

UFRRJ

**INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DISSERTAÇÃO

**Influência da Temperatura e Umidade ambiente em um
Programa de Transferência de Embriões Equinos, na
Baixada Fluminense - Rio de Janeiro**

Jhonnatha Paulo Oliveira

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E UMIDADE AMBIENTE EM UM
PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EQUINOS, NA
BAIXADA FLUMINENSE - RIO DE JANEIRO**

JHONNATHA PAULO OLIVEIRA

Sob a Orientação do Professor
Julio César Ferraz Jacob

e Co-orientação da professora
Vera Lúcia Teixeira de Jesus

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ
Julho de 2011

*Aos meus pais
José Carlos e Eunice
Que me alimentaram o corpo e a alma
A minha namorada
Rita de Cássia
Pela paciência e cumplicidade*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela inspiração perseverança e por permitir que estivesse aqui.

A UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, por ter me proporcionado crescimento profissional e pessoal.

Ao Professor Dr. JÚLIO CESAR FERRAZ JACOB, por me tornar o profissional que sou, pela paciência, honestidade, desprendimento, oportunidades e amizade. Obrigado mesmo!

A Professora Dra. VERA LUCIA TEIXEIRA DE JESUS, pelo carinho, preocupação e cuidados.

A Professora Dra. GLÓRIA MARIA DIREITO, pela minha iniciação na experimentação científica, amizade e carinho.

Aos professores Dr. MARCO ROBERTO BOURG MELLO, JOSÉ EUGÊNIO TRÉS, pelo coleguismo e apoio.

Ao Curso de Pós-graduação em Zootecnia e seu corpo docente, bem como o corpo docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária desta instituição pelo aprendizado e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. SÉRGIO TRABALI CAMARGO FILHO (Pesagro-Rio), pela paciência e ensinamentos;

Aos meus pais JOSÉ CARLOS OLIVEIRA e EUNICE FELICIO DE FARIA por viabilizarem meus sonhos, e meus irmãos, RICARDO, VERA, NÁDIA e LUCAS pela preocupação e orações.

A minha namorada, amiga e companheira RITA, pelo cumplicidade, paciência, e amor.

Ao Sr. AMAURI PEREIRA e Sr. MARLI PEREIRA, e seus filhos LUIZ e FABIO, por me fazerem me sentir em família.

A amiga HÉLÈNE pela amizade e ajuda.

Aos funcionários do Setor de Reprodução Animal, em especial ao Sr. “ZICO”, pela ajuda e amizade.

Aos colegas do Setor de Reprodução Animal CAROL SPITZ, MARCUS, GABRIEL, PAULA e RAQUEL.

Aos estagiários RENATO, DIOGO, MARCELA, CASSIA, CARLOS, NATALIA, SAVIO.

Aos animais, por permitir-me servi-los.

Muito Obrigado!

RESUMO

OLIVEIRA, Jhonnatha Paulo. **Influência da temperatura e umidade ambiente em um programa de transferência de embriões equinos, na Baixada Fluminense - Rio de Janeiro**. 2011. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, Produção Animal). Instituto de Zootecnia, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2011.

Este trabalho foi realizado em uma central de reprodução equina no município de Seropédica RJ. Avaliou-se o histórico reprodutivo de 60 éguas doadoras e 111 éguas receptoras em um programa de transferência de embriões durante o período de outubro a março referentes as estações de monta de 2008/2009 (E1), 2009/2010 (E2) e 2010/2011(E3). Os dados climáticos diários de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) referentes as estações de monta foram obtidos na web site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), com base nestes dados foi calculado o índice de temperatura de umidade (ITU) que mede a zona de conforto térmico animal. Com a finalidade de avaliar a relação do estresse térmico sobre a eficiência reprodutiva no programa de transferência de embriões (TE), os índices reprodutivos avaliados foram a taxa de recuperação embrionária (TR), taxa de gestação embrionária (TG), taxa de ovulação (TOV) e taxa de resposta a prostaglandina (TCIO). Após a computação dos índices reprodutivos e climáticos os dados foram confrontados para se estabelecer se há relação de altas temperaturas e umidades sobre os índices reprodutivos avaliados e para estabelecer a distribuição das taxas ao longo das estações. Os maiores valores de temperatura ambiental média foram detectados para o mês de fevereiro 27,14°C, 29,19 °C e 28,44°C para as estações (E1), (E2) e (E3) respectivamente, enquanto que os maiores índices de umidade ocorrem em outubro, novembro e março com valores de 87,89%, 87,66% e 85,76%, respectivamente nas estações E1, E2 e E3. O ITU permaneceu na zona de conforto (72 unidades), apenas nos meses de novembro em E1 e outubro em E2 e E3. Maior TR foi obtida nos meses de abril em E1 e E2 (83,3% e 66,7 %, respectivamente) e março para E3 (85,7%), houve relação negativa entre a TR e altas temperaturas ambientais especialmente no verão, maior TR a 26°C (71%) e menor TR a 27°C (51,4%) ($p < 0,05$). A TG não seguiu uma tendência mensal, as maiores TG foram observadas nos meses de outubro (75%), dezembro (69,23%) e março (88,89%) para E1, E2 e E3, respectivamente, houve relação negativa entre altas temperaturas e a TG, a maior TG foi obtida a 24°C (81,5%) e a menor TG (35%) a 27°C ($p < 0,05$). A TOV foi maior nos meses de fevereiro para E1 e E3, e novembro e março para E2 (94,4%, 94,6%, 100%, respectivamente), não houve relação entre a TOV e as variáveis climáticas ($p > 0,05$). A resposta a PGF2 α ou entrada na fase de estro teve relação positiva a com a temperatura ambiental com maior TCIO a temperatura de 26°C, umidade 95% e ITU de 78 unidades (96,4%, 95% e 90,098%, respectivamente. Conclui-se que existe relação entre a variáveis ambientais e o sucesso da TE.

Palavras chave: Clima. Éguas. Reprodução.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Jhonnatha Paulo. **Influence of temperature and humidity in a equine embryo transfer program, in the Baixada Fluminense - Rio de Janeiro.** 2011. 57f. Dissertation (Master in Animal Science, Animal production). Instituto de Zootecnia, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2011.

This work was performed in an equine reproduction center in the city of Seropédica RJ. We evaluated the reproductive history of 60 donor mares and 111 recipient mares in an embryo transfer program during the period from October to March concerning the breeding seasons of 2008/2009 (E1), 2009/2010 (E2) and 2010/2011(E3). Daily climatic data of environmental temperature ($^{\circ}$ C) and relative humidity (%) for the each breeding seasons were obtained from the web site of the National Institute of Meteorology (INMET), based on these data we calculated the temperature x humidity index (TUI) which measures the thermal comfort zone. In order to evaluate the effect of heat estresse on reproductive performance in the program of embryo transfer (ET) the measures assessed were embryo recovery rate (RR), pregnancy rate (PR), ovulation rate (OR) and rate of response to prostaglandin or input estrus phase (ER). After the computation of reproductive and climatic data, these were compared to establish relationships between high temperatures and humidity on reproductive rates and to establish the distribution of rates throughout the seasons. The highest medium values of environmental temperature were detected on February: 27.14 $^{\circ}$ C, 29.19 $^{\circ}$ C and 28.44 $^{\circ}$ C for the seasons (E1), (E2) and (E3) respectively, while the highest humidity levels occurred on October, November and March with 87.89%, 87.66% and 85.76% values, respectively at stations E1, E2 and E3 . The UTI has remained in the comfort zone (72 units), only on months October and November in E1 E2 and E3. Greater TR was obtained on April in E1 and E2 (83.3% and 66.7%, respectively) and on March to E3 (85.7%), there was a negative relationship between RR and high environmental temperatures, especially in the summer time, greater RR at 26 $^{\circ}$ C (71%) and lower RR at 27 $^{\circ}$ C (51.4%) ($p < 0.05$). Pregnancy rate did not follow a monthly trend, the highest PG was obtained on October (75%), December (69.23%) and March (88.89%) to E1, E2 and E3, respectively, there was a negative relationship between PR and high environmental temperatures, the higher PR was obtained at 24 $^{\circ}$ C (81.5%) and lowest PG (35%) at 27 $^{\circ}$ C ($p < 0.05$). Ovulation rate was higher on February to E3 and E1, to E2 higher OR was obtained on November and March (94.4%, 94.6%, 100%, respectively to E3, E1 and E2), there was no relationship between OR and climatic variables ($p > 0, 05$). Response to PGF₂ α or entry estrus phase had a positive relationship with high environmental temperature ($p < 0,05$), with higher ER at 26 $^{\circ}$ C, 95% humidity and 78 units of UTI (96.4%, 95% and 90.098%, respectively). We conclude that there are relationships between environmental variables and ET success.

Key words: Climate. Mares. Reproduction.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperatura ambiental média mensal (°C) nos meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.....	15
Tabela 2 - Umidade Relativa do ar mensal (%) nos meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.....	17
Tabela 3 - Percentual de embriões recuperados por mês a cada estação de monta, e percentual geral mensal	18
Tabela 4 - Número de embriões recuperados (coletas de embrião positivas) e coletas negativas em relação as variáveis climáticas e períodos de análise	20
Tabela 5 - Número de embriões recuperados e coletas negativos em relação a temperatura no Período da administração da PGF2 α a coleta do embrião, durante o verão.....	23
Tabela 6 - Número de embriões transferidos e taxa de prenhez em receptoras referentes as estações de monta.....	24
Tabela 7 - Número de Gestações e transferências de embriões em relação as variáveis climáticas no Período da administração da PGF2 α a ovulação, da ovulação ao diagnostico de gestação e da transferência ao diagnóstico de gestação.....	25
Tabela 8 - Número de Gestações e transferências de embriões em relação as variáveis climáticas no período da administração da PGF2 α ao diagnostico de gestação aos 15 dias do embrião	28
Tabela 9 - Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios e folículos hemorrágicos considerando as três estações de monta	30
Tabela 10 - Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios e folículos hemorrágicos considerando as três estações de monta	31
Tabela 11 - Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios em relação as variáveis climáticas	32
Tabela 12 - Número de estros responsivos a PGF2 α nas três estações de monta	33
Tabela 13 - Número de estros responsivos a PGF2 α , em relação as variáveis climáticas	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de distribuição dos períodos utilizados para avaliar a relação do clima sobre a recuperação embrionária e diagnóstico de gestação	14
Figura 2 - Variação da temperatura ambiental média mensal (°C) ao longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011	15
Figura 3 - Variação da umidade relativa do ar média mensal (%) ao longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/201	16
Figura 4 - Comportamento da variação da temperatura ambiental em relação a umidade relativa do ar longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.....	16
Figura 5 - Distribuição mensal do valores de ITU durante os meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.....	17
Figura 6 - Distribuição da TR mensal ao longo das três estações de monta e médias mensais de temperatura ambiental	19
Figura 7 - Variação da TR em relação a temperatura ambiental mensal nas 3 estações de monta.....	21
Figura 8 - Variação da TR em relação a umidade relativa do ar mensal nas 3 estações de monta.....	22
Figura 9 - Variação da TR em relação aos valores ITU mensal nas 3 estações de monta.....	22
Figura 10 - Variação da TR em relação a temperatura ambiental média no verão das três estações de monta.....	23
Figura 11 - Variação da taxa de gestação ao longo dos meses entre as estações	24
Figura 12 - Variação da TG em função da temperatura durante o verão, observe a linha de tendência de queda da TG conforme a temperatura ambiente aumentou	27
Figura 13 - Variação da TG em função do ITU no verão, observe a linha de tendência de queda da TG conforme o ITU aumentou.....	27
Figura 14 - Variação da TG em função da umidade relativa do ar no verão, sem diferença significativa entre os valores de umidade	29
Figura 15 - Variação da TG em função da temperatura durante o verão nas três estações de monta	29
Figura 16 - Variação da temperatura ambiente	30
Figura 17 - Incidência de FH em relação aos meses das estações de monta	31

Figura 18 - Taxa de resposta a $\text{PGF}_2\alpha$ em relação a temperatura ambiental..... 34

Figura 19 - Taxa de resposta a $\text{PGF}_2\alpha$ em relação a umidade relativa do ar..... 35

LISTA DE ABREVIACÕES

TE	Transferência de Embriões
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
LH	Hormônio Luteinizante
PGF2 α	ProstaclandinaF2-alfa
IGF	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina
HPA	Eixo Hipotalamico-Hipofisário-Adrenal
HPG	Eixo Hipotalamico-Hipofisário-Gonadal
TR	Taxa de Recuperação Embrionária
TG	Taxa de Gestaco
TCIO	Taxa de Resposta a prostaglandinaF2- α ou entrada na fase de estro
ITU	ndice Temperatura x Umidade
T $^{\circ}$ C	Temperatura em Graus Celsius
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
TM	Temperatura Ambiental Média
UM	Umidade Relativa do ar Média
SCF	Fatores Células Tronco
KL	Kit Ligante
CRH	Hormônio Liberador de Corticotropina
RNAm	cido Ribonucleico mensageiro
IETS	International Embryo Transfer Society
FH	Folículo Hemorrágico
TOV	Taxa de Ovulação
ACTH	Hormônio Adenocorticotrfico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Ciclo Estral	2
2.2 Foliculogênese	2
2.3 Dinâmica Folicular	3
2.4 Transferência de Embrião em Equinos	4
2.5 Clima e Reprodução	5
2.6 Termorregulação	5
2.7 Estresse Térmico	6
2.8 Efeitos do Estresse Térmico na Reprodução	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Local e Período de Execução.....	10
3.2 Animais e Manejo.....	10
3.3 Palpação e Ultra-Sonografia Transretal	10
3.4 Monta Natural e Inseminação Artificial	10
3.5. Colheita, Manipulação e Transferência dos Embriões	11
3.5.1 Colheita de embriões	11
3.5.2 Manipulação e avaliação do embrião	11
3.5.3 Inovulação	11
3.6 Diagnóstico de Gestação	12
3.7 Dados Climatológicos.....	12
3.8 Índices Reprodutivos	13
3.9 Relação dos Índices Climáticos x Índices Reprodutivos	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1 Variáveis Climáticas	15
4.2 Taxa de Recuperação Embrionária	18
4.3 Taxa de Gestação	24
4.4 Taxa de Ovulação	30
4.5 Resposta a Prostaglandina	33
5 CONCLUSÕES	36
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

A espécie equina foi considerada por muito tempo como a de menor fertilidade entre as espécies domésticas, o que foi atribuído a características de seleção e problemas relacionados ao manejo reprodutivo (GINTHER, 1992). O desenvolvimento de novas técnicas reprodutivas possibilitou o melhor aproveitamento dos animais, tornando possível acelerar o aprimoramento das raças e seus cruzamentos, sendo a transferência de embrião (TE) a ferramenta mais promissora para essa finalidade. Muitos fatores podem afetar o sucesso da TE entre eles fatores ambientais como o clima. Estudos sobre a influência do clima sobre a reprodução equina estão relacionados principalmente ao fotoperíodo. Porém, existem poucos relatos sobre os fatores estressores do clima interferindo na reprodução equina. Embora não se conheça o real efeito dos estresse climático sobre a reprodução equina, nas reuniões científicas e cursos de aperfeiçoamento, a queixa e os questionamentos sobre a queda dos índices reprodutivos na TE são comuns entre os veterinários de campo, e se repetem anualmente durante os períodos de maior calor da estação de monta. Assim, mesmo de forma empírica especula-se que um aumento na temperatura e umidade ambiental durante o verão pode levar a redução no sucesso da transferência de embriões em equinos, possivelmente devido ao estresse térmico causado pela associação entre temperatura e/ou umidade elevadas, já que normalmente os fatores nutricionais e sanitários não se modificam ao longo da estação de monta num mesmo haras. Esse estresse pode levar a alterações endócrinas que interferem no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal em seus três níveis e das incursões de seus hormônios sobre o útero, levando a queda ou insucesso reprodutivo. Assim, objetivou-se avaliar a possível interferência de altas temperaturas e umidade sobre os índices reprodutivos obtidos num programa de transferência de embriões, em clima tropical, através da análise da relação entre taxa de fixação e recuperação embrionária e como estas variam frente aos valores de temperatura e umidade ao longo das estações principalmente no verão, bem como a taxa de ovulação e entrada na fase de estro e sua relação com os índices climáticos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ciclo Estral

Éguas são poliéstricas sazonais, cujos ciclos estrais duram em média 21 a 22 dias (HUGHES et al., 1972; SHARP, 1980; JACOB et al., 2009). Durante o estro a égua apresenta-se receptiva ao garanhão devido ao predomínio do estrógeno (CLAYTON et al., 1981), cuja fonte são as células da granulosa dos folículos ovarianos. Esta fase compreende em média sete dias (PIERSON & GINTHER, 1985). A fase seguinte, denominada fase lútea ou diestro, possui um período de 14 a 15 dias. Caracteriza-se pela presença de um corpo lúteo, após uma ovulação (BACK et al., 1974). Este evento ocorre, na maioria das vezes, antes do término do estro, e culmina com a liberação do ovócito e sua captação pela tuba uterina (PIERSON & GINTHER, 1985).

No diestro ocorre a produção de progesterona pelo corpo lúteo e, mesmo que haja folículos em desenvolvimento secretando estrógeno, há o predomínio deste progestágeno, o qual imprime suas características sobre o trato reprodutivo feminino e o comportamento da égua de rejeição ao garanhão (BACK et al., 1974).

2.2 Foliculogênese

Os folículos primordiais, primários e secundários são referidos como folículos pré-antrais (PIERSON & GINTHER, 1987). O desenvolvimento desse grupo de folículos pode ser dividido em três estágios: ativação dos folículos primordiais, transição de folículo primário para secundário e desenvolvimento dos folículos secundários até o estágio pré-antral (FORTUNE, 2003).

As gonadotrofinas (LH e FSH), possuem sua secreção, síntese e liberação controladas pelo hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (GINTHER & BERGFELT, 1992). Estudos indicam que o desenvolvimento folicular pré-antral independe do estímulo gonadotrófico agudo, e que mecanismos parácrinos de controle desempenham importante papel nesta fase (GONG et al., 1996). Uma elevação na concentração plasmática de FSH é um estímulo necessário para o recrutamento folicular e a emergência da onda folicular (ADAMS et al., 1992; FORTUNE, 1994).

Os efeitos do LH durante a fase pré-antral ainda são pouco conhecidos. Ao que parece, a ação do LH é essencial em folículos antrais na seleção, maturação final do ovócito, ovulação e luteinização (HYTTEL et al., 1991; 1997).

Vários peptídeos intra-ovarianos têm sido apontados como importantes reguladores do desenvolvimento folicular na fase pré-antral e início da fase antral, dentre eles: ativina e inibina, fatores de crescimento epidérmicos, fibroblásticos, semelhantes a insulina (IGF) e transformantes- β , fatores de células tronco (SCF ou kit-ligante: KL) e a proteína morfogenética óssea-15 (MIHNM et al., 2000; JUENGEL et al., 2004).

Em equinos, a concentração de IGF-1 é maior no futuro folículo dominante e sua presença estimula a produção de estradiol (GINTHER et al., 2004 a).

Os esteróides atuam de forma positiva no desenvolvimento folicular pré-antral, incluindo ação em folículos primários. A presença de estrógeno está relacionada ao crescimento das células da granulosa em tamanho, atuando em sinergismo com o FSH, que estimula a replicação destas células (HULSHOF et al., 1995).

