

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**FABÍOLA FREIRE ALBRECHT**

**DINÂMICA FOLICULAR E LUTEAL EM ÉGUAS DE DIFERENTES PORTES**

**Porto Alegre  
2018**

#### CIP - Catalogação na Publicação

Albrecht, Fabíola Freire  
Dinâmica Folicular e Luteal em Éguas de Diferentes  
Portes / Fabíola Freire Albrecht. -- 2018.  
56 f.

Orientador: Ricardo Macedo Gregory.

Coorientadora: Adriana Pires Neves.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto  
Alegre, BR-RS, 2018.

1. éguas. 2. ciclo estral. 3. folículos. 4.  
comparação. 5. divergência. I. Gregory, Ricardo  
Macedo, orient. II. Neves, Adriana Pires, coorient.  
III. Título.

**FABÍOLA FREIRE ALBRECHT**

**DINÂMICA FOLICULAR E LUTEAL EM ÉGUAS DE DIFERENTES PORTES**

Tese apresentada ao PPG em Medicina Animal: Equinos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Medicina Animal: Equinos

Orientador: Dr. Ricardo Macedo Gregory

Coorientadora: Dra. Adriana Pires Neves

**Porto Alegre  
2018**

**FABÍOLA FREIRE ALBRECHT**

**DINÂMICA FOLICULAR E LUTEAL EM ÉGUAS DE DIFERENTES PORTES**

Tese apresentada ao PPG em Medicina Animal: Equinos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Medicina Animal: Equinos.

Orientador: Dr. Ricardo Macedo Gregory

Coorientadora: Dra. Adriana Pires Neves

Tese de doutorado defendida e aprovada em 16 de abril de 2018

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Eduardo Malschitzky  
ULBRA

---

Prof. Dr. Henrique Boll de Araújo Bastos  
UFRGS

---

Profa. Dra. Sandra Mara Fiala Rechsteiner  
UFPEL

## **AGRADECIMENTO**

Aos meus orientadores, minha sincera gratidão pela confiança e carinho.

Aos meus pais e irmão, por fazerem tudo valer a pena.

Ao meu querido (e paciente) marido.

Aos professores, colegas e amigos do REPROLAB e

À UFRGS, por mais uma vez me receberem em casa.

Aos animais, meu respeito e gratidão por me ensinarem o que é ser Médica Veterinária.

A quem olha por nós, seja qual for Seu nome ou forma.

Olhe para as estrelas e não para baixo. Tente entender o que você vê e imagine o que deve fazer o Universo existir. Seja curioso.

Stephen Hawking

## RESUMO

Comparações da dinâmica ovariana entre mais de duas raças equinas, sob condições padronizadas, não são encontradas na literatura. Objetivando comparar a dinâmica folicular e luteal, foram realizados exames diários de ultrassonografia durante um intervalo interovulatório contemporâneo, em éguas de pequeno porte (grupo Mini Pony – MP; n=10), médio porte (grupo Large Pony – LP; n=9) e grande porte (grupo Brasileiro de Hipismo – BH; n=12). Concluiu-se que os três grupos diferiram quanto ao máximo diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) (mm) (MP=36,15; LP=40,95; BH=46,66), diâmetro do FPO um dia antes da ovulação (mm) (MP=35,8; LP=40,55; BH=46,48) e crescimento diário médio do FPO (mm/dia) (MP=2,6; LP=3,05; BH=3,51). O grupo MP diferiu dos demais quanto ao número de folículos por onda ovulatória (MP=4,8; LP=10,11; BH=9,75), número de folículos por dia (MP=4,19; LP=10,27; BH=10,63), número de folículos maiores ou iguais a 10mm (MP=2,98; LP=5,88; BH=5,98), diâmetro do FPO à divergência (mm) (MP=22,62; LP=24,81; BH=25,58), diâmetro do segundo maior folículo à divergência (SMF) (mm) (MP=15,56; LP=21,25; BH=21,83), diferença de diâmetro entre FPO e SMF à divergência (mm) (MP=7,25; LP=3,56; BH=3,75) e área do corpo lúteo (CL) (mm<sup>2</sup>) (MP=436,1; LP=674,4; BH=720,4). Não houve diferença entre os grupos quanto à duração do ciclo (dias) (MP=21,9; LP=20,22; BH=20,58), ocorrência de divergência (MP=80%; LP=88,89%; BH=100%), dias decorridos entre a emergência do FPO e SMF (MP=0,8; LP=0,89; BH=0,92) e diferença de diâmetro entre estes na emergência (mm) (MP=0,4; LP=0,44; BH=0,5) e na divergência (mm) (MP=7,25; LP=3,56; BH=3,75); dias entre emergência e divergência (MP=5,12; LP=5,5; BH=5,5) e divergência e ovulação (MP=7,12; LP=6,62; BH=6,8), número de ondas menores (MP=0,3; LP=0,33; BH=0,42) e duração do CL (dias) (MP=12,4; LP=14,67; BH=13,92).

