>0,05

No presente experimento, a indução da ovulação parece não ter sido influenciada pela formação de anticorpos anti-hCG. Isso deve estar relacionado com a utilização do hCG uma única vez em cada égua durante a estação reprodutiva. Segundo VOSS et al. (1975), a formação de anticorpos pode ocorrer após o uso repetido do produto em 2 a 5 ciclos durante uma estação de monta.

Nesse experimento, as éguas foram tratadas com o hCG quando os folículos mediam de 30mm a 35mm. No grupo tratado com 1000 UI de hCG, o diâmetro médio dos folículos utilizados foi 32,6 ± 0,34; nas éguas que receberam 1500 UI foi 32,9 ± 0,31 e 33,4 ± 0,26 nas éguas tratadas com 2000 UI de hCG. Devido a uniformidade da resposta ovulatória ao tratamento com hCG em todos os três grupos pode-se dizer que, mantida a medida do diâmetro folicular no momento da indução entre 30 e 35mm, qualquer das três doses utilizadas apresentou resposta satisfatória e a pequena variação de medida do diâmetro folicular nos três grupos não teve influência na resposta ovulatória.

A fase da estação reprodutiva (Tabela 2) em que a indução da ovulação foi realizada nesse experimento também não influenciou a resposta ovulatória, ou seja, as

éguas tratadas no início da estação de monta (setembro e outubro) responderam de forma semelhante quando comparadas às éguas que receberam hCG no final da temporada reprodutiva (novembro, dezembro e janeiro).

**Tabela 2** - Distribuição mensal das ovulações após indução com gonadotropina coriônica humana (hCG), em éguas Crioulas no período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 no município de São Sepé – RS, situado na latitude 30°09'38" Sul.

Fase	Número de éguas por período de ovulação após aplicação de hCG (em horas)				Éguas não ovuladas n (%)
	0-24 n (%)	24-48 n (%)	48-72 n (%)	>72 n (%)	
<b>Início da temporada de monta (setembro-outubro)</b>	1 (2,56)	32 (82,50)	1 (2,56)	1 (2,56)	4 (10,26)
<b>Final da temporada de monta (novembro, dezembro e janeiro)</b>	9 (26,47)	66 (78,57)	5 (5,95)	3 (3,57)	1 (1,19)

P>0,05

Estes achados indicam que éguas Crioulas de diferentes idades, apresentando folículos medindo entre 30-35mm de diâmetro, podem ter a ovulação induzida com sucesso com doses de hCG iguais ou maiores que 1000 UI durante a estação reprodutiva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBACINI, S. et al. Retrospective study on the efficacy of hCG in equine artificial insemination programme using frozen semen. **Equine Veterinary Education**, v.6, n.32, p.404-408, 2000.

BERGFELT, D. R. Estrous synchronization. In: SAMPER, J.C. **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. Philadelphia: Saunders, Cap.12. p.169-170, 2000.

CHAVATTE, P.; PALMER, E. Induction of ovulation in the mare. **Equine Veterinary Education**, v.10, n.1, p.26-30, 1998.

DAY, F.T. Ovulation and the descent of the ovum in the fallopian tube of the mare after treatment with gonadotrophic hormones. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.29, p.459-469, 1939.

DE LA CORTE, F.D. et al. Descrição ecográfica do útero e dos ovários de égua virgem durante um ciclo estral. **Ciência Rural**, v.22, n.2, p.209-212, 1992.

GASTAL, E.L. et al. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. **Animal Reproduction Science**, v.94, n.1-4, p.186-190, 2006.

McCUE, P.M. et al. Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old issue. In: PROCEEDINGS OF THE 50 TH ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 2004. Denver. **Anais...** DENVER: AAEP, p.510-513, 2004.

McCUE, P.M. et al. Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.27, n.2, p.58-61, 2007.

MUMFORD E.L. et al. Use of deslorelin short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. In: **Animal Reproduction Science**, n.39, p.129-140, 1995.

PALMER, E. Induction of ovulation. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania, cap. 38. p.344-347, 1993.

ROSER, J.F. et al. The development of antibodies to human chorionic gonadotrophin following its repeated injection in the cyclic mare. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, v.27, p.173-179, 1979.

SAMPER, J.C. et al. Timing of induction in mares treated with ovuplant or chorulon. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.22, n.7, p.320-323, 2002.

SAS INSTITUTE (Cary NC). **SAS user's guide**: Statistical Analysis System, Release 8.01, 2001.

SULLIVAN, J.J. et al. Duration of estrous and ovulation time in non lactating mares given human chorionic gonadotrophin during three successive estrous periods. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.162, p.895-898, 1973.