Em éguas, os folículos ovarianos desenvolvem um antro quando atingem diâmetro de 300 μ m (0,3 mm), o qual é preenchido por um fluido viscoso composto por hormônios esteróides, principalmente estrógeno, progesterona e inibina. Concomitantemente, há a formação de uma bainha de células ao redor da granulosa, denominada de células da teca. Os

folículos pré antrais adquirem receptores para LH nas células da teca e para FSH nas células da granulosa. Sob o estímulo do LH, as células da teca produzem androgênios, que ultrapassam a lâmina basal até chegarem ao antro. Os eventos supracitados marcam a transição de folículo secundário para terciário, o qual iniciará novo desenvolvimento até ser eleito à ovulação (HAFEZ & HAFEZ, 2000).

2.3 Dinâmica Folicular

Na espécie eqüina, o desenvolvimento folicular ocorre em ondas (SIRIOS et al., 1989; BERGFELT & GINTHER, 1993). Cada onda folicular é caracterizada pela presença de um folículo dominante e diversos folículos subordinados. Estima-se que 99% dos folículos sofrem atresia (WEBB et al., 1999).

A maioria das éguas apresenta uma onda maior a qual emerge durante a metade tardia do diestro quando ocorre aumento transitório na população folicular e se origina o folículo ovulatório (GINTHER, 1994; GINTHER et al. 2004a). Ginther (1995), verificou nesta fase, um aumento na população folicular (> 10mm), seguido sete a oito dias depois pelo contínuo crescimento do maior folículo e na redução (ou estagnação) do crescimento nos demais folículos.

Dá-se o nome de onda primária àquela que induz a ovulação primária (no estro). Quando da ocorrência de outra onda, durante o final do estro ou início do diestro, esta é denominada de onda secundária (GINTHER & BERGFELT, 1992). Durante a onda secundária, pode ocorrer o surgimento de um folículo dominante anovulatório (>20mm) ou uma ovulação de diestro (GINTHER, 2000).

Na maioria das ondas, há um crescimento simultâneo entre os dois maiores folículos que cessa quando o folículo destinado a ovular e se tornar dominante chega a 22,5 mm de diâmetro, cerca de seis dias após a emergência (GASTAL et al., 1997). O futuro folículo dominante cresce até o tamanho pré-ovulatório (≥ 30 mm de diâmetro), enquanto o maior folículo subordinado, o qual mede por volta de 19 mm de diâmetro, inicia sua regressão.

Em éguas que ciclam normalmente, há duas ondas de FSH: a primeira, durante ou logo após a ovulação e a segunda, no meio do diestro, passados dez dias (HANDLER & AURICH, 2005). O futuro folículo dominante é apto a utilizar baixas concentrações de FSH para seu crescimento e desenvolvimento, devido a um aumento na expressão de receptores para este hormônio (WEBB et al., 1999). O início da divergência ocorre quando há um decréscimo desta gonadotrofina durante o diestro (ADAMS et al., 1992)

Desde o pico da onda de FSH até o início da divergência, todos os folículos contribuem para o decréscimo de FSH. De acordo com Donadeu & Ginther (2001), isto ocorre pelo *feedback* negativo exercido pela inibina e estrógeno, ambos de origem folicular, sobre o FSH. Estudos demonstram que o estradiol obtido do fluido folicular é capaz de suprimir as concentrações de FSH circulantes (BERGFELT & GINTHER, 1986).

A principal fonte de inibina é o folículo dominante, e seu efeito depressor sobre as concentrações de FSH é necessário para a inibição do crescimento e atresia dos folículos subordinados (SQUIRES & SEIDEL, 1995a; MCCUE, 1996, DONADEU & GINTHER, 2001).

As concentrações circulantes de estrógeno na égua atingem seus valores máximos dois dias antes da ovulação ou três dias antes do pico de LH (GINTHER et al., 2004). Suas concentrações começam a aumentar 1 a 2 dias antes do início da divergência folicular (GASTAL et al., 2000), atingindo o pico dias antes da ovulação, quando o folículo pré-ovulatório mede aproximadamente 35mm (GINTHER et al., 2004b).

A elevação passageira de LH plasmático ocorre durante a divergência, iniciando-se a um ou dois dias antes da sua ocorrência, como parte da onda ovulatória de LH (GASTAL et

al., 1997; 2000; BERGFELT et al., 2001). Esta onda é prolongada na espécie equina: ocorre no início do estro, seis a sete dias antes da ovulação, alcançando o pico um a dois dias após a sua ocorrência (GESCHWIND et al., 1975).

2.4 Transferência de Embrião em Equinos

Esta biotécnica tem sido utilizada como uma gestão de procedimentos para a produção de múltiplos potros por égua durante o ano, o melhor aproveitamento de éguas que possuam alto valor zootécnico ou que estejam em atividade esportiva (HURTGEN, 2008; ARRUDA et al., 2001; DAELS, 2007). Ainda, é capaz de gerar potros de éguas subfêrteis por problemas adquiridos, as quais ficam impedidas de exercer uma gestação a termo devido a uma variedade de razões, tais como idade, infecção uterina crônica e danos cervicais. Algumas razões incomuns para usar a transferência de embriões (TE) para preservar a égua da gestação podem incluir a laminite crônica, severa artrite, cólicas não resolvidas ou problemas comportamentais da fêmea para os tratadores, outros cavalos ou ao potro da mesma (HURTGEN, 2008).

A TE em equinos pode ser realizada pela técnica cirúrgica, por incisão ao flanco, ou pela técnica não cirúrgica por via cervical. Historicamente, a primeira apresentava os resultados mais consistentes, com taxas de prenhez que variavam entre 70% a 75% uma semana após a transferência (SQUIRES et al., 1999). Com o advento de novos estudos com resultados positivos, a metodologia atualmente utilizada é a transferência não cirúrgica coberta, associada a avaliação e seleção da égua receptora (FLEURY et al., 2007). Esta técnica é muito menos invasiva, rápida e de alto percentual de prenhez, na qual consiste em depositar o embrião no corpo do útero com o uso de uma pipeta de inseminação que atravessa a cérvix (LIRA et al., 2009).

Embriões equinos são seletivamente transportados da tuba uterina para o útero entre os dias 5 e 6 após ovulação, na fase de mórula compacta para desenvolvimento inicial de blastocisto. Embora embriões possam ser recuperados nos dias 6 a 9, o período ideal para sua colheita é nos dias 7 ou 8 após a fertilização (SQUIRES & SEIDEL, 1995b).

Os procedimentos para a recuperação embrionária têm permanecido inalterados durante as últimas duas décadas. Normalmente um cateter tipo Foley é inserido através da cérvix, e o cuff inflado com ar. O cateter é recuado contra o ostio interno da cérvix, e um a dois litros de meio é infundido ao útero. Este fluido é então drenado do útero da égua passando através de um copo com filtro. Este procedimento se repete ao menos 3 vezes. Os embriões são então, identificados e graduados. Na maioria das vezes os embriões são transferidos de forma não cirúrgica para receptoras sincronizadas, sendo colocados em palhetas de 0,25 ou 0,5 mL e inseridos no corpo do útero utilizando-se do inovulador ou alternativamente com pipetas de inseminação revestida por uma camisinha de proteção (SQUIRES et al., 2003).

Fatores ligados à técnica de colheita, idade do embrião (dia da colheita), tamanho do embrião, idade do corpo lúteo da receptora, bem como o método de transferência, interferem nos índices de recuperação embrionária e de prenhez (FLEURY et al., 2001). Maior taxa de recuperação foi obtida na primeira fração da colheita (IMEL et al., 1981; FLEURY et al., 2001). As maiores taxas de recuperação são encontradas nos dias 7, 8, 9 e 10 após a ovulação (61%, 66%, 59% e 56%) sem diferença estatística, e menores taxas para o dia 6 (42%) (JACOB et al., 2010). O diâmetro médio do embrião, nos dias 7 e 8 após a ovulação da doadora, foi de $0,488 \pm 0,003$ e $1,368 \pm 0,015$ mm. Poucas gestações foram obtidas quando os embriões apresentaram diâmetros menores que 0,467 e maiores que 1,150 mm, após transferência transcervical (IULIANO et al., 1983). O grau de sincronia entre receptora e doadora, traduzido pela idade do corpo lúteo da receptora, aparentemente não é tão crítico

(IMEL et al., 1981), apresentando taxas de fixação de 71%, 77%, 68%, 63%, 66%, 76% e 61% para um grau de sincronia -1, 0, +1, +2, +3, +4 e +5, respectivamente (JACOB et al., 2010). A taxa de gestação após a transferência de embriões pela técnica não-cirúrgica apresenta resultados ruins (0%), como os de Oguri & Tsutsumi (1972) e bons (77%), como os de Wilson et al. (1987). Farinasso e Guimarães (1992), trabalhando com animais das raças Quarto de Milha e Paint Horse, transferiram embriões pela técnica transcervical obtendo 68,7% de taxa de prenhez.

Em um programa de TE a taxa de prenhez é influenciada por uma variabilidade de fatores como o método de transferência (SQUIRES et al., 1999; JASKO, 2002), o técnico (CARNEVALE et al., 2000; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), o tamanho, a idade e a morfologia do embrião (CARNEVALE et al., 2000; SQUIRES et al., 2003), a nutrição (SQUIRES et al., 1999; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), a sincronização entre doadoras e receptoras (JACOB et al., 2002; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), os procedimentos de cultivo e armazenagem de embriões (SQUIRES et al., 2003), a idade e história reprodutiva de doadoras e receptoras de embriões (SQUIRES et al., 2003; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), o método e intervalo de detecção da prenhez (McKINNON et al., 1988), o grupo de animais em estudo (CARNEVALE et al., 2000; TAVEIROS et al., 2000; ALONSO, 2005) e o clima (BALL, 1993).

2.5 Clima e Reprodução

Os estudos sobre a influência do clima sobre a reprodução equina, em sua maioria se baseiam no efeito da sazonalidade principalmente em relação ao fotoperíodo, pois éguas são poliéstricos sazonais apresentando cio regular durante os períodos mais quentes e de maior luminosidade (GINTHER, 1974). A atividade reprodutiva dos equinos depende principalmente da luminosidade diária, que exerce seus efeitos mais significativos quanto mais distante estiverem os animais da linha do equador, quando se intensifica a estacionalidade reprodutiva (GINTHER, 1992). Já na década de 50 verificou-se que diferentes períodos ou fases dentro da mesma estação de monta poderiam influenciar a fertilidade do rebanho, possivelmente em função da duração do cio das éguas. Assim, Trum (1950) verificou menor frequência de estros e menor fertilidade à medida que avançava a estação, e Quinlan et al. (1951) observaram melhor fertilidade em novembro, numa estação de monta que começava em agosto. Na Austrália, Osborne (1968) verificou maior fertilidade em janeiro e fevereiro, época com maior percentual de ovulações na estação de monta. No Brasil, Moreira (1983) verificou que o dia da ovulação e o tamanho do folículo à ovulação variavam com o decorrer da estação de monta. A ocorrência de perdas embrionárias em éguas foi avaliada por Moberg (1968) durante seis estações de monta. Ela foi maior em cobrições ocorridas no início da estação. Segundo o autor, esse fato pode ocorrer devido à influência da luminosidade e da temperatura sobre a sobrevivência embrionária.

2.6 Termorregulação

Existem quatro mecanismos primários de transferência de calor: radiação, convecção, condução e evaporação. A radiação é um mecanismo de transferência de calor entre corpos sem contato físico. O balanço da energia térmica absorvida ou perdida pelo cavalo resultará da quantidade de radiação recebida do ambiente, e da emitida pelo corpo, incluindo aquela produzida pelo metabolismo. (McConachy, 1994). A convecção é um mecanismo de troca de calor entre fluidos, como o ar em movimento sobre a superfície de um corpo, uma boa via termolítica, enquanto a temperatura do ar envolvendo o animal for inferior a temperatura de sua pele. Sob temperaturas iguais ou superiores, este mecanismo de perda de calor fica

prejudicado. A troca de calor entre superfícies em contato direto é feita através da condução e as trocas de energia entre corpos dependerá da diferença de temperatura entre eles (McConachy, 1994). A evaporação é o principal mecanismo de perda de calor nos eqüinos em ambientes quentes, através da sudação e do ofego (TITO et al., 1998). A quantidade calor dissipada por esta via dependerá da taxa de sudação e da umidade relativa do ar, portanto este mecanismo será mais eficiente quanto mais moderada for a sudação e menor a umidade relativa do ar, pelo contrário, fica completamente bloqueado com o ar saturado de umidade (GUTHRIE & LUND, 1998). As perdas calóricas atribuíveis a sudação variam de 70 a 85%, a porcentagem restante é atribuída ao sistema respiratório, mediante o ofego, e uma pequena parte a perspiração, que é a passagem do vapor de água através da pele sem passar pela glândula sudorípara (McConachy, 1994).

2.7 Estresse Térmico

O estresse térmico é definido como o resultado da inabilidade do animal em dissipar calor suficientemente para manter a sua homeotermia (WEST, 1999).

Para terem produtividade, os animais dependem de uma faixa de temperatura adequada, denominada zona de conforto térmico, para manter a homeotermia, (CURTIS, 1983). A zona de termoneutralidade define limites de temperatura. Acima da temperatura crítica superior, o animal entra em estresse pela temperatura elevada e abaixo da temperatura crítica inferior sofrem estresse pelo frio. A partir desse ponto infere-se que o animal está sob estresse climático, podendo incluir temperatura e umidade relativa do ar, velocidade do vento e intensidade da radiação solar (LU, 1989; MARAI et al., 2007). O ambiente em que o equino está em conforto térmico depende da sua capacidade em manter o balanço termal, que por sua vez, está relacionado às características térmicas e seus mecanismos fisiológicos regulatórios em relação ao ambiente físico. Com isto, a zona de conforto térmico é definida como sendo a temperatura do ar ambiente na qual a taxa metabólica é constante, vai de 5°C a 25°C (MORGAN, 1996).

Segundo SILVA (2005), as variáveis ambientais são fatores estressantes que agem sobre o organismo como um todo, levando-o a reagir de alguma forma, e os resultados dessa reação podem ser avaliados por meio do comportamento de variáveis fisiológicas que, em conjunto, dão a medida da tensão a que o animal está submetido.

Comparado aos humanos, os cavalos possuem uma desvantagem física na dissipação de calor, devido a uma proporção aproximadamente cinco vezes menor de superfície de pele em relação a massa muscular contrátil, resultando em uma significativa redução da área evaporativa e conseqüentemente em maiores taxas de armazenamento de calor. Este fator contribui para uma rápida elevação da temperatura interna a patamares críticos quando em exercício (LINDINGER et al., 2000). O calor é transferido a partir dos músculos para os tecidos vizinhos por condução e por fluxo conectivo do sangue e da linfa (LINDINGER, et al., 1999).

Ainda em condições climáticas moderadas ou frias, o alto ritmo de produção metabólica de calor combinado com fatores físicos de perdas de calor por convecção e evaporação resulta em uma elevação da temperatura central de 2,5 - 3,5 °C antes de 30 minutos de exercício (MCCUTCHEON & GEOR, 2000).

Com relação à adaptabilidade de eqüinos a novos ambientes, esta tem sido avaliada pela habilidade, do animal, de ajustar-se às condições ambientais médias (PALUDO et al., 2002). FOREMAM & FERLAZZO (1996) destacam o transporte, o exercício, a laminite, além de mudanças de temperatura e umidade ambiente, como fatores mais estressantes para os eqüinos.

O Índice Temperatura Umidade (ITU) é uma mensuração do conforto térmico usado para caracterizar ou quantificar zonas termoneutras, foi proposto como uma ferramenta para estimar o estresse térmico em animais de produção (HAHN et al., 1959). O ITU inclui fatores relacionados a temperatura ambiente e o estresse causado pelo ambiente (JOHNSON et al. 1976). Usando esta mensuração, um valor ITU entre 72 unidades pode ser aceito como indicativo de estresse térmico em animais (JOHNSON et al. 1976), entretanto o $ITU \leq 74$ indica ambiente seguro, entre 74 e 78 desconforto, entre 79 a 84 alerta e ≥ 85 emergência. O ITU pode variar ao longo do dia em função das variações da temperatura e umidade diária, atingindo maiores valores entre 12 e 18 horas e pico as 13 horas nos equinos (RIBEIRO *et al.*, 2009).

2.8 Efeitos do Estresse Térmico na Reprodução

Temperatura e umidade ambiente altas, a tempo são conhecidas por causar influência negativa sobre o sucesso reprodutivo em animais domésticos em países tropicais e subtropicais (JU, 2005). Entretanto poucos os estudos sobre o estresse térmico ambiental em equinos são escassos ou ausentes. Pesquisas em outras espécies animais que não os equinos, mostram que períodos de alta temperatura e umidade causam estresse térmico e estes efeitos negativos na performance reprodutiva. Nas fêmeas mamíferas, a consequência mais óbvia é a probabilidade de redução de gestação. O estresse térmico tem demonstrado alterar o status endócrino, o mecanismo de luteólise, o desenvolvimento embrionário inicial e o crescimento fetal (JORDAN, 2003).

Rivier & Rivest (1991) relatam que o estresse é acompanhado por um acréscimo na atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA) e um decréscimo na função reprodutiva e tem sugerido que haja uma possível relação entre os hormônios do HPA e os do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HPG). De fato, o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e os corticosteróides da adrenal iniciam um importante papel na modulação do efeito do estresse na função reprodutiva (RIVIER & RIVEST, 1991). Os hormônios relacionados ao estresse podem influenciar a função sexual em três níveis do eixo HPG: no hipotálamo, por meio do CRH onde este inibe a secreção de GnRH, na hipófise, diminuindo a liberação de LH e FSH que são estimulados pelo GnRH e, nas gônadas alterando o efeito estimulatório das gonadotrofinas (RIVIER & RIVEST, 1991; PEREIRA, 2005). Com a diminuição da liberação das gonadotrofinas (LH e FSH), a produção de estrógenos também será afetada. Isto está possivelmente relacionado ao fato de afetar a capacidade esteroidogênica dos folículos e da dinâmica folicular ovariana, alterando a expressão do RNAm de receptores de colesterol em células ovarianas, bem como, as concentrações de colesterol e ácidos graxos no fluido folicular ovariano de folículos de vários tamanhos (ARGOV et al., 2005). Acarretando em transtornos reprodutivos tais como: falhas na detecção do estro ocasionado pela presença de estro silencioso, ou seja, ausência dos sinais comportamentais que auxiliam na sua identificação, falhas no desenvolvimento e qualidade do oócito, na fertilização e implantação do embrião devido a não preparação do útero e formação de um corpo lúteo de má qualidade (De RENSIS & SCARAMUZZI, 2003). Além disso, pode ainda levar a fêmea a uma condição de anestro ou ninfomania em vacas (GRUNERT et al., 2005).

Em vacas estes fenômenos são bem conhecidos e muitas vezes são refletidos na falha do animal em executar o seu potencial genético, inclusive subfertilidade (DOBSON & SMITH, 2000; BARTOLOMEU et al., 2005). Durante o período de crescimento folicular, o estresse calórico pode comprometer o oócito, devido a ações diretas na elevação da sua temperatura ou, devido a alterações na função folicular que comprometem a sua qualidade. Altera também a dinâmica folicular afetando folículos no início do estágio antral do desenvolvimento, causando prejuízo no folículo subsequente (GUZELOGLU et al., 2001), na

função e redução da dominância do folículo selecionado (HANSEN & ARÉCHIGA, 1999), que pode ser visto por uma redução da capacidade esteroidogênica das células da teca e da granulosa e conseqüentemente, uma queda da concentração sanguínea de estradiol (De RENSIS & SCARAMUZZI, 2003), além do comprometimento dos mecanismos luteolíticos (WILSON et al., 1998) que são dependentes do estrógeno. GUZELOGLU et al., (2001) verificaram que as concentrações de estradiol no fluido folicular diminuíram de 1662 ng/ml para 1493 ng/ml em vacas sob condições de estresse térmico. O mesmo não foi observado com as concentrações de progesterona que aumentaram de 44,7 ng/ml na situação controle (sem estresse térmico) para 54,1ng/ml na condição de estresse calórico. Os níveis de progesterona no plasma podem ser aumentados ou diminuídos dependendo se o estresse térmico é agudo ou crônico, e do estado metabólico do animal. Estas mudanças endócrinas reduzem a atividade folicular e alteram o mecanismo ovulatório, levando ao decréscimo na qualidade do oócito e do embrião além de ser responsável pela manutenção da gestação (HANSEN, 2005). O ambiente uterino também é modificado, reduzindo a probabilidade da implantação do embrião em vacas (De RENSIS & SCARAMUZZI, 2003).