Palavras chave: éguas, ciclo estral, folículos, comparação, divergência

## ABSTRACT

Comparisons of ovarian dynamics between more than two equine breeds, under standardized conditions, are not found in the literature. The objective of this study was to compare follicular and luteal dynamics during one contemporary interovulatory interval by daily ultrasonography examinations in small size mares (Mini Pony group - MP; n=10), medium size (Large Pony group - LP; n=9) and large size (Brazilian Warmblood group - BH; n=12). It was concluded that all three groups differed regarding maximum diameter of the preovulatory follicle (POF) (mm) (MP=36.15; LP=40.95; BH=46.66), maximum diameter of POF one day before ovulation (mm) (MP=35.8; LP=40.55; BH=46.48) and the mean daily growth of POF (mm / day) (MP=2.6; LP=3.05; BH=3.51). The MP group differed from LP and BH groups regarding number of follicles per ovulatory wave (MP=4.8; LP=10.11; BH=9.75), number of follicles per day (MP=4.19; LP=10, 27; BH=10.63), number of follicles equal or greater than 10mm (MP=2.98; LP=5.88; BH=5.98), diameter of POF at deviation (mm) (MP=22.62; LP=24.81; BH=25.58), diameter of second largest follicle (SLF) at deviation (MP=15.56; LP=21.25; BH=21.83), diameter difference between FPO and SLF at deviation (mm) (MP=7.25; LP=3.56; BH=3.75), corpus luteum (CL) area (mm<sup>2</sup>) (MP=436.1; LP=674.4; BH=720.4). There was no difference between groups regarding cycle length (MP=21.9; LP=20.22; BH=20.58), occurrence of deviation (MP=80%; LP=88.89%; BH=100%), days between emergence of POF and SLF (MP=0.8, LP = 0.89, BH = 0.92), and diameter difference between POF and SLF at emergence (mm) (MP=0.4; LP=0.44; BH=0.5) and at deviation (mm) (MP=7.25; LP=3.56; BH=3.75); days between emergence and deviation (MP=5.12; LP=5.5; BH=5.5), deviation and ovulation (MP=5.12; LP=6.62; BH=6.8), number of minor waves (MP = 0.3; LP = 0.33; BH = 0.42) and CL lifespan (days) (MP=12.4; LP=14.67; BH=13.92).

Keywords: mares, estrous cycle, follicles, comparison, deviation



## LISTA DE FIGURAS

Figure 1 – Dominant follicles in mares of group BH.....	28
Figure 2 – Correlations between height and weight of mares and sizes of POF and CL .....	30
Figure 1 – Follicle deviation in Brazilian Pony Mares .....	40

## LISTA DE TABELAS

Table 1 – Mean height, weight and age of mares in each group .....	25
Table 2 – Results by cycle event in groups MP (Minipony),LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood) .....	26
Table 3 – Results for number and size of follicles in group MP (Minipony), LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood) .....	27
Table 4 – Results for area and lifespan of corpora lutea (CL) in groups MP (Minipony), LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood).....	29
Table 5 – Values for r and p and type of correlations between height, weight and maximum diameter of POF and mean area of CL .....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMHA – American Mini Horse Association  
BH – Brazilian Sport Horse  
BP – binding protein  
BW – body weight  
CL – corpo lúteo  
cm – centímetro  
FEI – Federação Equestre Internacional  
FPO – folículo pré-ovulatório  
FSH – hormônio folículo estimulante  
ft – feet  
g - grama  
GnRH – hormônio liberador de gonadotrofinas  
°C – graus Celsius  
h – hora  
IGF-1 – fator de crescimento semelhante à insulina 1  
IGFBP – proteína ligante de fator de crescimento semelhante à insulina  
INMET – Instituto Nacional de Meteorologia  
IOI – interovulatory interval  
Kcal - quilocaloria  
Kg – quilograma  
LH – hormônio luteinizante  
LP – large pony  
m – metro  
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
mg – miligrama  
min – minuto  
mm – milímetro  
mm<sup>2</sup> – milímetro quadrado  
MP - minipony  
PGF<sub>2</sub>α- prostaglandina F 2α  
POF – preovulatory follicle  
PV – peso vivo