WEBEL, S.K. et al. Fertility, ovulation and maturation of eggs in mares injected with HCG. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.51, p.337-341, 1977.

VOSS, J.L. et al. The effect of hCG on duration of oestrus, ovulation time and fertility in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35, p.557-561, 1975.

VOSS, J.L. Human chorionic gonadotropin. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania: Lea & Febinger, Cap. 35. p.325-328, 1993.

#### **4 CONCLUSÕES**

A indução da ovulação em éguas Crioulas com diâmetro folicular entre 30-35mm pode ser conduzida com sucesso com doses de 1000, 1500 ou com 2000 UI de gonadotropina coriônica humana com a vantagem de redução de custo por animal tratado com 1000 UI.

A idade da égua e o mês da estação reprodutiva não influenciaram na resposta ovulatória das éguas após a indução com a gonadotropina coriônica humana.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBACINI, S. et al. Retrospective study on the efficacy of hCG in equine artificial insemination programme using frozen semen. **Equine Veterinary Education**, Ephrata, v.6, n.32, p.404-408, 2000.

BATTUT, I. et al. Rates of success in non-surgical embryo collections at 144, 156 or 168 hours after ovulation. **Equine Veterinary Journal**, Ephrata, v.25, p.60-68, 1998.

BERGFELT, D.R. Estrous synchronization. In: SAMPER, J.C. **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. Philadelphia: Saunders, Cap.12, p.169-170, 2000.

BERGFELT, D.R.; GASTAL, E.L.; GINTHER, O.J. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. **Biology of Reproduction**, v.65, p.426-432, 2001

BLANCHARD, T.L. et al. **Manual of equine reproduction**, 2ed, St. Louis, MO: Mosby, p.25-26, 2003.

BUTTERFIELD, R.M.; MATTHEWS, R.G.; ROPHIA, R.T. Observations of the fertility of thoroughbred mares. **Australian Veterinary Journal**, v.40, p.415-417, 1964.

CHAVATTE, P.; PALMER, E. Induction of ovulation in the mare. **Equine Veterinary Education**, v.10, n.1, p.26-30, 1998.

DAVIDSON, D.F. The control of ovulation in the mare with reference to insemination with stored sperm. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.37, p.287-290, 1947.

DAY, F.T. Ovulation and the descent of the ovum in the fallopian tube of the mare after treatment with gonadotrophic hormones. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.29, p.459-469, 1939.

DE LA CORTE, F.D. et al. Descrição ecográfica do útero e dos ovários de égua virgem durante um ciclo estral. **Ciência Rural**, v.22, n.2, p.209-212, 1992.

DRIANCOURT, M.A. et al. Ovarian follicular populations in pony and saddle-type mares. **Reproduction Nutrition Development**, v.22, p.1035-1047, 1982.

DRIANCOURT, M.A.; PALMER, E. Seasonal and individual effects on ovarian and endocrine response of mares to a synchronization treatment with progestagen-impregnated I sponges. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.32, p.283-291, 1982.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Effect of number and diameter of follicles on plasma concentrations of inhibin and FSH in mares. **Reproduction**, v.121, p.897-903, 2001.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Follicular waves and circulating concentrations of gonadotropins inhibin and estradiol during the anovulatory season in mares. **Reproduction**, v.124, p.875-885, 2002.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Interactions of follicular factors and season in the regulation of circulating concentrations of gonadotrophins in mares. **Reproduction**, v.125, p.743-750, 2003.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Interrelationships of estradiol, inhibin, and gonadotropins during follicle deviation in pony mares. **Theriogenology**, v.61, p.1395-1405, 2004.

DUCHAMP, G. et al. Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35, p.221-228, 1987.

EVANS, J.W.; ROSER, J.F.; MIKUCKIS, G.M. Comparison of the interaction of equine LH and human chorionic gonadotropin to equine testicular receptors. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.32, p.113-121, 1982.

FREEMAN, D.A. et al. Time of embryo transport through the mare oviduct. **Theriogenology**, v.36, p.823-830, 1991.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammal. **Biology of**

**Reproduction**, v.50, p.225-232, 1994.

GASTAL, E.L. et al. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. **Biology of Reproduction**, v.61, p.31-39, 1999a.

GASTAL E.L. et al. Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. **Biology of Reproduction**, v.61, p.1492-1498, 1999b.

GASTAL, E.L. et al. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v.53, p.925-940, 2000.

GASTAL, E.L. et al. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. **Animal Reproduction Science**, v.94, n.1-4, p.186-190, 2006.

GINTHER, O.J. Occurrence of anoestrous, estrus, diestrus and ovulation over 12 month period in mares. **American Journal of Veterinary Research**, v.35, p.1173-1179, 1974.