Essas alterações hormonais causam problemas reprodutivos como puberdade tardia, ciclo estral irregular, cistos ovarianos, baixa taxa de ovulação, anestro e mortalidade embrionária devido ao comprometimento da competência do oócito e inibição do desenvolvimento embrionário (HANSEN, et al., 2001).

Ainda em vacas, no período quente ocorre uma redução no apetite e no consumo de matéria seca (De RENSIS & SCARAMUZZI, 2003) e desta maneira prolonga o período pós-parto de balanço energético negativo, resultando em uma expressão insatisfatória dos sinais de estro e causando infertilidade (HANSEN, 2005), aumentando assim o intervalo parto-concepção, particularmente de vacas de alta produção de leite. Em um estudo GARCÍA-ISPIERTO et al., (2006), trabalhando com rebanho de vacas holandesas, correlacionaram às perdas gestacionais com o índice de temperatura e umidade (ITU), e verificaram que com o aumento do ITU a partir de 65 já ocorre aumento também significativo de perdas de prenhez de 8% passando para 12% quanto este índice ultrapassa o valor de 69. Verificaram também, um maior percentual de prenhez (55,5%) no período frio se comparado com o período quente (44,5%), conseqüentemente as perdas gestacionais no período frio foram menores (2,1%) quando comparada com o período mais quente (12,3%). A perda embrionária associada com estresse calórico materno é uma das maiores causas para o decréscimo na fertilidade (AMBROSE et al., 1999).

A disfunção do desenvolvimento embrionário inicial resulta de suas próprias ações ou no ambiente do oviduto ou do útero no qual o embrião reside (HANSEN & ARÉCHIGA, 1999). A elevada temperatura que um embrião está exposto leva-o a tornar-se hipertérmico podendo levá-lo à morte (HANSEN & ARÉCHIGA, 1999). O efeito deletério no desenvolvimento embrionário depende do dia relativo à ovulação que as vacas são submetidas ao estresse térmico. Em vacas leiteiras, o estresse térmico durante os primeiros 7 dias de desenvolvimento embrionário tem sido reportado aumentar a incidência de embriões de menor qualidade e com retardo no desenvolvimento e assim de baixa qualidade (PUTNEY, 1988; JORDAN, 2003). A incidência de oócitos não fertilizados também aumentou significativamente em vacas estressadas (MONTY & RACOWSKY, 1987).

Deste modo, estresse térmico no dia após a concepção pode impedir o desenvolvimento de embriões neste período até 7 dias após concepção levando a uma menor taxa de sobrevivência embrionária (HANSEN, 2005). Em bovinos, tem sido relatado que o estresse térmico pode influenciar a habilidade do endométrio em produzir e secretar prostaglandina, o que pode levar a luteólise prematura e perda embrionária. Maiores perdas embrionárias devido a morte embrionária precoce ocorre antes dos 42 dias em vacas sob estresse térmico (DE RENSIS & SCARAMUZZI, 2003). Isto pode ser confirmado por RYAN

et al., (1993) que encontraram decréscimos na viabilidade embrionária de 59% no dia 7 após inseminação para 27% no dia 14 pós-inseminação em clima quente. Além disso, reduz a produção de embrião devido a aspectos fisiológicos e celulares de função reprodutiva que são interrompidos por cada aumento na temperatura corporal causado por estresse térmico (HANSEN et al., 2001)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Período de Execução

O experimento foi realizado a partir do histórico reprodutivo de éguas alojadas em uma Central de Reprodução Equina, em Itaguaí, Rio de Janeiro, e haras comerciais assistidas pelo mesmo Centro de Reprodução, em Seropédica, Rio de Janeiro com distancia média de 20 quilômetros entre os haras. Foram analisados dados reprodutivos referentes a três estações de monta consecutivas, 2008/2009 (Estação 1), 2009/2010 (Estação 2) e 2010/2011 (Estação 3), considerando o período de outubro a abril de cada estação de monta.

3.2 Animais e Manejo

Foi utilizado o histórico reprodutivo de 60 éguas doadoras em idade variando de 3 a 18 anos e 111 éguas receptoras com idade variando entre 3 e 14 anos, todas éguas da raça Mangalarga Marchador. As doadoras foram mantidas em piquetes de *Cynodon spp* - croast-cross, com água e sal mineral *ad libitum*, e 4 Kg de ração comercial (12-13% de proteína bruta) divididas em 2 tratos diários, salvo aquelas em preparo para competições mantidas em baias de alvenaria recebendo feno de alfafa como volumoso, ração 2 vezes ao dia, água e sal mineral *ad libitum*. As receptoras foram mantidas a pasto formado por gramíneas, recebendo um trato diário de 2 Kg de ração comercial (12-13% de proteína bruta), água e sal mineral *ad libitum*.

3.3 Ultra-Sonografia Transretal

O exame ultrassonográfico transretal em tempo foi realizado utilizando-se aparelho de ultrassom Medison, modelo SonoVet 2000, de transdutor linear e emissão de onda de 5,0 Mhz, a cada 2 dias a partir da detecção da divergência folicular estimada (presença de Folículos com diâmetro ≥ 25 mm) e diariamente após a detecção do folículo pré-ovulatório estimado (≥ 35 mm) até a detecção da ovulação com a observação do corpo lúteo (massa ecogênica esférica no ovário). Os folículos foram mensurados pela média aritmética dos diâmetros da largura e altura do mesmo, e as informações registradas por escrito em fichas de controle individual.

A ecotextura uterina (edema uterino) foi determinada utilizando-se o sistema de escore de 1 a 4 (mínimo a máximo, incluído frações como 1,5, 2,5 e 3.5), baseando-se na extensão do edema (áreas anecóicas vistas a ultrassonografia) e pregas uterinas (GINTHER, 1995). A saber: edema 1: superfície uterina homogênea com ausência de áreas anecóicas e pregas endometriais indefinidas; edema 2: útero com aparência heterogênea, mas com pregas endometriais ainda indefinidas; edema 3: marcado aumento na anecoigenicidade e início do aparecimento das pregas endometriais; edema 4: marcada aparência heterogênea devido ao fluido das pregas endometriais caracterizada por áreas fortemente anecóicas.

3.4 Monta Natural e Inseminação Artificial

As doadoras foram cobertas ou inseminadas a cada 48 horas a partir da detecção do folículo pré-ovulatório (≥ 35 mm de diâmetro) até a ovulação, ou 24 horas após a indução da ovulação com 1000 UI de hCG. Para a realização da inseminação artificial as éguas foram devidamente contidas em tronco de contenção e tiveram regiões da vulva e períneo higienizados. O sêmen foi aspirado em seringa de 20 mL e acoplada a pipeta de inseminação e depositado no corpo uterino.

Na monta natural foram utilizados apenas garanhões de fertilidade comprovada.

Para a inseminação artificial utilizou-se sêmen fresco ou refrigerado a 5 °C, diluído em extensor a base de leite, em ambos casos (fresco ou refrigerado) com dose inseminante mínima de 150.10^6 espermatozóides viáveis por mililitro de sêmen, e volume inseminante mínimo de 10 mL e máximo de 30 mL.

3.5 Coleta, Manipulação e Transferência dos Embriões

3.5.1 Coleta de embriões

A colheita de embrião foi realizada entre os dias 7, 8 ou 9 após a ovulação da doadora utilizando-se a lavagem uterina transcervical inserindo-se um cateter de silicone com balão (VEUF-80, Bivona, Inc., Gary, IN 46406) com diâmetro de 8,0 mm no corpo do útero, o órgão foi lavado três ou quatro vezes com solução de Ringer Lactato (ALVARENGA et al., 1992). O útero foi infundido com 1 litro em cada lavado, realizando-se este procedimento em média 3 vezes (DAELS, 2007). A sonda ou cateter foi acoplada ao circuito, sendo o fluido recuperado em fluxo de recuperação interrompido com utilização de filtro milipore. Após o término do procedimento foi administrado uma dose de 5 mg Dinoprost trometamina (Lutalyse®).

3.5.2 Manipulação e avaliação do embrião

O rastreamento do embrião foi realizado em placa de petri (90 x 100mm) com auxílio de um microscópio estereoscópico sob aumento de 10X e a classificação embrionária foi realizada utilizando-se aumento de 40X. Uma vez localizado, o embrião foi removido por aspiração com o auxílio de uma palheta de 0,5 ou 0,25 mL, acoplada a uma seringa de insulina, e transferido para uma placa de petri (35 x 10 mm), contendo o meio de manutenção TQC® ou Encare®.

A classificação foi feita conforme recomendações da IETS (International Embryo Transfer Society), descritas por McKinnon & Squires (1988). Atribuiu-se um escore de 1 a 5, avaliando-se quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade de zona pelúcida em *Grau 1 Excelente* - Ideais, esféricos, com tamanho, cor e textura uniformes; *Grau 2 Bom* - Pequenas imperfeições com poucos blastômeros extrusos, forma irregular ou separação de trofoblasto; *Grau 3 Razoável* - Problemas não muito severos de blastômeros extrusos, células degeneradas ou blastocelo colapsada; *Grau 4 Pobre* - Blastocelo colapsada, vários blastômeros extrusos e células degeneradas, mas com aparência viável da massa embrionária *Grau 5 Degenerado* - Oócito não fertilizado ou embrião totalmente degenerado.

Após avaliação e classificação, o embrião foi lavado em 10 passagens consecutivas no meio de manutenção (FLEURY et al., 2001; CAMILO et al., 2003) com objetivo de eliminar as impurezas presentes na zona pelúcida. Para a inovulação foram selecionados apenas embriões excelentes e bons.

3.5.3 Inovulação

Com o auxílio de uma seringa de insulina acoplada a uma pipeta de inseminação artificial, o embrião foi envasado na pipeta em porções alternadas de solução de manutenção, ar, solução de manutenção contendo o embrião, ar e solução de manutenção. Após o envase a pipeta foi revestida por uma camisa sanitária e ultrapassada a cévix a camisa sanitária foi rompida e o embrião depositado no corpo uterino.

As receptoras foram avaliadas, através da palpação e ultrassonografia onde foi observado a cérvix firme e fechada, aumento de tônus uterino, ausência de dobras endometriais ou secreção uterina (CARNEVALE et al, 2000) e respeitando-se o grau de sincronização entre a ovulação da receptora e da doadora que pode variar entre -1 (ovulação um dia antes da doadora) a +5 (ovulação 5 dias após a doadora), (IMEL et al., 1981; IULIANO et al., 1985; SQUIRES & SEIDEL, 1995; MCKINNON & SQUIRES, 2007; JACOB et al., 2009). Para sincronização da ovulação entre doadora e receptora foi utilizado como protocolo hormonal a administração de 5 mg Dinoprost trometamina (Lutalyse®) IM para indução do cio e 1000UI de Gonadotrofina Corionica humana (Chorulon®) IV para indução da ovulação.

3.6 Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal aos 15 dias de idade do embrião, considerado diagnóstico positivo quando detectado a vesícula embrionária no útero.

3.7 Dados Climáticos

Os dados climatológicos foram obtidos na Web site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), da Estação meteorologia Automática (A601) localizada no Município de Seropédica na região da Baixada Fluminense, RJ (Latitude -22° 44' 38"; Longitude -43° 42' 27").

Os dados foram referentes ao período de outubro a abril de cada estação de monta (2008/2009, 2009/2010, 2010/2011). Foram compilados os dados diários da Temperatura ambiental média (°C) e umidade do ar média (%). A temperatura e umidade média diária foram calculadas com base nos dados horários diários obtidos no INMET e segundo o método de cálculo utilizado pelo INMET, descrito abaixo

Foi calculado também o Índice Temperatura Umidade (ITU) médio diários obtido segundo a fórmula de Thom, 1959:

$$\text{ITU: } (0,8 \times \text{TM} + (\text{UM}/100) \times (\text{TM}-14,4) + 46,4)$$

$$\text{TM} = (\text{T } 9:00 + \text{T max} + \text{Tmin} + 2 \times \text{T } 21:00) / 5$$

$$\text{UM} = (\text{U } 9:00 + \text{U } 15:00 + 2 \times \text{U } 21:00) / 4$$

Onde:

ITU: Índice Temperatura e Umidade médio;

TM: Temperatura média diária (°C);

T 9:00 : Temperatura as nove horas (°C);

T max : Temperatura máxima do dia (°C) ;

Tmin : Temperatura mínima do dia (°C);

T 21:00 : Temperatura as vinte e uma horas (°C);

UM: Umidade relativa do ar média (%);

U 9:00: Umidade relativa do ar as nove horas(%);

U 15:00: Umidade relativa do ar as quinze horas (%);

U 21:00: Umidade relativa do ar as vinte e uma horas (%).

Após a obtenção dos valores médios diários de T, U e ITU, foram calculados os valores médios mensais, quinzenais e semanais através de média aritmética.

3.8 Índices Reprodutivos

Para avaliação da taxa de recuperação embrionária (TR) (relação entre o número de embriões recuperados/número de coletas realizadas) foram utilizados 297 coletas de embrião referentes as 3 estações de monta (84, 105 e 108 coletas referentes as estações 1, 2 e 3, respectivamente).

A Taxa de Gestação (TG) (número de receptoras gestantes aos 15 dias de vida embrionária/número de transferências realizadas) foi calculada com base em 156 transferências de embrião (51, 59 e 46 transferências referentes as estações 1, 2 e 3 respectivamente).

A avaliação da taxa de ovulação (TOV) (número de ovulações/número de estros) foi realizada utilizando-se apenas de ciclos controlados hormonalmente, em que o cio foi induzido pela administração de 5 mg Dinoprost trometamina (lutalyse®). Este procedimento foi adotado para dar maior confiabilidade aos dados, uma vez que para obter sincronização da ovulação entre doadora e receptora a maioria dos ciclos foi manipulado hormonalmente. Foram utilizados 558 ciclos estrais (165, 197 e 196 ciclos referentes as estações 1, 2 e 3 respectivamente). Considerou-se tanto doadoras quanto receptoras, sendo 289 ciclos de doadoras (72, 109 e 108 ciclos referentes as estações 1, 2 e 3 respectivamente) e 269 ciclos de receptoras (93, 93 e 83 ciclos referentes as estações 1, 2 e 3 respectivamente). A ovulação foi detectada por meio de ultrassonografia transretal quando o folículo pré-ovulatório não foi mais observado.

A resposta a PGF2 α (TCIO) (relação entre o número de ciclos com presença de edema endometrial e ausência de corpo lúteo/número de ciclos tratados 5 mg Dinoprost trometamina (lutalyse®) foi obtida a partir de 523 ciclos estrais com estro induzido por 5 mg Dinoprost trometamina (lutalyse®). A presença do edema endometrial e ausência do corpo lúteo foi detectada através de ultrassonografia transretal, a égua foi considerada em cio e responsiva a prostaglandina quando a ecotextura uterina revelou grau 2 de edema endometrial acompanhado da ausência de corpo lúteo.

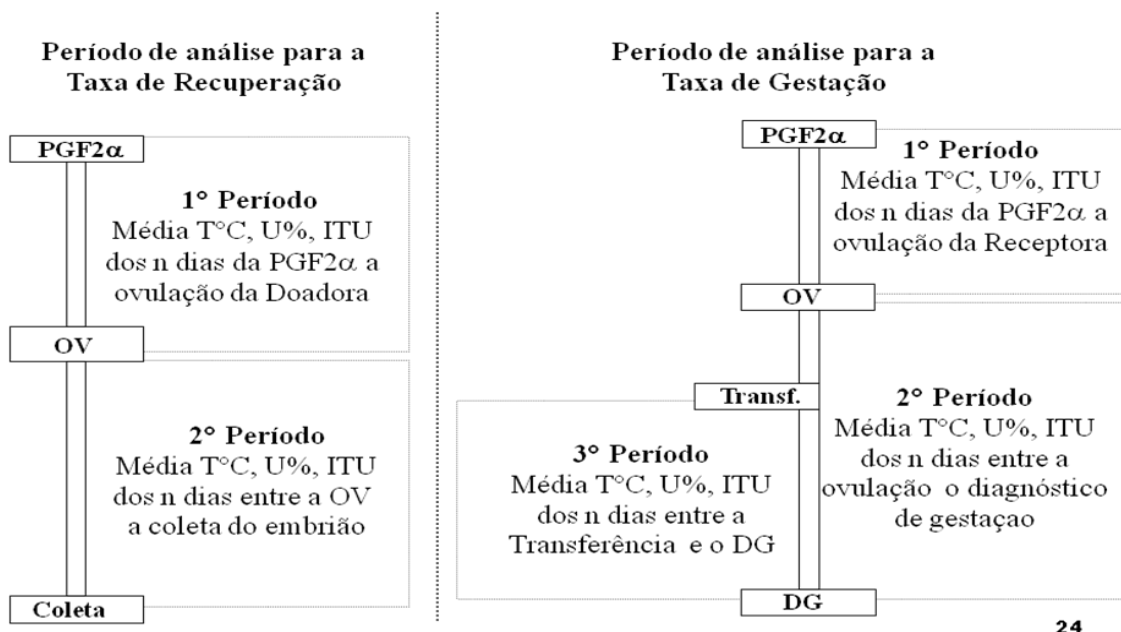
Todos estes parâmetros foram compilados de fichas de controle individual referentes a cada doadora e receptora, onde consta todo o histórico de procedimentos ou mensurações realizadas e suas respectivas datas.

3.9 Relação dos Índices Climáticos x Índices Reprodutivos

Considerando que o estresse térmico pode influenciar a reprodução desde a foliculogênese até a gestação, as avaliações para a taxa de recuperação embrionária e taxa de gestação foram divididos em períodos (figura 1). Para avaliar a relação dos parâmetros climáticos com taxa de recuperação embrionária, foram considerados 2 períodos, *período 1*: da administração da PGF2 α até a data da ovulação da doadora; *período 2*: da ovulação até a coleta. Para cada um destes períodos foram calculados as médias de ITU, TM e UM dos n dias contidos nos seus respectivos períodos e estas médias foram confrontadas com o resultado da coleta positiva (lavado uterino com presença do embrião) ou negativa (lavado uterino com ausência de embrião), ou seja, cada coleta foi avaliada individualmente em relação as médias dos fatores climáticos obtidos.

Para avaliar a relação entre parâmetros climáticos com a taxa de gestação foram considerados 3 períodos, *período 1*: da administração da PGF2 α até a ovulação da receptora; *período 2*: da ovulação da receptora até o diagnóstico de gestação e *período 3*: da

transferência do embrião até o diagnóstico de gestação. Para cada um destes períodos foram calculados as médias de ITU, TM e UM dos n dias contidos nos seus respectivos períodos e estas médias foram confrontadas com o resultado do diagnóstico de gestação positiva (presença da vesícula embrionária no útero da receptora aos 15 dias de vida do embrião) ou negativa (ausência da vesícula embrionária), assim cada diagnóstico de gestação foi também avaliado individualmente em relação às variáveis climáticas.



