

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE EMBRIÕES EQUINOS COLETADOS NA TEMPORADA 2018/2019

ANDREZ PASTORELLO BOHN<sup>1</sup>; ARNALDO DINIZ VIEIRA<sup>2</sup>; RAFAEL GIANELLA MONDADORI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – andrezbohn@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – vieira\_ad@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Desde o nascimento do primeiro produto oriundo de transferência de embriões (TE) em equinos (Oguri e Tsutsumi, 1974), a técnica vem sendo largamente estudada na espécie. Tradicionalmente a TE era utilizada para se obter prenhez de éguas subférteis, atualmente seu principal uso é para aumentar o número de descendentes de éguas consideradas de alto valor zootécnico. Importa ressaltar que o número de produtos oriundos da mesma égua por temporada é limitado pelas associações e regulamentos próprios de cada raça.

Uma das principais vantagens da coleta de embriões é a possibilidade de criopreservar as estruturas, porém, devido a características específicas do embrião equino, atualmente seu uso é limitado na espécie (Squires e Mccue, 2016). Embriões recuperados a partir do sétimo dia após a ovulação (D7) tem um diâmetro >300 µm e apresentam uma membrana glicoproteica (cápsula) no espaço perivitelínico. Tais características dificultam o processo de criopreservação pelo fato de que o processo depende da substituição de boa parte da água por crioprotetor, o que é dificultado pelo grande volume da blastocele e a baixa permeabilidade da cápsula (Scott *et al.*, 2012).

Desta forma, vem sendo estudadas alternativas para reduzir o volume da blastocele, porém, até a presente data, a dependência de equipamentos de alto custo, restringem sua aplicabilidade. Nesse sentido, os dados aqui apresentados se referem a estruturas coletadas visando o estudo de uma técnica que permita a manipulação embrionária em condições de campo, com redução de custo.

### 2. METODOLOGIA

As coletas foram realizadas de 22/10/2018 a 20/03/2019. Os embriões foram recuperados de 15 doadoras, com idade entre 2 e 19 anos. Foram realizadas de uma a cinco coletas de cada égua. Os animais tiveram o ciclo estral monitorado através de ultrassonografia transretal. No momento que foi detectado a presença de um folículo com diâmetro  $\geq 35$  mm associado a edema uterino característico da fase estrogênica, os animais receberam uma dose de 750 µg de acetato de deslorelina (análogo de GnRH) ou 1000 UI Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), para indução de ovulação. Em seguida, as fêmeas foram inseminadas com sêmen refrigerado ( $5 \times 10^8$  espermatozoides). A ovulação foi considerada o dia 0 (D0) de desenvolvimento do provável zigoto. No D8, as doadoras foram submetidas ao processo de lavagem uterina pela via transcervical para coleta dos embriões em sistema fechado (Scott *et al.*, 2012). Após a coleta as estruturas foram avaliadas em um estereomicroscópio com ocular graduada, onde a estrutura foi medida e foram determinados o estágio de desenvolvimento e

qualidade, segundo (Slade *et al.*, 1985), sendo grau 1 excelente e grau 5 degenerado.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 01. Recuperação embrionária através de lavado uterino dividida por doadora

ÉGUA	01	02	03	04	05	06	07	08
COLETAS (n)	2 NEG*	1 POS# 1 NEG	1 POS 2 NEG	3 POS	1 POS 1 NEG	1 NEG	1 POS	3 POS 2 NEG
ÉGUA	15	20	24	25	59	99	127	-
COLETAS (n)	3 POS 2 NEG	2 POS 3 NEG	2 POS 3 NEG	2 POS 3 NEG	2 POS 1 NEG	2 POS 2 NEG	1 POS 2 NEG	-
TOTAL DE LAVADOS								49

\*NEG – Coleta que não resultou na obtenção de embrião

#POS – Coleta que resultou na obtenção de embrião

Conforme pode ser observado na Tabela 01, do total de 49 lavados, 24 (48,97%) resultaram em recuperação embrionária, com embriões de tamanho variando entre 300 µm a 1560 µm, com média de 720 µm e mediana de 720 µm. Desse total, 22 foram blastocistos expandidos (Bx) com média de 720 µm, um blastocisto inicial (Bi) com 180 µm e um blastocisto (Bl) com 240 µm. Quanto à qualidade, 20 embriões foram grau 1 e quatro embriões grau 2. Os embriões coletados apresentaram menor tamanho médio e menor variação que as descritas por Squires, 1985, que relataram diâmetro entre 120 a 4000 µm.

Relatos anteriores (Iuliano *et al.*, 1985) observaram embriões com 1368 µm de média, com diâmetro entre 369 a 3980 µm, ficando acima da média do presente trabalho. Embriões com 623 µm de média (McCue *et al.*, 2010) e 660 µm (Panzani *et al.*, 2016), recuperados no D8 tiveram médias aproximadas ao presente trabalho, similar aos dados de (Diaz *et al.*, 2018). Os diâmetros de Bi e Bl que descrevemos, se assemelham aos valores encontrados por McCue, 2010.

### 4. CONCLUSÕES

Os embriões recuperados no presente trabalho, estão sendo submetidos a micromanipulação manual para colabamento da blastocele, e então vitrificados. Essas estruturas serão aquecidas e transferidas em éguas receptoras, para avaliar a viabilidade desses embriões submetidos ao processo.

Concluimos com estes dados que o tamanho e qualidade dos embriões coletados corroboram com o descrito na literatura, sendo que as variações apresentadas podem ser devido a diferença de tamanho das raças utilizadas em cada trabalho, como também pequenas diferenças no tempo decorrido da ovulação até a coleta. Assim sendo, as estruturas são apropriadas para a realização do experimento proposto.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIAZ, F. A. et al. Pregnancy Rates Following Low-Temperature Storage of Large Equine Embryos Before Vitrification. v. 64, p. 12-16, 2018. ISSN 0737-0806.

IULIANO, M. F.; SQUIRES, E. L.; COOK, V. J. J. O. A. S. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. v. 60, n. 1, p. 258-263, 1985. ISSN 0021-8812.

MCCUE, P. M. et al. Embryo recovery procedures and collection success: results of 492 embryo-flush attempts. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP, 2010. p.318-321.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. J. R. Non-surgical egg transfer in mares. v. 41, n. 2, p. 313-320, 1974. ISSN 0022-4251.

PANZANI, D. et al. Factors affecting recipients' pregnancy, pregnancy loss, and foaling rates in a commercial equine embryo transfer program. v. 37, p. 17-23, 2016. ISSN 0737-0806.

SCOTT, B. R. et al. Evaluation of capsule permeability in the equine blastocyst. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 12, p. 795-798, 2012. ISSN 0737-0806.

SLADE, N. P. et al. A new procedure for the cryopreservation of equine embryos. **Theriogenology**, v. 24, n. 1, p. 45-58, Jul 1985. ISSN 0093-691X (Print) 0093-691x.

SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M. Cryopreservation of Equine Embryos. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 41, p. 7-12, 2016. ISSN 07370806.

SQUIRES, E. L. J. B. A. R. L. Collection and transfer of equine embryos. 1985.