rh-IGF 1 – fator de crescimento semelhante à insulina 1 recombinante-humano

r – coeficiente de correlação produto dos momentos de Pearson

SLF – second largest follicle

SMF – segundo maior folículo

VEGF – fator de crescimento endotelial

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1	Definição de minipônei, pônei e cavalo.....	15
2.2	Foliculogênese e luteogênese em éguas.....	16
<b>4</b>	<b>ARTIGOS.....</b>	<b>22</b>
4.1	Artigo 1.....	22
4.2	Artigo 2.....	38
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>48</b>
	Apêndice A.....	49
	Apêndice B.....	50
	Apêndice C.....	51
	Apêndice D.....	52
	Apêndice E.....	53
	Apêndice F.....	54
	Apêndice G.....	55

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2016), o Brasil conta com o maior rebanho equino da América Latina e o quarto maior do mundo, contabilizando mais de cinco milhões de cabeças e empregando direta e indiretamente mais de três milhões de pessoas. Envolvendo mais de trinta segmentos divididos entre insumos, criação e destinação final, o Complexo do Agronegócio Cavalos (MAPA, 2016) movimentou cerca de 16,15 bilhões de Reais por ano.

O mercado equestre, hoje em dia, não se limita apenas aos esportes hípicos e exposições, mas também tem importante papel social, por ser a equitação considerada um entretenimento, e também pela equoterapia, ramo da terapia assistida por animais, definida como método terapêutico e educacional que emprega o cavalo para o ajuste biopsicossocial de pessoas portadoras de deficiência ou necessidades especiais. Apenas nas atividades diárias agropecuárias, mais de três milhões de equinos são utilizados (MAPA, 2016). Em virtude da importância histórica, econômica e social já consolidada, os eqüinos vêm sendo objetos de estudo nas mais diversas áreas – da etologia às pesquisas com abordagens interespecíficas (GINTHER, 2012; ADAMS et al., 2012).

Ainda, e não menos importante, constante interesse no campo da ginecologia humana tem sido despertado em virtude de algumas semelhanças entre estas duas espécies monovulatórias (CARNEVALE, 2008; GINTHER et al., 2012; ADAMS et al., 2012). Tais estudos podem ajudar a elucidar vários aspectos ainda não bem compreendidos, como a gradual e progressiva perda de fertilidade com o avançar da idade, relacionada a senescência ovariana e decréscimo na qualidade de oócitos que foram mantidos quiescentes por décadas, tanto na espécie humana quanto na equina; dentre outros pontos, estão os padrões de ondas ovulatórias e anovulatórias que são semelhantes em ambas as espécies, sendo a égua um excelente modelo de pesquisa por apresentar trato reprodutivo de fácil acesso e manipulação, e tamanho de folículo pré-ovulatório cerca de duas vezes o daquele encontrado na mulher, assim facilitando o estudo e tratamento intrafoliculares (CARNEVALE, 2008).

A dinâmica folicular e o perfil hormonal reprodutivo nas éguas são estudados há quase cinco décadas (GINTHER et al., 2008; GINTHER, 2017). A compreensão em profundidade dos fenômenos que regem as dinâmicas folicular e hormonal – em especial os hormônios reprodutivos FSH, LH, Estradiol e Progesterona – fornece

maior entendimento dos fatores que determinam a sazonalidade reprodutiva da égua, e dos eventos que culminam com a dominância folicular e ovulações duplas. Biotécnicas da reprodução, como inseminação artificial, transferência de embriões, criopreservação de gametas e embriões, entre outras, acenam com o nascimento de mais potros por temporada, o que concorda com um mercado ávido por produtos nascidos cada vez mais cedo no ano hípico. Para tanto, é preciso otimização e maior aproveitamento da reprodutora ao longo do ano; isto exige a necessidade de conhecimentos cada vez mais aprimorados sobre sua fisiologia reprodutiva.