24

Figura 1. Esquema de distribuição dos períodos utilizados para avaliar a relação do clima sobre a recuperação embrionária e diagnóstico de gestação.

Para a relação com a taxa de ovulação foram considerados os dados climáticos dos n dias da aplicação de PGF2 α , até a data da ovulação, calculando-se a média de ITUM, TM, e UM deste período que foi confrontado com a detecção da ovulação, regressão folicular ou folículos hemorrágicos anovulatórios.

Para a relação com a entrada em fase de estro, foi considerado o período dos n dias da aplicação de PGF2 α até a detecção do cio através de edema endometrial na ecotextura uterina e ausência de corpo lúteo, foram considerados responsivos os ciclos cujo edema uterino e a ausência do corpo lúteo foram detectados em até 5 dias após a administração da PGF2 α .

Para a aplicação do teste de homogeneidade as variáveis temperatura ambiente, umidade relativa do ar e ITU foram tomadas em intervalos de classes de forma que as frequências observadas não apresentassem mais que 20% de observações inferiores a 5 nem zero, para cada nível de classe, respeitando as condições para aplicação do teste Qui-quadrado (χ^2).

Por se tratar de avaliações entre parâmetros ambientais (Temperatura ambiente média diária ($^{\circ}\text{C}$), Umidade relativa do ar média diária (%), e Índice de Temperatura e Umidade (ITU)) com parâmetros reprodutivos (Taxa de recuperação embrionária, Taxa de gestação, Taxa de Ovulação e resposta a PGF2 α), optou-se por utilizar uma análise estatística não Paramétrica do Qui-quadrado (χ^2). Este teste utiliza o Teste de Fisher para comparar médias, e tomadas as médias as comparações foram realizadas a 5% de significância ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variáveis Climáticas

A temperatura ambiental média nas três estações de monta mostrou uma tendência de aumento entre os meses de outubro a fevereiro, seguido de queda entre fevereiro e abril, como mostra a figura 2. O maior valor médio mensal de temperatura foi observado no mês de fevereiro de forma coincidente nas 3 estações de monta (27,14 °C, 29,19 °C e 28,44 °C para as estações 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente). Durante o alto verão (janeiro e fevereiro) a temperatura ambiental média foi superior a 25 °C, segundo Morgan (1996), a zona termoneutra nos equinos varia entre 5 e 25°C, assim no alto verão os animais permaneceram sob desconforto térmico. A menor temperatura média mensal foi observada no mês de novembro na estação 2008/2009 (22,73 °C) e no mês de outubro coincidindo nas estações 2009/2010 (23,8 °C) e 2010/2011 (22 °C). Apesar do comportamento semelhante entre as curvas de temperatura nas três estações, nota-se uma queda da temperatura entre novembro e dezembro na estação de monta 2008/2009 (grafico1), sem diferença significativa entre as demais estações, o que explica os menores valores para o mês de novembro, nesta estação.

Tabela 1. Temperatura ambiental média mensal (°C) nos meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011 .

Meses	2008/2009	2009/2010	2010/2011
Outubro	23,42	23,08	22,00
Novembro	22,73	27,14	23,83
Dezembro	23,73	25,72	26,19
Janeiro	25,83	26,91	27,80
Fevereiro	27,14	29,19	28,44
Março	25,88	26,31	24,78
Abril	23,34	23,77	24,75

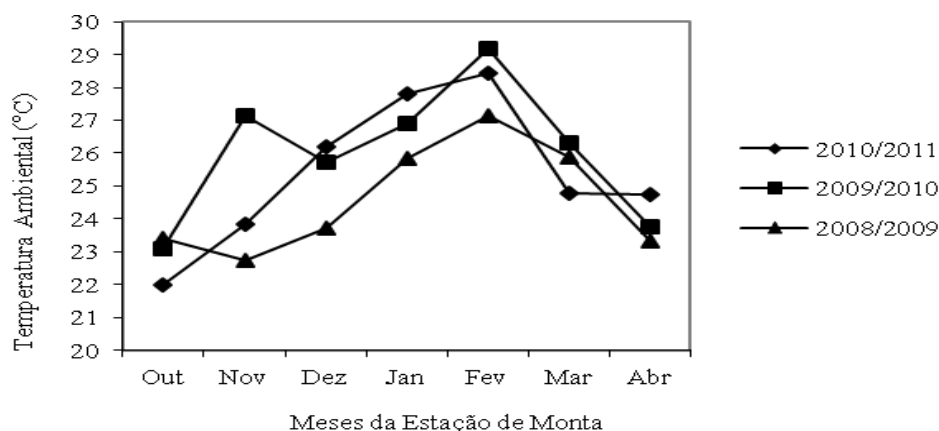


Figura 2. Variação da temperatura ambiental média mensal (°C) ao longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

De forma inversa a temperatura, a curva da umidade relativa do ar mostra uma distribuição com tendência de queda entre os meses de outubro a fevereiro e seguida de elevação ente fevereiro a março, comum as três estações de monta (figuras 3 e 4). Menores valores médios mensais de umidade foram observados no mês de fevereiro para as 3 estações de monta (78,55%, 60,07% e 65,4% para as estações 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente), enquanto os maiores valores foram observados nos meses de novembro (87,89%), outubro (87,66%) e março (85,16%) nas estações 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente, não havendo diferença significativa para os valores de umidade relativa do ar média nos meses ao longo da estação entre as três estações de monta ($p>0,05$). Os valores médios mensais de umidade do ar podem ser observados na tabela 2.

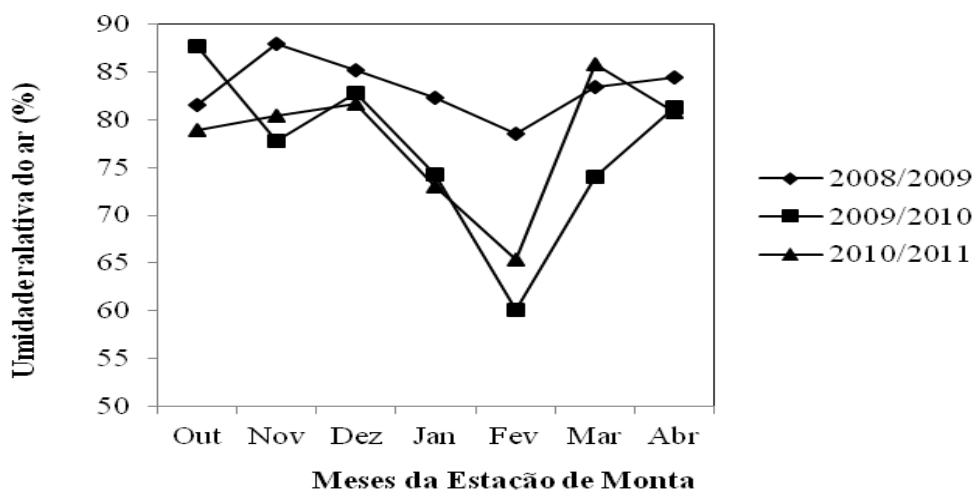


Figura 3. Variação da umidade relativa do ar média mensal (%) ao longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

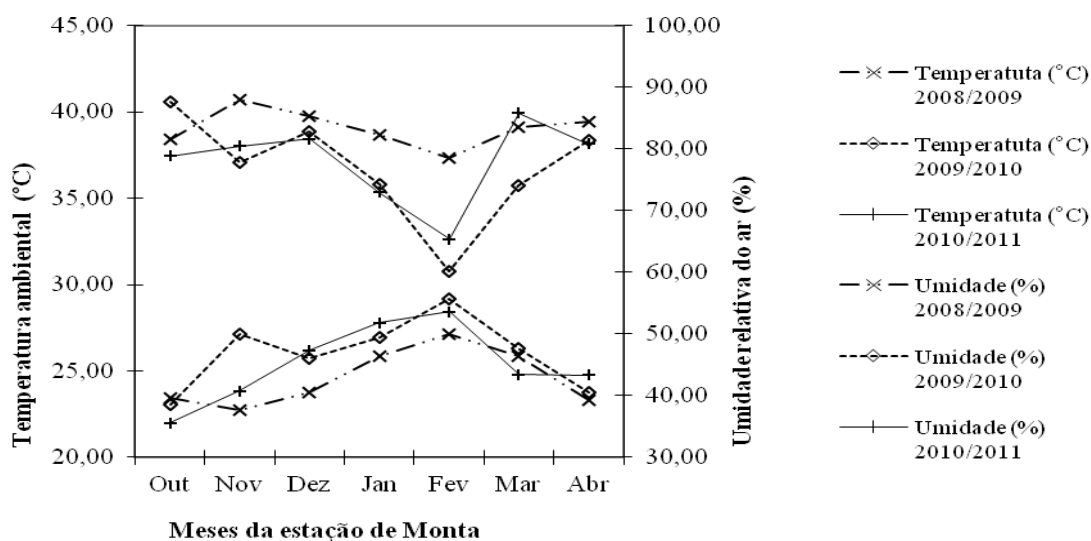


Figura 4. Comportamento da variação da temperatura ambiental em relação a umidade relativa do ar ao longo das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

Tabela 2. Umidade Relativa do ar mensal (%) nos meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

Meses	2008/2009	2009/2010	2010/2011
Outubro	81,56	87,66	78,86
Novembro	87,89	77,78	80,40
Dezembro	85,21	82,85	81,63
Janeiro	82,32	74,21	72,95
Fevereiro	78,55	60,07	65,40
Março	83,48	73,98	85,76
Abril	84,39	81,32	80,82

Os maiores valores para o ITU foram obtidos no mês de fevereiro com valores de 78,05, 79,21 e 78,62 unidades para as estações 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011 respectivamente, enquanto os menores valores foram observados no mês de novembro na estação 2008/2009 (71,88 unidades) e no mês de outubro para as demais estações, (72,43 e 69,96 unidades). Segundo Hahn et al. (1959), valores de $ITU \leq 74$ indicam que o animal está sob ambiente seguro, entre 74 e 78 o animal já está em desconforto, de 79 a 84 em condições de perigo fisiológico e acima de 85 está sob emergência. Vários métodos podem ser utilizados para obtenção do ITU, e os valores são semelhantes. Nesta pesquisa utiliza-se dos valores de temperatura e umidade ambiental e os valores obtidos sugerem que o período em que os animais permaneceram acima da faixa de conforto térmico ($ITU \leq 74$), foi maior que o período sob conforto como mostra a figura 5. Embora o ITU não tenha variado estatisticamente entre as estações e os meses de cada estação ($p > 0,05$), deve-se salientar que o ITU foi mensurado com base em valores médios diários de temperatura e umidade, entretanto Ribeiro et al. (2009), ao compararem o ITU em relação ao ambiente interno e externo de cocheiras, observaram diferenças no índice de temperatura e umidade (ITU), em função dos horários, no qual o horário de maior valor foi às 15 horas, com observações de 77,96 e 80,23 unidades para os tratamentos interno e externo, seguido pelos horários 12 e 18 horas, com valores médios de 76,22 e 78,13, respectivamente e verificaram que em função do horário, os animais ficaram expostos durante boa parte dos dias a variações, no qual é considerado estado de alerta, acima do ponto crítico (72 e 78); e referente aos horários de maiores valores atingiram em determinados períodos, estado de perigo (78 a 82).

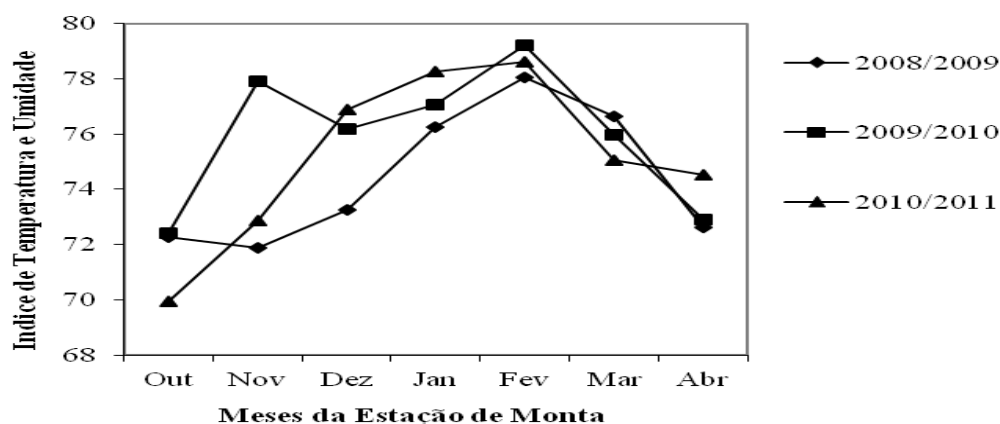


Figura 5. Distribuição mensal dos valores de ITU durante os meses das estações de monta 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

4.2 Taxa de Recuperação Embrionária

A taxa de recuperação embrionária (TR) geral referente as três estações de monta foi de 58,2%, um total de 173 embriões foram recuperados em 297 coletas realizadas. Separadamente, a TR foi 60,2% (51/84), 58,1% (61/105) e 56,5% (61/108) para as estações de monta de 2008/2009, 209/2010 e 2010/2011, respectivamente não havendo diferença significativa ($p>0,05$) entre as estações. Quando comparado a outras pesquisas com a mesma raça, os valores são semelhantes aos de Jacob et al. (2010) que recuperaram 62%, e aos de 54,6% de Fleury et al. (2001), e inferiores aos de Lopes (2004) com 72,74% e Goretti (2005) com 70,1% embriões recuperados.

Ao avaliar a TR mensal observa-se na tabela 3 que foi recuperado maior número de embriões, nos meses de abril nas estações 2008/2009 (83,3%) e 2010/2011 (66,7%), enquanto na estação 2009/2010 maior número de embriões foi recuperado em março (85,7%), mostrando uma tendência no aumento da TR nos meses de março e abril, provavelmente em função da queda da temperatura após longo período de temperatura elevada do alto verão (janeiro e fevereiro), embora estes valores tenham sido significativamente superiores apenas na estação 2009/2010 ($P<0,05$), a não significância dos 85,7% da taxa de recuperação em 2008/2009, pode ser explicada pelo pequeno número de coletas (6) para o mês de março o que pode ter influenciado na análise estatística devido a frequência observada ter sido numericamente pequena. Ao contrário, as menores taxas de recuperação não seguiram uma tendência de distribuição mensal oscilando entre as estações. Na estação 2008/2009 menor TR foi observada em outubro (40%), em 2009/2010 a menor TR (50%) não variou entre meses de outubro, dezembro e janeiro, e na estação 2010/2011 menor TR foi observada em janeiro (40%).

Tabela 3. Percentual de embriões recuperados por mês a cada estação de monta, e percentual geral mensal.

Percentual de embriões recuperados por mês				
Meses	2008/2009	2009/2010	2010/2011	Média geral
Outubro	40,0	50,0	50,0	46,7
Novembro	44,4	53,3	64,7	54,2
Dezembro	60,0	50,0	60,9	57,0
Janeiro	66,7	50,0	40,0	52,2
Fevereiro	64,7	66,7	46,7	59,3
Março	60,0	85,7	56,3	67,3
Abril	83,3	72,7	66,7	74,2

Estas variações nas TR podem ser observadas na figura 6, que sugere que no alto verão o efeito estressor das altas temperaturas pode ter reduzido a TR especialmente mais nítido na estação de monta de 2010/2011. Observa-se que na primeira metade das estações houve uma tendência às menores TR em relação as observadas na segunda metade das estações. Estes resultados diferem dos de Taveiros et al. (2008) e Riera (2009), que obtiveram maior taxa de recuperação na primeira metade da estação de monta, entretanto o relato de Taveiros et al. (2008) é referente a uma estação de monta com início em novembro, período em que o fotoperíodo encontra-se mais definido, enquanto Riera (2009) relata problemas técnicos relacionados a ocorrência de endometrite pós cobertura e início do período de competição de pólo pelas éguas na segunda metade da estação.

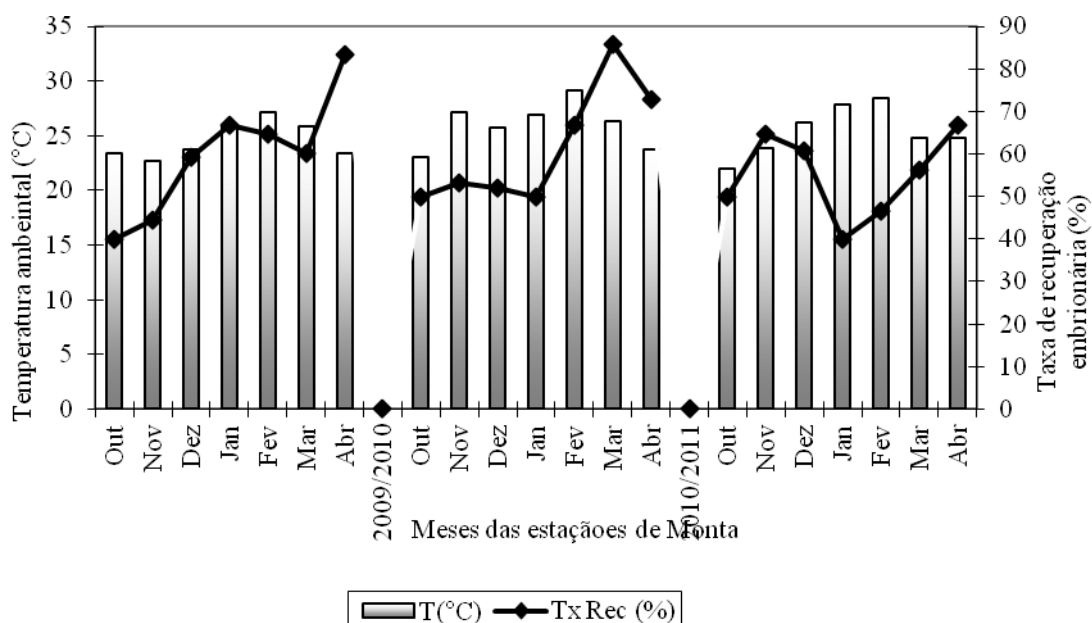


Figura 6. Distribuição da TR mensal ao longo das três estações de monta e médias mensais de temperatura ambiental.

Ao avaliar o número de embriões recuperados em função das variáveis climáticas (temperatura e umidade) isoladamente, e em relação aos 3 períodos analisados (1: da administração da PGF2 α a ovulação, 2: da ovulação a coleta de embrião; e 3: da divergência ou da administração da PGF2 α a coleta). Observou-se que no primeiro período de análise houve relação entre o número de embriões recuperados e a variável temperatura ambiental ($p < 0,05$), entretanto, o mesmo não foi observado para a relação entre a TR x umidade do ar e ITU. No segundo período avaliado, as variáveis temperatura e umidade isoladas não tiveram relação com o número de embriões recuperados ($p > 0,05$), entretanto o efeito combinado de altas temperaturas e umidades refletidas por maiores valores de ITU relacionou-se significativamente ($p < 0,05$) de forma negativa no número de embriões recuperados como pode ser observado na tabela 4.

Tabela 4. Número de embriões recuperados (coletas de embrião positivas) e coletas negativas em relação as variáveis climáticas e períodos de análise.