GINTHER, O.J. Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos, and type of embryos fixation in mares. **Journal Equine Veterinary Science**, v.7, p.82-88, 1987.

GINTHER, O.J. **Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects**, 2ed, Wisconsin: Equiservices Publishing, 1992, p.642.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic Imaging and Reproductive Events in the Mare**. Wisconsin: Equiservices Publishing, 1986.

GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. **Journal Equine Veterinary Science**, v.9, p.4-12, 1989.

GINTHER, O.J. et al. Selection of the dominant follicle in the cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. **Biology of Reproduction**, v. 62, p.920-927, 2000.

GINTHER, O.J. et al. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.1, p.31-44, 2004.

GINTHER, O.J. et al. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares. **Biology of Reproduction**, v.73, p.315-323, 2005.

GRONDAHL, C. et al. In-vivo fertilization and initial embryogenesis in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v.15, p.79-83, 1993.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Functional anatomy of reproduction. In: **Reproduction in Farm Animals**, 7ed., p.1-68, 2000.

FREEMAN, D.A. et al. Time of embryo transport through the mare oviduct. **Theriogenology**, v.36, p.823-830, 1991.

KOLLING, M.; ALLEN, W.R. Ovulation induction for embryo transfer: hCG versus GnRH analogue. **International Equine Gametes Group Workshop II**. Rostock, Germany, 2005.

LOY, R.G.; HUGHES, J.P. The effects of human chorionic gonadotrophin on ovulation, length of estrus, and fertility in the mare. **Cornell Veterinary**, v.56, p.41-50, 1966.

McCUE, P.M. et al. Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old issue. In: PROCEEDINGS OF THE 50 TH ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 2004. Denver. **Anais...** DENVER: AAEP. p.510-513, 2004.

McCUE, P.M. et al. Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.27, n.2, p.58-61, 2007.

McDONALD, L.E. Hormones of pituitary gland. In: BOOTH, N.H., McDONALD, L.E. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. Ed. 6. Ames: Iowa State University Press, 1988, p.90.

MEDAN, M.S. et al. Plasma concentrations of ir-inhibin, inhibin A, inhibin pro- $\alpha$ C, FSH,

and estradiol-17 $\beta$  during estrous cycle in mares and their relationship with follicular growth. **Endocrine**, v.25, p.7-14, 2004.

MUMFORD E.L. et al. Use of deslorelin short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. **Animal Reproduction Science**, n.39, p.129-140, 1995.

NISHIKAWA, Y. Studies on reproduction horses. In: **Tokyo, Japan Racing Association**, 1959.

NOGUEIRA, C.E.W. **Indução da ovulação na égua com gonadotropina coriônica e prostaglandinas**. 1990. 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

PALMER, E. Control of the oestrous cycle in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.495-505, 1978.

PALMER, E. Induction of ovulation. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania: Lea & Febinger, cap.38, p.344-347, 1993.

PALMER, E.; DRIANCOURT, M. A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v13, p203-21, 1980.

PALMER, E.; JOUSSET, B. Urinary oestrogen and plasma progesterone levels in non-pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.23, p.213-221, 1975.

ROSER, J.F. et al. The development of antibodies to human chorionic gonadotrophin following its repeated injection in the cyclic mare. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, v.27, p.173-179, 1979.

SAMPER, J.C. et al. Timing of induction in mares treated with ovuplant or chorulon. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.22, n.7, p.320-323, 2002.

SAS INSTITUTE (Cary NC). **SAS user's guide**: Statistical Analysis System, Release 8.01, 2001.

SULLIVAN, J.J. et al. Duration of estrous and ovulation time in non lactating mares given human chorionic gonadotrophin during three successive estrous periods. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.162, p.895-898, 1973.

TOWNSON, D.H.; GINTHER, O.J. Size and shape changes in the preovulatory follicle in mares based on digital analysis of ultrasonic images. **Animal Reproduction Science**, v.21, p.63-71, 1989.

WEBEL, S.K. et al. Fertility, ovulation and maturation of eggs in mares injected with HCG. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.51, p.337-341, 1977.

WILSON, C.G. et al. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. **Equine Veterinary Science**, v.10, p.301-308, 1990.

WOODS, J.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Effect of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss in mares. **Equine Veterinary Journal**, v.22, p.410-415, 1990.

VOSS, J.L. et al. The effect of hCG on duration of oestrus, ovulation time and fertility in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35, p.557-561, 1975.

VOSS, J.L. Human corionic gonadotropin. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania: Lea & Febinger. Cap. 35, p.325-328, 1993.