Em um contexto onde várias raças são comercializadas, a estatura e peso corporal dos animais variam grandemente. No processo de formação das raças, as altas pressões de seleção artificial podem modificar alguns aspectos das funções dos sistemas orgânicos, inclusive o reprodutor (KIM et al., 2014), como dimensões do folículo pré-ovulatório e dinâmica hormonal.

Comparações da dinâmica folicular e luteal entre raças apresentando diferença de peso e altura foram extensivamente estudadas (PALMER, 1987; DIMMICK et al., 1993; NEWCOMBE, 1994; BERGFELT e GINTHER, 1996; GASTAL et al., 2008); porém, comparações contemporâneas entre mais de duas raças, realizadas por um mesmo examinador, em uma mesma localidade geográfica e com manejo idêntico para todos os animais, não são encontradas na literatura ou em relatos anedóticos. Comparações da dinâmica folicular e luteal de éguas de diferentes portes, quando avaliadas sob as mesmas condições e durante o mesmo intervalo de tempo, são requeridas e incentivadas (DIMMICK et al., 1993; BERGFELT e GINTHER, 1996; GASTAL et al., 2008a).

O presente trabalho propõe a comparação da dinâmica folicular e luteal em éguas de pequeno, médio e grande porte sob condições padronizadas de local e manejo, utilizando exames de palpação retal e ultrassonográficos diários realizados pelo mesmo examinador durante um intervalo interovulatório contemporâneo. Objetivou-se a caracterização e comparação da duração do intervalo interovulatório; quantidade e tipo de ondas foliculares; época de emergência e divergência da onda ovulatória; diâmetros dos folículos dominante e subordinado; quantidade de folículos; área e duração do corpo lúteo e relação entre tamanho corporal e tamanhos do folículo pré-ovulatório e corpo lúteo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Definição de minipônei, pônei e cavalo

Em países como Estados Unidos, Austrália e Reino Unido, a altura de um equino determina a maneira como este deve ser mencionado: como “minipony” (minipônei), “pony” (pônei) ou “horse” (cavalo). A designação “large pony”, nesses países, refere-se a um pônei grande.

Segundo a Federação Equestre Internacional (FEI), pônei é o equino pequeno que mede, na cernelha, até 148 cm sem ferraduras. A raça Crioula, de origem ibérica e ascendência na raça Andaluz, é um exemplo de pônei segundo a FEI (“large pony” nos países supracitados). É criada no Brasil e em outros países para uso nas atividades diárias de pecuária, em rodeios e provas de enduro e rédeas. Segundo o padrão da raça (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos), a altura das fêmeas na cernelha não deve ser inferior a 138 cm nem superior a 148 cm.

Para a Associação Americana do Cavalo Miniatura (AMHA), uma divisão da American Shetland Pony Club, Inc., minipôneis ou miniaturas são pôneis pequenos de conformação harmoniosa, que não excedam 97 cm medidos imediatamente atrás do final da crineira. Segundo o padrão racial da Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Pônei, as fêmeas da raça Pônei Brasileiro devem ter altura máxima de 105 cm, sendo 90 cm a altura ideal. O Pônei Brasileiro é uma raça destinada à equitação de lazer, tração leve e animais de companhia, originada de cruzamentos de pôneis Shetland e Falabella (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO PÔNEI, 2016) com outras raças leves.

A raça Brasileiro de Hipismo, desenvolvida para emprego nas modalidades hípicas de salto e adestramento, teve origem na década de 70 a partir do cruzamento de animais nacionais com raças europeias (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO DE HIPISMO).

As palavras “minipony”, “pony” e “horse” (cavalo), portanto, designam, respectivamente, animais de até 97 cm, 148 cm (142 cm na Austrália) e acima de 148 cm (acima de 142 cm na Austrália).



## 2.2 Foliculogênese e luteogênese na égua

O intervalo interovulatório em éguas inicia com uma ovulação acompanhada de comportamento estral e termina com a ovulação do estro subsequente (GINTHER et al., 2004a).