VARIÁVEIS AMBIENTAIS	PERÍODOS DE ANÁLISE								
	Da PGF2 a ovulação				Da ovulação a coleta				
	TAM (°C)	Neg.	Pos.	Total	TR (%)	Neg.	Pos.	Total	TR (%)
≤22	15	23	38	60,53 ^{bcd}	12	22	34	64,71 ^a	
23	12	15	27	55,56 ^{cd}	14	14	28	50,00 ^a	
24	17	32	49	65,31 ^d	21	38	59	64,41 ^a	
25	22	26	48	54,17 ^a	13	19	32	59,38 ^a	
26	23	26	49	53,06 ^a	18	32	50	64,00 ^a	
27	21	29	50	58,00 ^a	27	32	59	54,24 ^a	
≥28	13	23	36	63,89 ^b	18	17	35	48,57 ^a	
UR (%)									
≤65	9	18	27	66,67 ^a	9	17	26	65,38 ^a	
66-70	4	8	12	66,67 ^a	8	8	16	50,00 ^a	
71-75	20	26	46	56,52 ^a	21	33	54	61,11 ^a	
76-80	41	45	86	52,33 ^a	38	42	80	52,50 ^a	
81-85	23	34	57	59,65 ^a	27	42	69	60,87 ^a	
≥85	26	43	69	62,32 ^a	20	32	52	61,54 ^a	
ITU									
≤71	14	23	37	62,16 ^a	10	21	31	67,74 ^a	
72-73	12	22	34	64,71 ^a	15	21	36	57,14 ^a	
74-75	29	41	70	58,57 ^a	33	41	74	54,67 ^a	
76-77	41	41	82	50,00 ^a	27	56	83	67,47 ^a	
≥78	28	46	74	62,16 ^a	38	35	73	47,95 ^b	
Total	123	174	297	58,59	123	174	297	58,59	

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p<0,05)$.

TAM: Temperatura Ambiental Media; UR: Umidade Relativa do ar; ITU: Índice de Temperatura e Umidade; Neg.: coletas negativas; Pos.: coletas positivas, TR: Taxa de Recuperação.

Nas temperaturas entre 25, 26 e 27 °C as TR foram menores (54,13, 53,6 e 58%, respectivamente), quando comparado as temperaturas entre 24, 23 e 22°C ou menos (65, 55 e 60%, respectivamente), entretanto de à temperatura de 28°C observou-se TR de 63,89%, o que pode estar relacionada ao fato do estudo considerar as medias climáticas da primavera e não somente do verão quando se encontram as maiores temperaturas ambiente. Nos meses de outubro e novembro em função da estacionalidade reprodutiva das éguas um incremento na temperatura é positivo para a passagem da estação anovulatória a estação ovulatória (NAGY et al., 2000). Para o ITU ≥78 unidades o número de lavados negativos (38) superou o número de embriões recuperados (35) uma TR de 47,95%, sugerindo que sobre estas condições o

estresse térmico é capaz de alterar os processos fisiológicos envolvidos na fertilização e desenvolvimento inicial do embrião e que a fase folicular até a ovulação foi menos susceptível ao estresse causado por altas temperaturas e umidades, nas doadoras de embrião. De forma semelhante Riera (2009), na Argentina, avaliou a relação do estresse térmico sobre a taxa de recuperação embrionária em equinos, através do índice humidex que associa temperatura e umidade do ar para estimar parâmetros de conforto, quanto maior o humidex maior o desconforto, e através da análise de regressão o autor relata uma redução de 0,52% na taxa de recuperação embrionária a medida que o índice humidex aumenta em 1 unidade.

Como existe ausência de literatura sobre o assunto estresse climático e reprodução eqüina é valido ressaltar que em vacas a taxa de recuperação de embriões normais sob estresse térmico ambiental (30 a 42°C) foi de apenas 20,7% conta 51,5% em vacas a 20°C ambiente (PUTNEY et al., 1988). A incidência de oócitos não fertilizados aos 7 dias após inseminação também aumentou significativamente em vacas estressadas pelo clima (MONTY & RACOWSKY, 1987). A competência oocitária é comprometida em vacas estressadas pelo calor devido as alterações provocadas pelo estresse na liberação e ação das gonadotrofinas, retardando a maturação dos oócitos ou provocando a ovulação de oócitos velhos (MIHM, 1999).

Camundongas superovuladas mantidas com machos a temperatura ambiente de 34°C e umidade 65% no período pré-ovulatório, tiveram seus embriões removidos 48 hs após a indução da ovulação, esses embriões foram mantidos a T°C ideais de cultivo e quando comparados ao grupo controle (a 21°C), observou-se menor números de células e que menor numero de embriões chegaram ao estagio de mórula e blastócito (BELLVÈ, 1973). Sugerindo que, mesmo ocorrendo a fertilização o processo de clivagem possa ser prejudicado e menor recuperação embrionária será obtida.

As figuras 7,8 e 9 ilustram o comportamento mensal da TR e valores de temperatura e umidade ao longo dos meses das três estações de monta e pode se observar que, graficamente, durante os meses mais quente do verão (janeiro e fevereiro) a medida que a temperatura aumenta a TR reduz (Figura 7), notoriamente observado na estação de monta 2010/2011. Em relação umidade relativa do ar nota-se na figura 8 que houve um tendência no comportamento semelhante das curvas de umidade e TR. Quando comparada a TR em relação ao ITU (figura 9) observa-se a mesma tendência vista para a relação temperatura x TR, sugerindo maior inferência da temperatura ambiental sobre o índice de conforto térmico em relação a umidade.

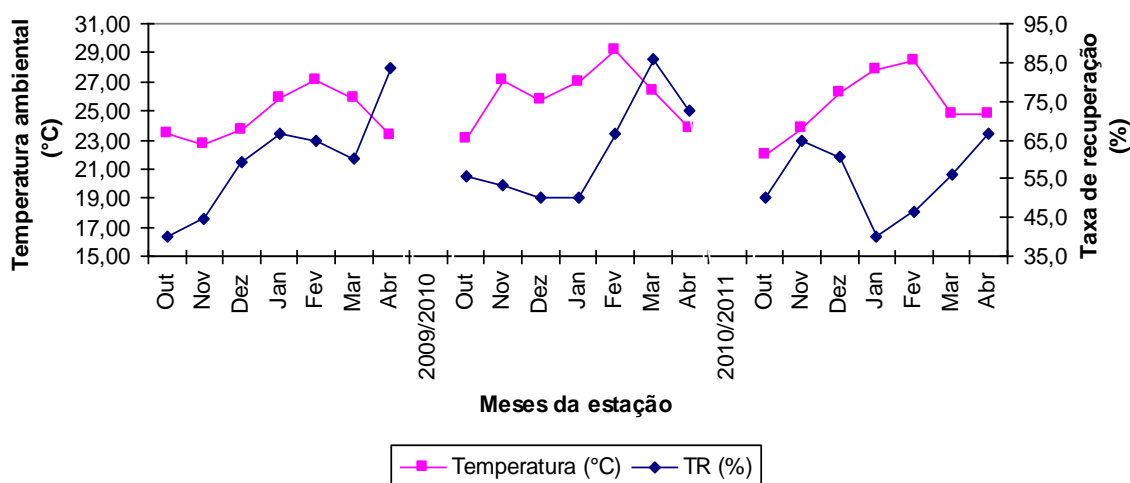


Figura 7. Variação da TR em relação a temperatura ambiental mensal nas 3 estações de monta.

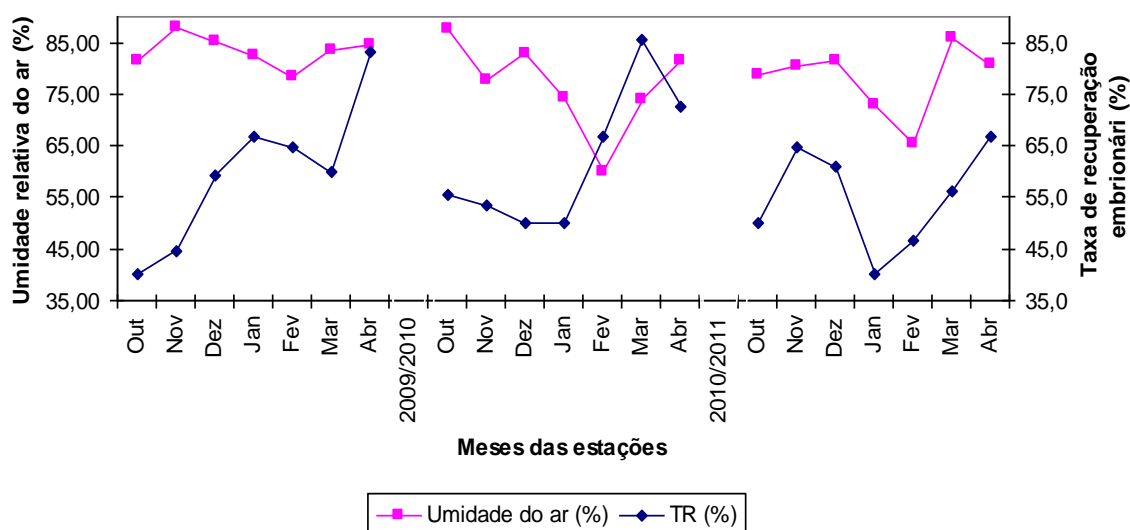


Figura 8. Variação da TR em relação a umidade relativa do ar mensal nas 3 estações de monta.

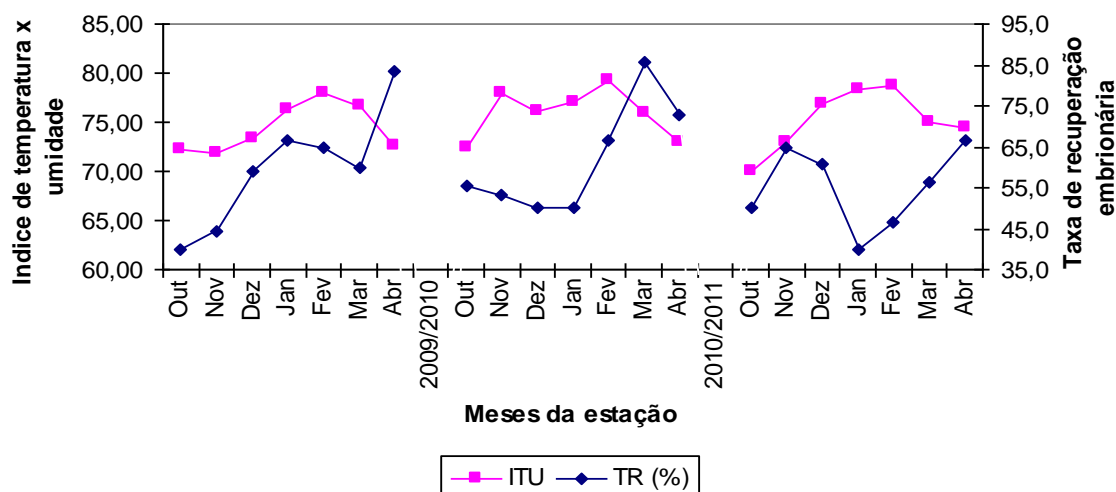


Figura 9. Variação da TR em relação aos valores ITU mensal nas 3 estações de monta.

Em função da discordância ocorrida sobre o comportamento da TR à temperatura de 28°C, uma nova análise estatística foi realizada considerando apenas as coletas de embrião realizadas durante o verão (nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro e março), nesta nova análise para obtenção das médias de temperatura para cada coleta, o período considerado foi da administração da PGF2 α até a data da coleta do embrião, e dados mais consistentes foram observados como mostra a tabela 5, figura 10, onde fica evidente que a maior TR (71%) foi obtida a 26 °C, e que reduziu significativamente a temperatura de 29°C com 51,4% ($p < 0,05$), entretanto não houve relação da TR com a umidade relativa do ar. A TR total no verão foi de 51,8%. Considerou-se importante este procedimento uma vez que a hipótese da presente pesquisa é que o estresse térmico ambiental leva a queda nos índices reprodutivos. A figura 10, mostra a influência negativa da temperatura sobre a TR no verão durante as três estações de monta, notou-se a menor influência na curva do ano 2008/2009, o que provavelmente está relacionado ao fato da temperatura ambiental neste verão ter sido mais amena.

Tabela 5. Número de embriões recuperados e coletas negativas em relação a temperatura no Período da administração da PGF2 α a coleta do embrião, durante o verão.

Temperatura ambiental média (°C)	Coletas negativas	Embriões recuperados	Nº de coletas	TR (%)
≤24	8	12	20	60,0 ^b
25	11	14	25	56,0 ^c
26	9	22	31	71,0 ^a
27	29	32	61	52,5 ^c
28	13	20	33	60,6 ^b
≥29	17,00	18	35	51,4 ^c
Umidade do ar (%)				
≤65	7	17	24	70,8 ^a
66-70	7	8	15	53,3 ^a
71-75	16	16	32	50,0 ^a
76-80	29	35	64	54,7 ^a
81-85	15	24	39	61,5 ^a
≥86	13	18	31	58,1 ^a
ITU				
72-73	6	12	18	66,7 ^a
74-75	19	29	48	60,4 ^a
76-77	36	49	85	57,6 ^a
78-79	26	28	54	51,9 ^a
Total	87,00	118,00	205	51,9

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p<0,05)$.

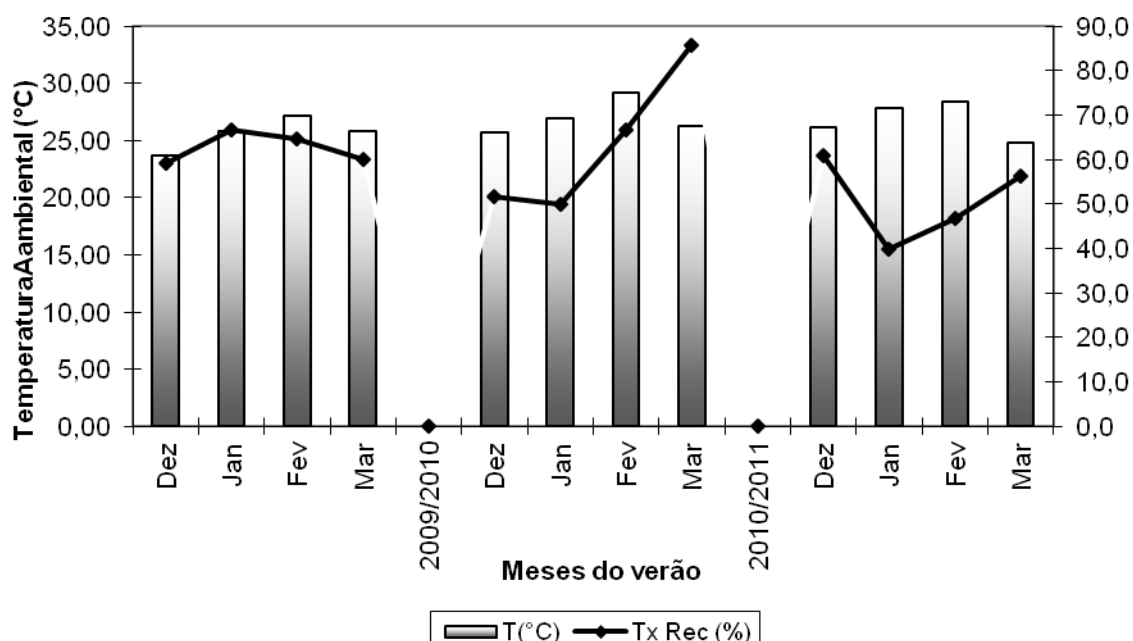


Figura 10. Variação da TR em relação a temperatura ambiental média no verão das três estações de monta.

4.3 Taxa de Gestação

A taxa de gestação (TG) geral aos 15 dias do embrião, considerando as três estações avaliadas foi de 57,69% (90/156), maior TG foi observada na estação 2010/2011 (63,04%) seguida das estações 2009/2010 (55,93%), e 2008/2009 (54,9%) não havendo diferença estatística ($p < 0,05$) entre as três estações como mostra a tabela 6. Quando comparamos às estações de monta isoladamente, as variações da TG em relação aos meses podem ser observadas na figura 11. As maiores TG ocorreram nos meses de abril (75%), dezembro (69,23%), e março (88,89%) para as estações 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011 respectivamente, enquanto os menores valores ocorrem em novembro para as estações 2008/2009 (25%) e 2009/2010 (33,33%) e fevereiro para a estação 2010/2011 (33,33%). Outros autores trabalhando com receptoras Mangalarga Marchador, relatam uma taxa de gestação média semelhante de 53,6% variando entre 52,4% na segunda metade da estação e 61,9% na primeira metade da estação (TAVEIROS et al., 2008), contrário ao que foi observado na presente pesquisa onde de forma semelhante a taxa de recuperação embrionária, as maiores taxas de gestação também foram obtidas nos meses da segunda metade a estação. Valores superiores foram obtidos por Lopes (2004) que em estudo sobre os índices reprodutivos em seis estações de monta obteve uma taxa de gestação média de 73,4%, entre as seis estações a menor TG observada foi de 67,1% e a máxima de 82,6%, mas não relatam variações entre os meses da estação. Goretti (2005) obtiveram uma TG de 68,9%, valores semelhantes a Lopes (2004) e superiores ao da presente pesquisa.

Tabela 6. Número de embriões transferidos e taxa de prenhez em receptoras referentes as estações de monta.

Estações	Nº embriões transferidos	Prenhez (15dias)	TG (%)
2008/2009	51	28	54,90 ^a
2009/2010	59	33	55,93 ^a
2010/2011	46	29	63,04 ^a
Total	156	90	57,69

Valores seguidos de letras iguais entre colunas não diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p > 0,05)$.

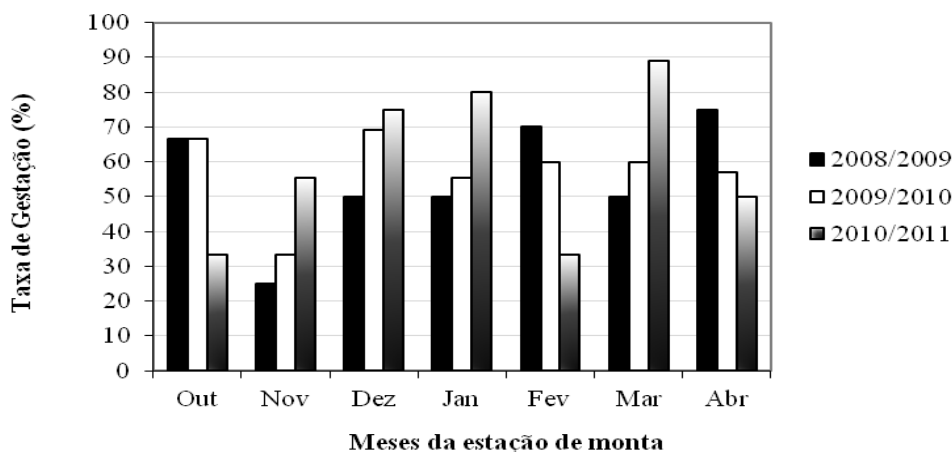


Figura 11. Variação da taxa de gestação ao longo dos meses entre as estações.

A tabela 7 expõe os valores obtidos de TG em relação as variáveis climáticas e os períodos de análise. A TG no período 1 (da administração da PGF2 α até a ovulação) apresentou relação significativa frente as variáveis temperatura e ITU ($p < 0,05$), mas não houve relação com a variável umidade do ar.

Tabela 7. Número de Gestações e transferências de embriões em relação as variáveis climáticas no Período da administração da PGF2 α a ovulação, da ovulação ao diagnóstico de gestação e da transferência ao diagnóstico de gestação.

T °C	PERÍODOS DE ANÁLISE											
	Da PGF2 a ovulação				Da ovulação ao DG (15 dias)				Da transferência ao DG (15 dias)			
	não gest.	gest.	transf.	TG (%)	não gest.	gest.	transf.	TG (%)	não gest.	gest.	transf.	TG (%)
≤22	10	9	19	47,4 ^c	11	19	30	64,71 ^a	9	4	13	30,8 ^e
23	10	10	20	50,0 ^b ^c	11	22	33	50,00 ^a	7	8	15	53,3 ^d
24	9	19	28	67,9 ^a	7	11	18	64,41 ^a	8	20	28	71,4 ^b
25	4	11	15	73,3 ^a	11	13	24	59,38 ^a	7	23	30	76,7 ^a
26	13	13	26	50,0 ^b ^c	17	16	33	64,00 ^a	9	15	24	62,5 ^c
27	12	18	30	60,0 ^b	9	8	17	54,24 ^a	15	13	28	46,4 ^d
≥28	8	9	17	52,9 ^b	18	17	35	48,57 ^a	11	6	17	35,3 ^f
UM (%)												
70-	10	14	24	58,3 ^a	14	11	25	44,0 ^a	10	6	16	37,5 ^c
71-75	8	5	13	38,5 ^a	6	10	16	62,5 ^a	13	11	24	45,8 ^c
76-80	19	32	51	62,7 ^a	19	20	39	51,3 ^a	16	25	41	61,0 ^{ab}
81-85	18	18	36	50,0 ^a	17	26	43	60,5 ^a	17	33	50	66,0 ^a
85+	11	20	31	64,5 ^a	10	22	32	68,8 ^a	10	14	24	58,3 ^{ad}
ITU												
71-	10	7	17	41,2 ^b	9	5	14	35,7 ^b	9	5	14	35,7 ^c
72-73	11	13	24	54,2 ^c	7	10	17	58,8 ^c	7	10	17	58,8 ^b
74-75	12	26	38	68,4 ^a	13	36	49	73,5 ^a	13	36	49	73,5 ^a
76-77	18	27	45	60,0 ^c	21	26	47	55,3 ^c	21	26	47	55,3 ^b
78-79	15	16	31	51,6 ^{cb}	16	12	28	42,9 ^d	16	12	28	42,9 ^c
Total	66	89	155	57,4	66	89	155	57,4	66	89	155	57,4

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de χ^2 ($p < 0,05$).

T °C: Temperatura Ambiental; UM: Umidade Relativa do ar; ITU: Índice de Temperatura e Umidade; não gest.: não gestantes; Gest.: gestantes; Transf.: Numero de transferências; TG: Taxa de Gestação.

Em relação a variável temperatura ambiental média, maior TG (67,9 e 73,3%) foram obtidas nas temperatura de 24 e 25°C, respectivamente, situados dentro da faixa de conforto térmico equino (MORGAN, 1996), enquanto as TG observadas para temperaturas superiores a 26°C não variaram entre si e foram menores que os valores encontrados entre 24 e 25 °C. De fato ao observar a tabela 1, de distribuição da temperatura ao longo dos meses das estações e a figura 11 de distribuição da TG ao longo dos meses, observa-se que às menores temperaturas nos meses de março e abril e dezembro foram encontradas maiores as TG durante o verão. Embora as TG tenham sido baixas também às temperaturas de 23 e 22°C ou menos, provavelmente se relacionam ao mês de outubro havendo ainda a influência do período de transição entre a estação anovulatória para estação ovulatória. Maior TG (81,8%) foi observada a umidade relativa do ar entre 66 e 70%, reduzindo a media que a umidade do ar aumenta ou diminui. Ao avaliar o efeito combinado da temperatura e umidade através do ITU sobre a TG, observa-se que a maior TG (68,4%) foi obtida com o ITU entre 74 e 75

unidades mesmo este valor estando em início do desconforto (HAHN et al., 1959), a medida que o ITU aumentou ou reduziu, houve um decréscimo na TG.

Ao avaliar o segundo período de análise (da ovulação da receptora ao diagnóstico de gestação aos 15 dias de idade do embrião) verificou-se uma relação significativa ($p < 0,05$) entre as variáveis, umidade do ar e ITU com a TG, enquanto a variável temperatura não teve relação a TG. Maior TG (73,5%) foi observado ao ITU variando entre 74 e 75 unidades reduzindo a mediada que o ITU aumentou ou reduziu. Para a variável umidade do ar, maior TG foi relacionada ao nível de umidade $\geq 86\%$, enquanto a menor TG foi observada em níveis de umidade ≤ 70 , o que sugere possivelmente a uma relação das TG obtidas com o período das águas que propiciam melhor condições de pastagens, já que o aumento da umidade frente a altas temperaturas dificulta a sudorese (GUTHRIE & LUND, 1998), o que acarretaria em estresse tendendo a queda e não ao aumento da TG.

Após a transferência do embrião até o diagnóstico de gestação, no terceiro período de avaliação, todas as variáveis climáticas tiveram relação significativa ($p < 0,05$) com a TG observada, provavelmente devido a associação do clima como estressor à outros fatores altamente importantes para o sucesso no início da gestação como a idade e funcionalidade do corpo lúteo, a qualidade e idade do embrião transferido. Maior TG foi obtida a temperatura ambiental entre 24 e 25 °C (71,4 e 76,7%, respectivamente), as menores TG ocorreram em relação às faixas de temperaturas $\leq 22^\circ\text{C}$ e $\geq 28^\circ\text{C}$ (30,8 e 35,5%, respectivamente), havendo uma tendência na redução da TG a medida que a temperatura aumenta ou reduz. Em relação a umidade relativa do ar, maiores TG (61 e 66%) foram observadas nos intervalos de umidade do ar entre 75 a 80% e 81 a 85% sem diferença estatística entre os intervalos de umidade ($p > 0,05$) com tendência de queda na TG a medida que a umidade do ar aumenta ou diminui, menores TG foram obtidas às umidades $\leq 70\%$ e $\geq 86\%$, nas quais foram observados TG de 37,5% e 58,3%, respectivamente. Consequentemente, em função da variação da TG em relação a temperatura e umidade ambiental o ITU também teve relação com as variações na TG, no intervalo de ITU entre 74 e 75 unidades a TG foi a maior com 73,5%, reduzindo a medida que o ITU aumentou ou reduziu, menores TG foram obtida em relação aos ITU ≤ 71 e ≥ 78 , com TG de 35,7% e 42,9%, respectivamente.

Os resultados sugerem que altas temperaturas e umidade especialmente no verão influenciam negativamente a sobrevivência do embrião no útero, essa influência negativa pode estar associada alterações na foliculogênese e competência oocitária, na formação e atividade do corpo lúteo e por alterações no útero propriamente. De fato estudos com cultivo de células endometriais oriundas de porcas submetidas a altas temperaturas e umidade demonstram que em relação ao grupo controle as células endometriais de vacas sobre estresse térmico secretaram maiores quantidades de $\text{PGF}2\alpha$, e que a medida que se elevou a temperatura do ambiente a secreção da prostaglandina também aumentou (GROS et al., 1989), o mesmo foi observado por Wettemann et al, (1984) em vacas sob estresse térmico entre 8 e 16 dias gestação, as quais tiveram maiores quantidades circulantes de $\text{PGF}2\alpha$ e seus metabólitos quando comparado a vacas em conforto térmico, embora Shimizu et al. (2005), não tenha observado alteração nos níveis de progesterona produzidos por porcas em estresse térmico.

Bellvè (1973) observou que em camundongas sob estresse térmico de 34°C e umidade de 65%, obtiveram menos sítios de implantação uterina quando comparadas a ratas mantida a 21°C e Baumgartner (1988) observou sob as mesmas condições e temperatura do experimento de Bellvè (1973), que camundongas sob estresse térmico tiveram maior perda embrionária antes da implantação que ratas em conforto térmico.

Entretanto, Riera (2009) trabalhando com éguas de pólo, através do índice humidex para conforto térmico, observou que não houve efeito estresse climático sobre suas TG, tendo apresentado queda da TG apenas no final do verão e atribui esta queda a redução na qualidade

das pastagens nesta época, e a menor qualidade das receptoras que restam no final da estação de monta, estes resultados discordam com os resultados obtidos na presente pesquisa em que a temperatura e umidade do alto verão tiveram relação significativa com os menores valores de TG, e março e abril (final da estação), ocorreram os melhores resultados.

Do mesmo modo que para a taxa de recuperação os dados da TG foram submetidos novamente a análise estatística considerando agora apenas as transferências de embrião realizadas no verão para as três estações de monta, 155 transferências no total. As médias de temperatura ambiental, umidade relativa do ar e ITU foram agora obtidas do período da administração da PGF2 α até a data do diagnóstico de gestação, e assim como para a TR as variáveis climáticas temperatura ambiente média e ITU tiveram relação significativa ($p < 0,05$) como mostra a linha de tendência linear nas figuras 12 e 13.

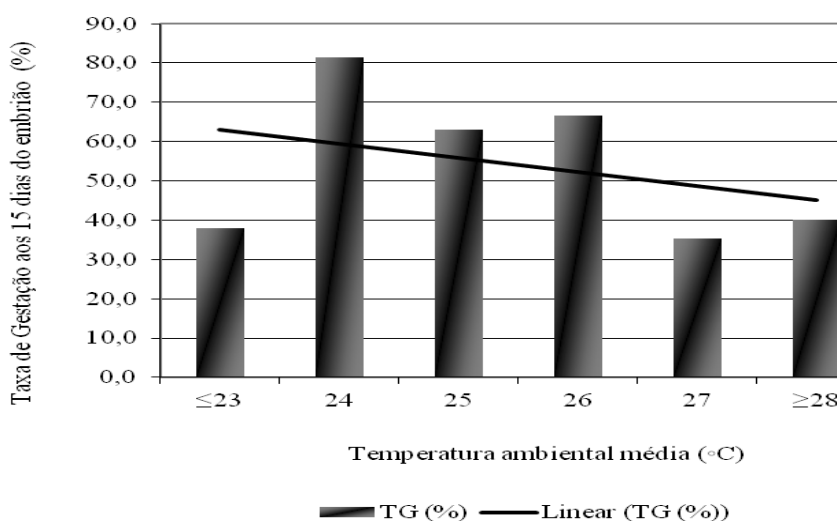


Figura 12. Variação da TG em função da temperatura durante o verão, observe a linha de tendência de queda da TG conforme a temperatura ambiente aumentou.

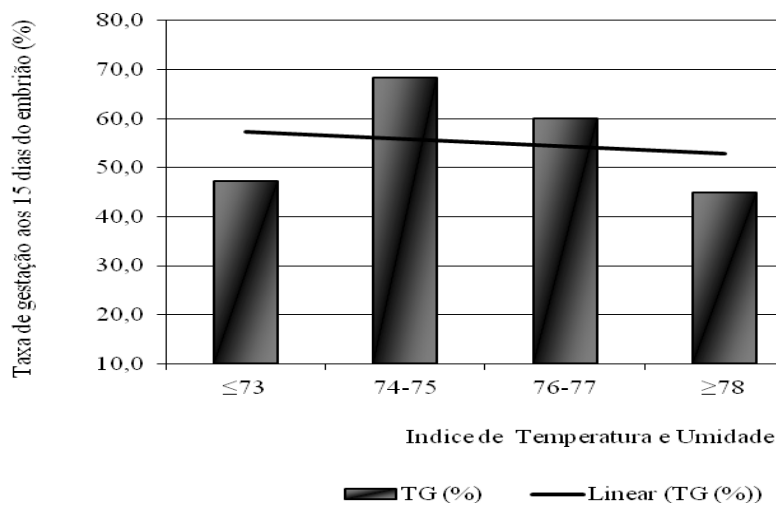


Figura 13. Variação da TG em função do ITU no verão, observe a linha de tendência de queda da TG conforme o ITU aumentou.

Observa-se que maior TG foi obtida aos 24°C (81,5%), seguida de queda e significativa principalmente às temperaturas de 27 e 28°C, a mesma tendência foi observada para a reação da TG com o ITU, maior TG foi obtida para ITU entre 74 e 75 unidades e menor TG para o ITU ≥ 78 unidades (45%) mostrando uma tendência de queda significativa na TG ($p < 0,05$) a medida que o ITU se eleva, entretanto o efeito da umidade isoladamente não apresentou relação significativa com a TG ($p < 0,05$) como mostra a tabela 8 e a figura 14, o que denota uma maior influência da temperatura sobre a TG neste período, já que o ITU variou conforme a temperatura variou.

Tabela 8. Número de Gestações e transferências de embriões em relação as variáveis climáticas no período da administração da PGF2 α ao diagnostico de gestação aos 15 dias do embrião

Temperatura ambiental média (°C)	Não gestantes	Gestantes	N° de transferências	TG (%)
≤ 23	18	11	29	37,9 ^c
24	5	22	27	81,5 ^a
25	10	17	27	63,0 ^b
26	14	28	42	66,7 ^b
27	11	6	17	35,3 ^c
≥ 28	9	6	15	40,0 ^c

Umidade relativa do ar (%)	Não gestantes	Gestantes	N° de transferências	TG (%)
≤ 70	10	14	24	58,3 ^a
71-75	8	5	13	38,5 ^a
76-80	19	32	51	62,7 ^a
81-85	18	18	36	50 ^a
≥ 85	11	20	31	64,5 ^a

ITU	Não gestantes	Gestantes	N° de transferências	TG (%)
≤ 73	19	17	36	47,2 ^c
74-75	13	28	41	68,3 ^a
76-77	24	36	60	60,0 ^b
≥ 78	11	9	20	45,0 ^c
Total	66	89	155	57,32%

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p < 0,05)$.

A figura 15 mostra como variou a TG em função da temperatura ambiental nas três estação de monta durante o verão, note que na estação 2008/2009 a curva de variação na TG em função da temperatura mostra uma tendência diferente das demais estações entretanto, mas ao observar a figura 16 pode-se ver que a temperatura no verão desta estação foi menos extremo, o que pode ter influenciado menos nas TG deste período em relação as outras estações.

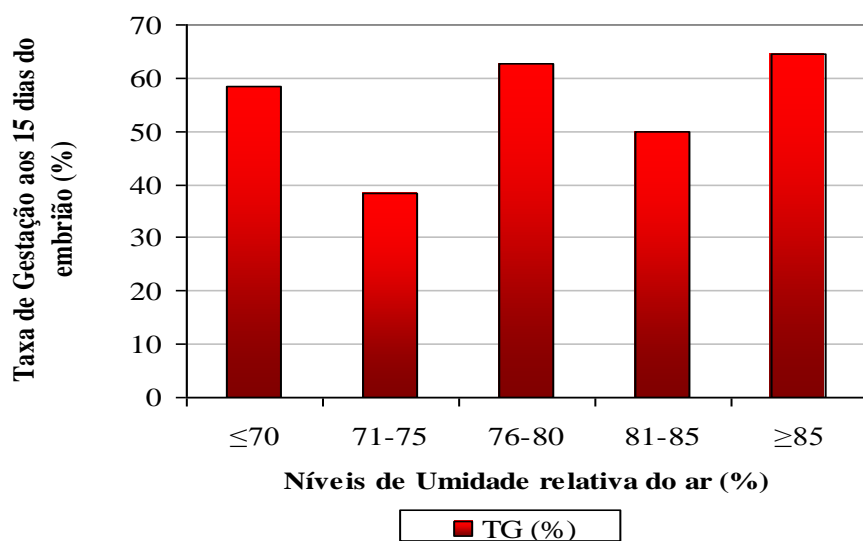


Figura 14. Variação da TG em função da umidade relativa do ar no verão, sem diferença significativa entre os valores de umidade.

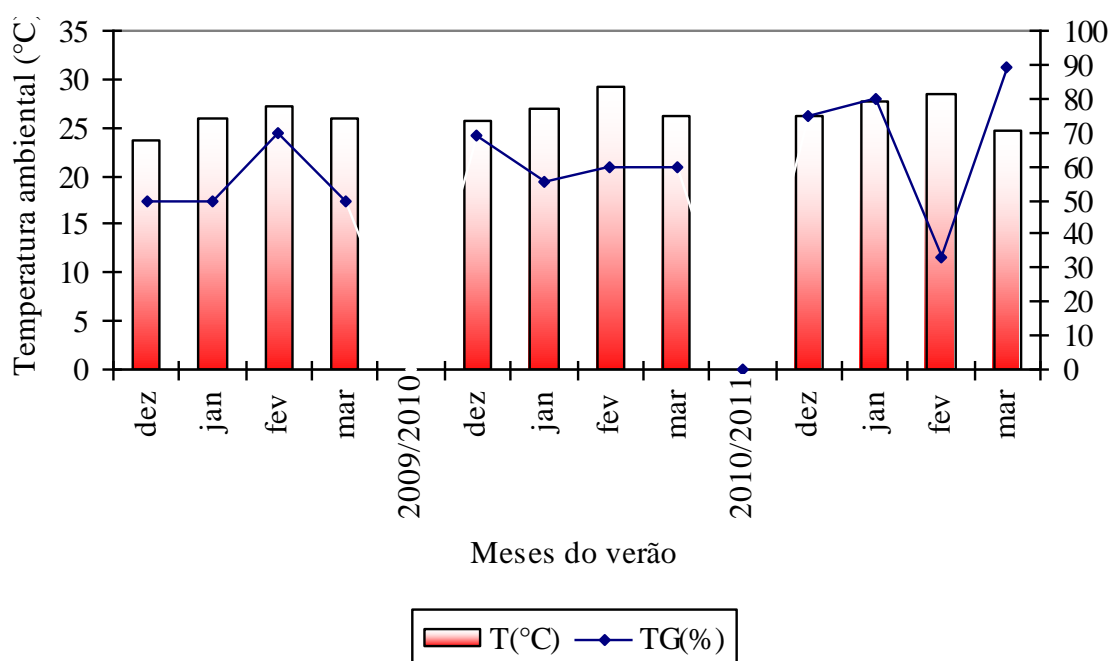


Figura 15. Variação da TG em função da temperatura durante o verão nas três estações de monta.

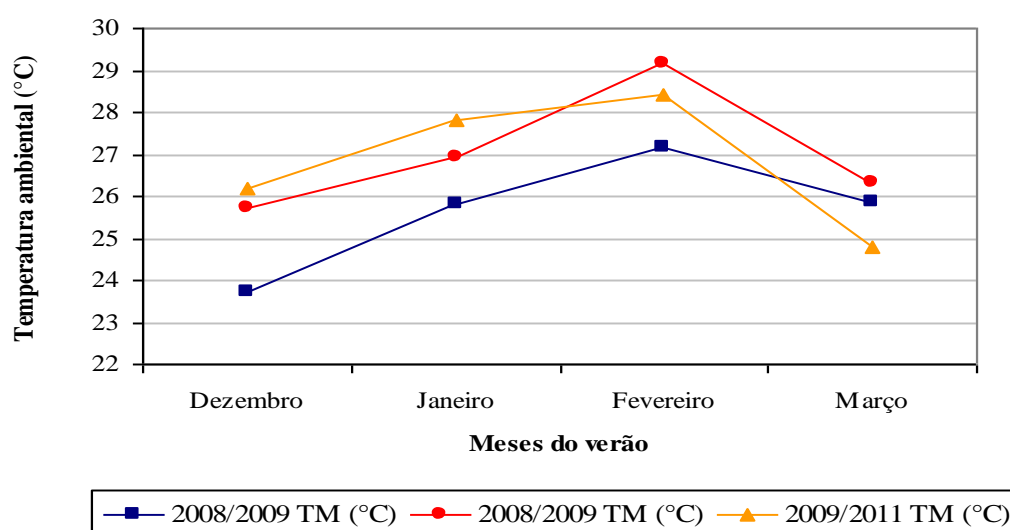


Figura 16. Variação da temperatura ambiente durante o verão nas três estações de monta.

4.4 Taxa de Ovulação

A tabela 9 mostra a frequência de ovulações, ciclos anovulatórios e folículos hemorrágicos anovulatórios (FH) nas três estações de monta. Dos 558 estros avaliados ao longo das três estações de monta, 491 culminaram em ovulação, em 67 estros, a ovulação não ocorreu, totalizando uma taxa de ovulação (TOV) de 88%, não havendo diferença entre as estações ($p > 0,05$). Dos 67 estros que não culminaram em ovulação, 38 (6,81%) apresentaram regressão do maior folículo e em 29 (5,13%) estros houve o desenvolvimento de folículos hemorrágicos anovulatórios.

Tabela 9. Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios e folículos hemorrágicos considerando as três estações de monta.

Estações	Ovulações	Regressões	FH	Total não ovulados	Total Geral	TOV (%)	FH (%)
2008/2009	147	15	3	18	165	89,09 ^a	1,82 ^c
2009/2010	170	11	16	27	197	86,29 ^a	8,12 ^a
2010/2011	174	12	10	22	196	88,78 ^a	5,10 ^b
Total	491	38	29	67	558	87,99	5,13

Valores seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p > 0,05)$.

A incidência de folículos hemorrágicos anovulatórios não teve relação com as variáveis climáticas ($p > 0,05$), entretanto a incidência dos FH não seguiu a tendência descrita na literatura de que folículos hemorrágicos são de maior ocorrência na primavera e outono durante a fase de transição da estação anovulatória a estação ovulatória (GINTHER, 2007), como mostra a figura 17.

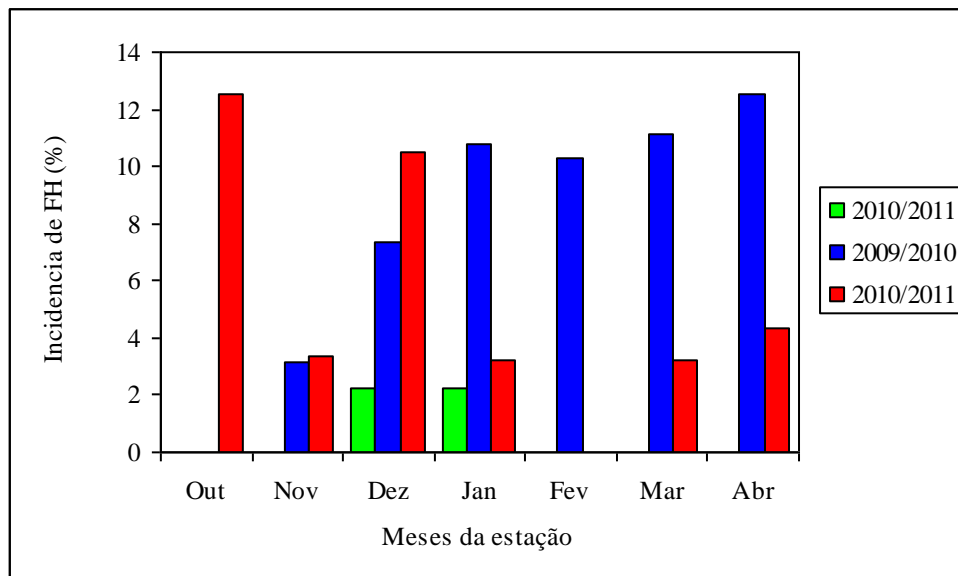


Figura 17. Incidência de FH em relação aos meses das estações de monta.

Maior TOV foi encontrada no mês de fevereiro nas estações 2008/2009, 2010/2011, respectivamente 95 e 96,3% enquanto na estação de 2009/2010 a maior TOV se deu no mês de outubro (100%), menores TOV foram obtidas nos meses de outubro e abril nas estações 2008/2009 e 2010/2011, 66 e 78,98%, respectivamente, na estação 2009/2010 menor taxa ocorreu em abril, mas não seguiu a tendência de outubro como se observa na tabela 10.

Tabela 10. Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios e folículos hemorrágicos considerando as três estações de monta.

Meses	Ovulações	Regressões	FH	Total não ovulados	Total de ciclos	TOV (%)	FH (%)
Outubro	29	1	3	4	33	87,88 ^c	9,09*
Novembro	81	6	2	8	89	91,01 ^b	2,25
Dezembro	104	11	8	19	123	84,55 ^d	6,50
Janeiro	102	4	6	10	112	91,07 ^b	5,36
Fevereiro	77	5	4	9	86	89,53 ^c	4,65
Março	64	3	3	6	70	91,43 ^b	4,29
Abril	34	8	3	11	45	75,56 ^a	6,67
Total	491	38	29	67	558	87,99	5,20

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p<0,05)$.

* valor superestimado em função do pequeno numero de ciclos utilizados na estação 2008/2009 (três ciclos, onde um desenvolveu FH).

Esta tendência se deve provavelmente ao período de transição da primavera e outono, e da dependência do fotoperíodo, um período de renovação do crescimento folicular (DONADEU & WATSON 2007), quando desenvolvem ondas foliculares sequenciais com folículos grandes, folículos anovulatórios e estros irregulares. Embora ocorra a divergência, esses não ovulam (DONADEU & GINTHER, 2004), provavelmente devido aos baixos níveis plasmáticos de LH e menor número de receptores de LH nas células foliculares, além da menor capacidade de produção de estrógeno pelo folículo dominante necessário para a ocorrência da onda pré-ovulatória de LH (WATSON & AL-ZI'ABI 2002; ACOSTA et al.

2004, WATSON et al, 2004), provavelmente em função da menor responsividade ao FSH devido a menor número de receptores de FSH e para fatores de crescimento.

A tabela 11 mostra que não houve relação das variáveis climáticas sobre os resultados de TOV obtidos ($p>0,05$), nem mesmo quando correlacionados apenas com os valores climáticos do verão, isso sugere menor efeito do estresse térmico sobre a foliculogênese e que a influencia do clima sob as TR e TG estão mais associados a fatores inerentes a viabilidade oocitária após ovulação, durante a fertilização, à fase inicial do desenvolvimento embrionário, perimplantação e assim às condições adversas do oviduto e endométrio.

Tabela 11. Número de ciclos ovulatórios, anovulatórios em relação as variáveis climáticas.

Temperatura média	ciclos anovulatórios	ciclos ovulatórios	n° total de ciclos	TOV (%)
≤22	7	62	69	89,9 ^a
23	6	49	55	89,1 ^a
24	15	82	97	84,1 ^a
25	14	71	85	83,5 ^a
26	6	81	87	93,1 ^a
27	10	85	95	89,5 ^a
≥28	9	61	70	87,1 ^a
Umidade Relativa do ar (%)				
≤56	9	45	54	83,3 ^a
66-67	2	21	23	91,3 ^a
71-75	6	62	68	91,2 ^a
76-80	20	157	177	88,7 ^a
81-85	16	93	109	85,3 ^a
≥86	14	113	127	89,0 ^a
ITU				
≤71	7	62	69	89,9 ^a
72-73	9	56	65	86,2 ^a
74-75	22	118	140	84,3 ^a
76-77	17	135	152	88,8 ^a
≥78	12	120	132	90,9 ^a
Total	67	491	558	88,0

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p<0,05)$.

Em vacas mantidas sobre estresse térmico de altas (35 a 40°C – 85% de umidade do ar) e baixas temperaturas (15 °C a 55% de umidade), os níveis de estrógeno e progesterona não variaram entre os grupos, e os níveis de LH não variaram significativamente embora tenha havido uma tendência de maior concentração plasmática de LH no grupo controle (sob temperatura e umidade ambiente) que em vacas sob altas temperaturas ($19,7 \times 14,1 \text{ ng} \cdot 10^{-1}$), também os níveis de FSH foram idênticos entre os grupos tratados e o controle (GILAD et al., 1993) e níveis de inibina foram maiores em porcas sob estresse frio que sobre estresse térmico (ROTH et al., 2000). Entretanto estes experimentos foram conduzidos com a administração de GnRH exógeno após a sincronização do estro com progestágenos e derivados de prostaglandina. Esses resultados devem ser avaliados com cuidado, pois se níveis de estrógeno não se alteraram, seu efeito estimulante sobre a liberação de LH permanece, e se a inibina não se eleva o efeito sobre os níveis de FSH não se altera. Ainda há a administração de fonte exógena de GnRH, estes fatores combinados podem mascarar o efeito do estresse no

eixo hipotálamo-hipófise-gonadal-adrenal. No presente estudo não foi avaliado em separado o uso de indutores de ovulação, embora tenha utilizado da gonadotrofina coriônica humana para indução da ovulação especialmente em doadoras, isso pode ter influenciado na avaliação da relação entre parâmetros climáticos e a TOV.

4.5 Resposta a PGF2 α e Entrada em Fase de Estro

Dos 521 ciclos estrais cujo estro foi induzido com a administração de PGF2 α , 491 (88,3%) foram responsivos e apresentaram edema endometrial e ausência de corpo lúteo condizentes com a fase de estro durante as três estações analisadas, apenas 11,7% (61/521) não foram responsivos, resultados superiores aos de ZÚCCARI et al. (2006) que obtiveram 85,7% de cios induzidos após a segunda dose de PGF2 α , com intervalo de 15 dias entre doses, entretanto estes autores utilizaram apenas parâmetros comportamentais das éguas para classificaram a entrada na fase de estro, entretanto, os autores não avaliaram a influência do clima sobre esta resposta. A tabela 12 mostra a TCIO obtida entre as estações de monta.

Tabela 12. Número de estros responsivos a PGF2 α nas três estações de monta.

Estações	Não responsivo	N° de estros	N° de induções	TCIO (%)
2008/2009	30	119	149	79,9
2009/2010	18	171	189	90,5
2010/2011	14	171	185	92,4
Total	62	461	523	92,4

Quando comparados os valores de temperatura ambiente, umidade relativa do ar e ITU ao número de respostas de estros obtidos em até cinco dias após a administração da prostaglandina, observou-se efeito significativo destas variáveis sobre a ocorrência de cio, como mostra a tabela 13.

Tabela 13. Número de estros responsivos a PGF2 α , em relação as variáveis climáticas.

Temperatura média	Não responsivo	N° deaios	N° de induções	TCIO%
≤22	9	53	62	85,5 ^e
23,0	8	44	52	84,6 ^f
24,0	17	76	93	81,7 ^g
25,0	10	67	77	87,0 ^d
26,0	3	81	84	96,4 ^a
27,0	9	80	89	89,9 ^c
≥28,0	5	59	64	92, ^b
Umidade				
≤56	4	46	50	92,0 ^b
66-67	1	19	20	95,0 ^a
71-75	7	59	66	89,4 ^c
76-80	14	153	167	91,6 ^c
81-85	13	86	99	86,9 ^e
≥86	22	97	119	81,5 ^f
ITU				
≤71	8	55	63	87,3 ^c
72-73	12	50	62	80,6 ^d
74-75	21	111	132	84,1 ^e
76-77	10	133	143	93,0 ^a
≥78	10	111	121	91,7 ^b
Total	61	460	521	88,3

Valores seguidos de letras diferentes entre colunas diferem entre si pelo teste de $\chi^2(p<0,05)$.

Quando se observa um aumento nas temperaturas, há um favorecimento da incidência de cio, enquanto para a umidade a medida que reduziu a TCIO aumentou, o que refleti no ITU, onde maiores ITU relacionaram-se a maiores TCIO, como mostram as figuras 18 e 19.

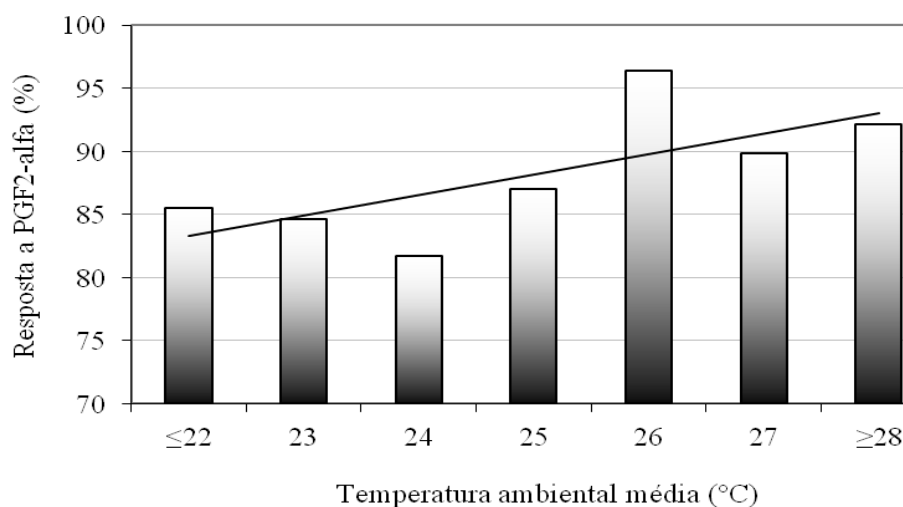


Figura 18. Taxa de resposta a PGF2 α em relação a temperatura ambiental.

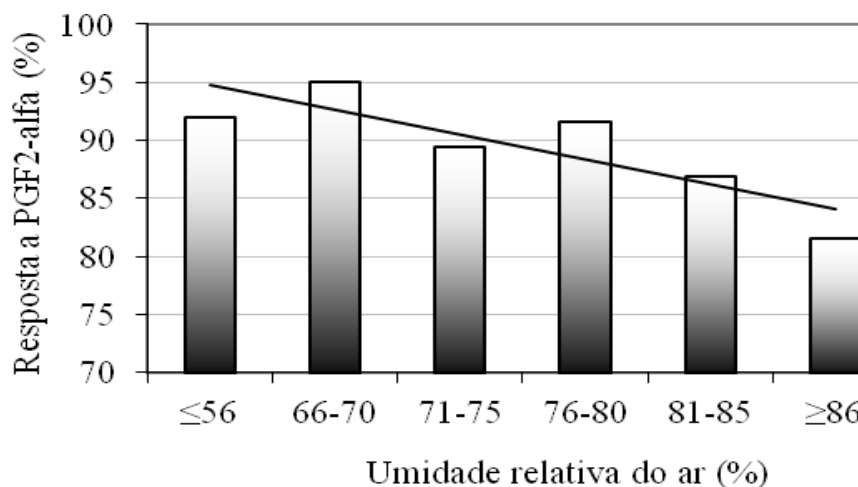


Figura 19. Taxa de resposta a PGF2 α em relação a umidade relativa do ar.

A explicação de como a resposta à PGF2 α foi aumentada em função do estresse térmico pode ser difícil, pois a literatura relata não haver alteração nos níveis plasmáticos de estrógenos em animais de diferentes espécies sob estresse térmico (GIARD et al, 1993; MEDAN, et al 2003, SHIMIZU et al, 2005). Em equinos o tratamento crônico com ACTH não alterou os níveis de estrógeno Dalin et al (2002). Em vacas sob estresse térmico e os níveis de FSH não se alteraram (GIARD et al, 1993). Em porcas, os níveis de inibina aumentaram (MEIDAN, et al 2000), enquanto o número de receptores foliculares para FSH reduziram, porém os níveis de progesterona adrenais e metabolitos de prostaglandinas aumentaram.

Considerações Finais

A presente pesquisa avaliou a relação e não o efeito dos parâmetros climáticos sobre o sucesso reprodutivo de um programa de transferência de embriões em equinos. Os resultados abrem agora uma perspectiva sobre o estudo do clima sobre a reprodução equina que não apenas o fotoperíodo. Estudos da influência do estresse térmico sobre o comportamento reprodutivo, ciclo estral, foliculogênese, ovulação, viabilidade do oócito e desenvolvimento embrionário e fetal já estão bastante avançados em ruminantes e animais de laboratório, que confirmam alterações endócrinas e funcionais no trato reprodutivo em relação ao estresse térmico. Estudos mais aprofundados levando em consideração, variáveis fisiológicas e endócrinas podem elucidar questões prática cotidianas do veterinário de campo, que vem observando que, mesmo em plena estação de monta sob o fotoperíodo intenso do verão, e com todos os fatores técnicos controlados, ainda assim ocorra insucesso nas taxas de recuperação e fixação embrionária durante dias muito quentes, como se tem relatado empiricamente pelos veterinários de nossa região. Estudos associando parâmetros fisiológicos, endocrinológicos, bioclimáticos e reprodutivos devem ser realizados para se conhecer a real influência do estresse térmico durante todas as fases de um programa de transferência de embriões em equinos.

5 CONCLUSÕES

- O aumento da temperatura durante o verão afeta negativamente a taxa de recuperação embrionária.
- Entre as variáveis climáticas avaliadas a temperatura ambiental parece ter maior influência na taxa de recuperação embrionária.
- Sob as condições climáticas da Baixada Fluminense, nos meses de março e abril, o programa de transferência de embriões deve ser maximizado.
- A indução do cio através da PGF2 α exógena foi mais efetiva quando relacionada a altas temperaturas e umidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, T.J.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Aberrant blood flow area and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory. **Biology of Reproduction**, v. 7 (2), p. 637-642, 2004.

ADMAS, G.P.; MATTERI, R.L.; KATELIC, J.P.; KO, J.H.C.; GUINTHER, O.J. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 94, p. 177-188, 1992.

ALVARENGA, M.A.; ALVARENGA; F.C.L.; MEIRA C. Some modifications in the technique used to recover equine embryo. **13rd Internaional Symposium on Equine Embryo Transfer**, Buenos Aires, Argentina. p. 34-35, 1992.

AMBROSE, D.J., DROST, M., MONSON, L.R., RUTLEDGE, J.J., EIBFRIEDRUTLEDGE, L.M., THATCHER, J.M., KASSA, T. BINELLI, M., HANSEN, J.P. CHENOWETH, J.P., THATCHER, W.W. Efficacy of Timed Embryo with Fresh and Frozen In Vitro Produced Embryos to Increase Pregnancy Rates in Heat-Stressed Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2369-2376, 1999.

ALONSO, M.A. Effect of donor mare's age in embryonic loss rate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33 (1), p. 203, 2005.

ARGOV, N., MOALLEM, U., SKLAN, D. Summer heat stress alters the mRNA expression of selective-uptake and endocytotic receptors in bovine ovarian cells. **Theriogenology**, v. 64, p. 475-1489, 2005.

ARRUDA, R.P.; VISINTIN, J.A.; FLEURY, J.J.; GARCIA, A.R.; MADUREIRA, E.H.; CELEGHINI, E.C.C.; NEVES NETO, J.R. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião eqüinos? **Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science**, v. 38, p. 233-239, 2001.

BACK, D.G.; PICKET, B.W.; VOSS, J.L., SEIDEL, G.E. Observations on the sexual behavior of nonlactating mares. **Journal of American Medical Association**, v. 165, p.717-720, 1974.

BALL, B.A. Embryonic death in mares. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (Ed.) **Equine reproduction**. Malvern, Lea & Febiger, p. 517-531, 1993.

BARTOLOMEU, C.C; DEL REI, J.A.; ÁLVARES, G.T.C.; REZENDE, R.G. Influência do estresse térmico sobre a atividade de monta de vacas da raça girolanda no município de Entre Rios/BA. **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia, GO. Anais: Resumos 2005.

BAUMGARTNER, A. P.; CHRISMAN, C. L. Analysis of post-implantation mouse embryos after maternal heat stress during meiotic maturation, **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 84, p. 469-474, 1988.

BELLVÉ, A.R. Development of mouse embryos with abnormalities induced by parental heat stress, **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 35, p. 393-403, 1973.

BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Follicular populations following inhibition of follicle stimulating hormone with equine follicular fluid during early pregnancy in the mares. **Theriogenology**, v. 26, p. 733-747, 1986.

BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 39, p. 781-796, 1993.

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

CAMILO F.; VANNOZZI I.; LUZIO B.D., ROMANGNOLI S., ARIA G.; ALLEN W.R. Successful non-surgical transfer of horse embryos to mule recipients. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 38, p.380-385, 2003.

CARNEVALE, E.M.; RAMIREZ R.J.; SQUIRES E.L.; ALVARENGA .A., VANDERWALL D.K.; MCCUE P.E. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, p. 965 - 979, 2000.

CLAYTON, H.M.; LINDSAY, F.E.F.; FORBES, A.C.; HAY, L.A. Some studies of comparative aspects of sexual behavior in ponies and donkeys. **Applied Animal Ethology**, v. 7, p. 169-174, 1981.

CURTIS, S.E. **Environmental management in animal agriculture Iowa**. Iowa State University Press, 1983.

DAELS P. Embryo transfer tips and tricks. **Proceedings 5th European Veterinary Conference**, Voorjaarsdagen, Amsterdam, p. 213-215, 2007.

DALIN, A. M.; HEDBERG, Y.; ALEXANDERSSON, K.; KINDAHL, H. Tetracosactid (ACTH) treatment of mares in oestrus -effect on the oestrus signs, ovulation and hormone levels. Proc. **8th International Symposium on Equine Reproduction**, July, Fort Collins, USA 2002; p. 515 - 518.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, J.R. Heat Stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. **Theriogenology**, v. 60, p.1139-1151, 2003.

DOBSON, H.; SMITH, F.R. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 743-752, 2000.

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

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.

DONADEU, F.X.; WATSON, E.D. Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. **Animal Reproduction Science**, v. 100, p. 225–242, 2007.

FARINASSO, A.; GUIMARÃES, E. M. Programa de transferência de embriões eqüinos por via transcervical. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões**, Jaboticabal, 1992.

FLEURY, J.J.; PINTO, A.J. ; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. **Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science**, v. 38(1), p. 29-33, 2001.

FLEURY, P.D.C.; ALONSO, M.A.; SOUSA, F.A.C.; ANDRADE A..F.C.; ARRUDA R.P. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 27-31, 2007.

FOREMAN, J.H.; FERLAZZO, A. Physiological responses to stress in the horse. **Pfrideheilkund**, v.12, p. 401-404, 1996.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225–232, 1994.

FORTUNE, J.E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. **Animal Reproduction Science**., v. 78, p. 135-163, 2003.

GARCÍA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, L.J.; NOGAREDA, C.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; DE RENSIS, F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, p. 799-807, 2006.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a mature dominant follicle in mares. **Biology of Reproduction**., v 57, p. 1320-1327, 1997.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; NOGUEIRA, G.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH an LH concentrations an follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v. 53, p. 925-940, 2000.

GESCHWIND, I.I.; DEWEY, R.; HUGUES, J.P.; EVANS, J.W.; STABENFELDT, G.H. Plasma LH levels in the mare during the oestrus cycle. **Suplemento**, v. 23, p. 207-212, 1975.

GILAD, E.; MEIDAN, R.; BERMAN, A.; GRABER, Y.; WOLFENSON, D. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. **Journal of reproduction and fertility**, 99, 315-321, 1993.

GINTHER, O. J. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a 12-month period in mares. **American Journal Veterinary Research**, v. 35, p. 9, 1974.

GINTHER, O.J. **Reproductive and biology of the mare (basic and applied aspects)**. 2.ed. Cross Plains: Equiservices, 1992.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R. Associations between FSH concentrations and major and minor follicular waves in pregnant mares. **Theriogenology**, v. 38, p. 807-821, 1992.

GINTHER, O.J.; GRIFFIN, P.G. Natural outcome and ultrasonic identification of equine fetarwins. **Theriogenology**, v. 41, p. 1193-1199, 1994.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: v. 2, Horses. Cross Plains, WI: **Equiservices Publishing**, 1995.

GINTHER, O.J. Selection of dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. Follicle dynamics and selection in mares. **Animal Reproduction**, v. 1, p. 54-63, 2004a.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R.; BAERWALD, A.R.; PIERSON, R.A. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and woman. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 1195-1201, 2004b.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Incidence, Endocrinology, Vascularity, and Morphology of Hemorrhagic Anovulatory Follicles in Mares **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27 (3), p. 130-139, 2007.

GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A.; WEEB, R. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifer. **Theriogenology**, v. 45, p. 611-622, 1996.

GORETTI, R.G. **Colheita de embriões equinos 48 hs após a aplicação de luteolítico: parâmetros reprodutivos, concentração sérica de progesterona e proteínas do fluido uterino**. 2005. 42f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

GROSS, T. S.; PUTNEY, D. J. ; BAZER, F. W.; THATCHER, W. W. Effect of in-vitro heat stress on prostaglandin and protein secretion by endometrium from pregnant and cyclic gilts at Day 14 after oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.85, p. 541 – 550, 1989.

GRUNERT, E., BIRGE, H.E., VALE, G.W. Patologia clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. São Paulo: **Livraria Varela**. 2005.

GUTHRIE, A.J.; LUND, R.J. Thermoregulation in fluids and electrolytes in the athletic horse. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 14, p. 45-59, 1998.

GUZELOGLU, A.; AMBROSE, D.J.; KASSA, T.; DIAZ, T.; THATCHER, J.M.; THATCHER, J.J. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. **Animal Reproduction Science**. v. 66, p.15-34, 2001.

- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Functional anatomy of reproduction. In: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animals**. 7 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 1-68, 2000.
- HAHN, G.L.; MADER, T.L.; GAUGHAN, J.B.; HU Q.; NIENABER, J.A. Heat waves and their impacts on feedlot cattle, paper presented at the 15th Intl. Congr. Biometeorology, Sydney, NSW, Australia, November 9, 1999. **The discomfort index**. Weatherwise, v.2, p. 57-60, 1959.
- HANDLER, J.; AURICH, J.E. Physiologie des sexualzyklus der stute. In: AURICH, C. (Ed). **Reproduktionsmedizin beim Pferd**. Stuttgart: Parey Verlag, p. 15-29, 2005.
- HANSEN, J.P.; ARÉCHIGA, F.C. Strategies for Managing Reproduction in the Heat-Stressed Dairy Cow. **Journal of Animal Reproduction**, v. 77, 1999.
- HANSEN, J.P.; DROST, M.; RIVERA, M.R.; PAULA-LOPES, F.F.; ALKATANANI, M.Y.; KRININGER III, E.C.; CHASE, C.C. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, v. 55, p. 91-103, 2001.
- HANSEN, J.P. Managing the Heat-Stressed Cow to Improve Reproduction. **Proceedings of the 7 th Western Dairy Management Conference**. P. 9- 11, 2005.
- HUGHES, J.P.; STABENFELD, G.H.; EVANS, J.W. Estrus cycle and ovulation in the mare. **American Journal Veterinary Research**, v. 161, p. 1367-1374, 1972.
- HULSHOF, S.C.J.; FIGUEIREDO, J.R.; BECKERS, J.F.; BEYERS, M.M.; VAN DER DONK, J.A.; VAN DEN HURK, R. Effects of fetal bovine serum, FSH, and 17 β - estradiol on the culture of bovine preantral follicles. **Theriogenology**, v. 4, p. 217-226, 1995.
- HURTGEN J.P. Management of embryo donor mares with chronic infertility. **Proceedings 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, San Diego, California, p. 414-417, 2008.
- HYTTEL, P.; CALLESEN, H.; GREVE, T.; SCHMIDT, M. Pocte maturation and spermtransport in superovulates cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 91-108, 1991.
- HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H.; GREVE, T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 23-32, 1997.
- IMEL, K. J.; SQUIRES, E. L.; ELDEN, R. P.; SHIDELER, R. K. Collection and transfer of equine embryos. **Journal of Animal Veterinary Medical Association**, v. 179 (10), p. 987-991, 1981.
- IULIANO, M. F.; SQUIRES, E. L. Pregnancy rates after transfer of 7 or 8 day - old quine embryos either surgically or non-surgically. **heriogenology**, v. 10 (1), p. 134, 1983.
- IULIANO M.F.; SQUIRES E.L.; COOK V.M. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. **Journal of Animal Science**, v.60, p. 258-263, 1985.

JACOB, J.C.F; DOMINGUES, I.B.; GASTAL, E.L. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 57, p. 545, 2002.

JACOB, J.C.F; GASTAL, E.L; GASTAL, M.O.; CARVALHO, G.R.; BEG M.A.; GINTHER, O.J. Temporal relationships and repeatability of follicle diameters and hormone concentrations within individuals in mares. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 92-99, 2009.

JACOB, J.C.F.; SANTOS, G.O.; OLIVEIRA, J.P.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. Evaluation of reproductive parameters in a commercial equine embryo transfer program, **Animal Reproduction Science**, v. 12, p. 305-306, 2010.

JASKO, D.J. Comparison of pregnancy rates following nonsurgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. **Theriogenology**, v.58, p.713-715, 2002.

JOHNSON, H.D.; VANJONACK, W.J. Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.59, n.9, p.1603-17, 1976.

JORDAN E.R. Effects of heat stress on reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p.104-114, 2003.

JUENGL, J.L.; BBY, A.H.; READER, K.L.; LUN, S.; QUIRKE, L.D.; HAYDON, L.J.; MACNATTY, K.P. The role of transforming growth factor-beta (TGF-beta) during ovarian follicular development in sheep. **Reproductive Biology and Endocrinology.**, v. 25, p. 78, 2004.

JU, J.C. Cellular responses of oocytes and embryos under heat stress: hints to molecular signaling. **Animal Reproduction**,v. 2 (2), p.79-90, 2005.

LINDINGER, M.I. Exercise in the heat: Thermoregulatory limitations to performance in humans and horses. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 24 (2), p. 152-13, 1999.

LINDINGER, M.I. Heat acclimation improves regulation of plasma volume and plasma sodium content during exercise in horse. **Journal of Applied Physiology.**, v.88 (3), p. 1006-1013, 2000.

LIRA, R.A.; PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, A.R. Transferência de Embrião em Equinos: Revisão. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 3(4). p. 132-140, 2009.

LOPES, E.P. **Parâmetros reprodutivos de eguas Mangalarga Marchador em projeto comercial de transferência de embriões.** 2004. 40f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

LOSINNO, L.; ALVARENGA, M.A. Critical factors on equine embryos transfer programs in Brazil and Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 39-49, 2006.

- LU, C.D. Effects of heat stress on goat reproduction. **Small Ruminants Research**, v. 2, p. 151-162, 1989.
- MARAI, I.F.M.; EL-DARAWANY, A.A.; FADIEL, A. Physiological traits as affected by heat stress in sheep – A review. **Small Ruminants Research**, v. 71, p. 1-12, 2007.
- MCCUE, P.M. Superovulation. **Veterinary Clinics of North America-Equine Practice.**, v. 12, p. 1-11, 1996.
- MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v. 29, p.1055-1063, 1988.
- MCKINNON A.O.; SQUIRES E.L.. Embryo transfer and related technologies,. In: **Current Therapy Equine Reproduction**. Saunders, Missouri, 2007, p.319-334.
- MCCONAGHY, F.F. Thermoregulation. In: HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. *The Athletic Horse*. **Oxford: WB Sawnders**,1994, 497.
- MCCUTCHEON, L.J.; GEOR, R.J. Influence of training on sweating responses during sub maximal exercise in horse. **Journal of Applied Physiology.**, v.89(6), p. 2463-2471, 2000.
- MEDAN, M.S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; SHARAWY, S.; GROOME, N.P.; TAYA, K. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 57 – 63, 2003.
- MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTEL, P.; KNIGHT, P.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 116, p. 293-304, 1999.
- MIHM, M.; AUSTIN, E.J.; GOOD, T.E.M.; IRELAND, J.L.H.; KNIGHT, P. G.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Identification of Potencial Intrafollicular Factors Involves in Selection of Dominant Follicles in Heifers. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 811-819, 2000.
- MOBERG, R. Investigations concerning the occurrence of early embrionic death in the mare. **proceedings of international congress on animal reproduction and artificial insemination**, p. 1585-1587., 1968.
- MONTY D.E.J.R.; RACOWSKY C. In vitro evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed, superovulated dairy cattle. **Theriogenology**, v.28 (4) 1987.
- MOREIRA, J.L.P. Temporada de coberturas. In: CONGRESSO NACIONAL DE CRIADORES DE CAVALOS DE CORRIDA, 1, 1983, São Paulo. *Anais...*, São Paulo: Sociedade de Criadores e Proprietários de Cavalos de Corrida de São Paulo, 1983. p.65-93.
- MORGAN, K. Short-term thermoregulatory responses of horses to brief changes in ambient temperature. **Swedish University of Agricultural Sciences** Department of Agricultural Engineering, Uppsala, p, 09-51, 1996.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Science**, v. 60–61, p. 245–262, 2000.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Non-surgical recovery of equine eggs, and attempt at non-surgical egg transfer in horses. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.31(2), p. 187-195, 1972.

OSBORNE, V. An appraisal of the efficiency of the official months of the thoroughbred and standardbred stud season in Australia. In: **International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination**, 6, 1968, Paris. *Proceedings...* Paris: s.d., 1968. v.2, p. 1593-1595.

PALUDO, G.R.; McMANUS, C.; MELO, R.Q.; CARDOSO, A.G; MELLO, F.P.; MOREIRA M.; FUCK, B.H. Efeito do estresse térmico e do exercício sobre parâmetros fisiológicos de cavalos do exercito brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p. 1130-1142, 2002.

PEREIRA, C.C.J. Fundamentos de Bioclimatologia Aplicados à Produção Animal. Belo Horizonte: **FEPMVZ**, 2005

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. **Theriogenology**, v.24, p.359-68, 1985.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic evaluation of the pre-ovulatory follicle in the mare. **Animal Reproduction Science.**, v. 14, p. 219-231, 1987.

PUTNEY D.J.; DROST M.; THATCHER W.W. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 post insemination. **Theriogenology**, v. 30(2), p. 195-209, 1988.

QUINLAN, J.; RENSBURG, S.W.J.; STEYN, H.P. The oestrous cycle of the mare when maintained under stabled conditions with restricted exercise at Onderstepoort. **Animal Breeding Abstracts**, p. 19, 1951.

RIBEIRO, L.B.; FURTADO, TONELLO, C. L. ; BRAND, O. R. B.R. A.. Índices Bioclimatológicos e Parâmetros Fisiológicos de Equinos Confinados Recebendo Volumosos de Diferentes Qualidades Nutricionais. **Revista da FZVA. Uruguiana**, v.16, n.1, p. 144-159. 2009

RIERA, F.L.. Equine embryo transfer, p.229-246. In: SAMPER J.C. (Ed.) Equine breeding and management and artificial insemination. **Saunders Company**, Pennsylvania. 2000.

RIERA, F.L; VAN DELFT, T.V.A.F. **Effect of climate on the success of an equine embryo transfer program** Doctoral thesis Faculty of Veterinary Medicine Theses (2009). Faculty of Veterinary Medicine Theses (2009) <http://igitur-archive.library.uu.nl/student-theses/2009-0617-200350/UUindex.html>

RIVIER, C.; RIVEST, S. Effect of stress on the activity of the Hypothalamic- Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms. **Biology of Reproduction**. V. 45, p. 523-532, 1991.

ROTH, Z.; MEIDAN, R.; BRAW-TAL, R.; WOLFENSON, D. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 120, p. 83 – 90, 2000.

RYAN, P.D.; PRICHARD, F.J.; KOPEL, E.; GODKE, A.R. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology*, v. 39(3), p. 719-37, 1993.

SHARP, D.C. Environmental influence on reproduction in horses. **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 2, p.207-223, 1980.

SHIMIZU, T; OHSHIMA, I.; OZAWA, M.; TAKAHASHI, S.; TAJIMA, A.; SHIOTA, M.; MIYAZAKI, H. KANAI, Y. Heat stress diminishes gonadotropin receptor expression and enhances susceptibility to apoptosis of rat granulosa cells, **Reproduction**, v. 129, p. 463-472, 2005.

SILVA, R.G. Zoneamento bioclimático para animais de interesse zootécnico. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia, **Anais...Goiânia: SBZ, 2005. v.1, p.388-394.**

SIRIOS, J.; BALL, B.A.; FORTUE, J.E. Patterns of growth and regression of ovarian follicles during the estrus cycle and after hemiovariectomy in mares. **Equine Veterinary Journal**, suppl. 8, p. 43-48, 1989.

SQUIRES, E.L.; SEIDEL, S.G. Superovulation in collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction**, n. 8, p. 32-38, 1995a.

SQUIRES, E.L.; SEIDEL, G.E. Collection and transfer of equine embryos. *Animal Reproduction Biotechnology Laboratory Bulletin. Colorado State University, Fort Collins*, 397, 1995b.

SQUIRES, E.L.; McCUE, P.M.; VANDERWALL, D.K. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.51, p. 91-104, 1999.

SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M.; McCUE, P.M.; BRUEMMER, J.E. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, v. 59, p. 151-174, 2003.

STARR, J.R. **Climate and the need for housing**. The Environmental Aspects of Housing for Animal Production, J. Clark (Ed.), Butterworths, London (1981), p. 19–35.

TAVEIROS, A.W. **Transferência de embriões equinos da raça Mangalarga Machador**. 2000. 40f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

- TAVEIROS, A.W.; MOTTA MELO, P.R.; NETO, L.M.F.; FILHO, C.R. A.; SILVA, A.C.J; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L.. Produção de embriões de éguas Mangalarga Marchador utilizadas nas Regiões Nordeste e Sudeste do Brasil. **Medicina Veterinária**, Recife, v.2 (3) p.19-24, 2008.
- THOM, E.C. The discomfort index. **Weatherwise**, v. 12, p. 57–60, 1959.
- TITTO, E.A.L. Taxa de sudação e composição mineral do suor de equins das raças Bretão, Anglo-árabe e Mangalarga. **Ars Veterinária**. v. 14: (3), p. 264-272, 1998.
- TRUM, B.F. The estrous cycle of the mare. **Cornell Vet.**, v. 40, p. 17-23, 1950.
- WATSON, E.D.; AL-ZI'ABI, M.O. Characterization of morphology and angiogenesis in follicles of mares during spring transition and the breeding season. **Reproduction**, v. 124, p. 227–234, 2002.
- WATSON, E.D.; BAE, S.E.; STEELE, M.; THOMASSEN, R.; PEDERSEN H.G., BRAMLEY, T.; HOGG, C.O.; ARMSTRONG, D.G. Expression of messenger ribonucleic acid encoding for steroidogenic acute regulatory protein and enzymes, and luteinizing hormone receptor during the spring transitional season in equine follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 26, p. 215–230, 2004.
- WEBB, R.; CAMPBELL, B.K.; GARVERICK, H.A.; GONG, J.G.; GUTIERREZ, C.G.; ARMSTRONG, D.C. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 24, p. 33-48, 1999.
- WEST, W.J. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 77 (2), p. 21-35, 1999.
- WETTEMANN, R.P.; BAZER, F.W.; THATCHER, W.W.; HOAGLAND, T.A.; Environmental influences on embryonic mortality. **Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. & A.L**, Urbana-Champaign, v. 5(13), p. 26-32, 1984.
- WILSON, J. M.; ROWLEY, W. K.; SMITH, H. A. Successful non-surgical transfer of equine embryos to post-partum lactating mares. **Theriogenology**, v. 27(1), p. 295, 1987.
- WILSON, J.S.; MARION, S.R.; SPAIN, N.J.; SPIERS, E.D.; KEISLER, H.D.; LUCY, C.M. Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. 1. Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2124-2131, 1998.
- ZUCCARI, C.E.S.N.; DE PAULA, F.A.L.; FERREIRA, C.S.; NUNES, D.B.; COSTA E SILVA, E.V. Comportamento a rufiação de éguas mestiças submetidas a diferentes protocolos de sincronização de cio. **Revista de Etologia**, v. 8, p.45-50, 2006.