A emergência (GINTHER, 2000) dos folículos da onda folicular refere-se a quando um dado folículo é primeiro detectado a um diâmetro que pode ser definido em cada exame. Uma onda folicular pode ser definida como abrangendo todos os folículos que emergem antes do início da divergência. Para Ginther et al. (2009), esta onda inicia-se com os folículos recrutados sendo detectados ultrassonograficamente a um diâmetro aproximado de 6mm. Nos estudos iniciais que empregavam rastreamento folicular, a emergência folicular era baseada no dia em que o futuro folículo dominante apresentava diâmetro aproximado de 15mm (BERGFELT e GINTHER, 1992), devido à dificuldade de rastrear folículos menores. Como o advento da aplicação da ultrassonografia à reprodução em éguas, folículos de 6mm passaram a ser usados para indicar emergência (GINTHER et al., 2009).

Os folículos emergem a um intervalo médio de 0.4 a 0.7 dias entre um e outro (GASTAL et al., 2004). Uma média de 12.4 folículos emergiu entre o tratamento e a divergência em estudo empregando ablação de todos os folículos maiores que 6mm dez dias após a ovulação (GASTAL et al., 2004). Em Miniaturas, foi descrito um número menor de folículos em crescimento de diâmetro igual ou maior que 10mm por onda ovulatória, e mais ondas ovulatórias com apenas um folículo em crescimento maior de 10mm, quando em comparação com éguas maiores (GASTAL et al., 2008).

Onda folicular é o termo que se refere à emergência de diversos folículos que crescem em sincronia, inicialmente. A onda folicular ovulatória em éguas começa a se desenvolver no meio de um intervalo interovulatório que dura, em média, vinte e dois a vinte e quatro dias (GINTHER et al 2003).

Ondas foliculares que formam um folículo dominante, como resultado do processo de divergência (havendo ou não a ovulação do folículo dominante) são chamadas ondas foliculares maiores. As ondas anovulatórias maiores precedem a onda (ovulatória) que origina a ovulação associada com estro ou com a fase folicular (ovulação primária). Ondas anovulatórias maiores são incomuns em Miniaturas (GASTAL et al., 2008), enquanto ondas foliculares menores (onde não há o desenvolvimento de folículo dominante) são comuns entre a ovulação e a emergência

da próxima onda ovulatória em éguas (GINTHER et al., 2009). É bem estabelecido que a onda ovulatória em éguas, assim como ondas anovulatórias maiores e ondas menores, origina-se pela estimulação de um pulso de FSH (DONADEU e GINTHER, 2003); este pulso alcança concentrações máximas, em média, quando o maior folículo mede cerca de 13mm. Pulsos de FSH ocorrem a cada três a sete dias precedendo o pulso que estimulará a emergência da onda ovulatória (BERGFELT e GINTHER, 1993). Nas ondas maiores, o pulso começa a decair como resultado da ação de supressores foliculares de FSH, quando o folículo maior atinge um tamanho de 14-16mm (GASTAL et al., 1997; DONADEU e GINTHER, 2003). Ainda que alguns pulsos de FSH estejam associados à emergência de ondas foliculares menores, é desconhecido se supressores de FSH oriundos de folículos de ondas menores suprimem o pulso, como ocorre nas ondas maiores.

A incidência de ondas anovulatórias maiores tem sido relatada como 24% pra éguas Quarto de Milha (GINTHER, 1993) e 25% em éguas Bretãs (GINTHER et al., 2004b). O diâmetro máximo do folículo dominante é menor para as ondas anovulatórias maiores quando comparado àqueles das ondas ovulatórias. Durante as ondas anovulatórias maiores, ao exame ultrassonográfico o útero permanece característico do diestro e estas ondas emergem antes da ovulação do intervalo interovulatório prévio, durante o período de aumento na concentração de FSH em algumas éguas. Um paradoxo em éguas é a ocorrência de ovulação de um folículo dominante do que seria esperado ser uma onda anovulatória maior (ovulações secundárias ou ovulações de diestro), uma vez que tal ocorre em ambiente de alta concentração de progesterona. A incidência destas ovulações secundárias ocorre em cerca de 20% dos ciclos estrais em éguas Puro Sangue de Corrida (WATSON et al., 1994; MOREL e O'SULLIVAN, 2001), e é próxima a 0% em éguas Quarto de Milha e pôneis (GINTHER, 1992).

Após a emergência da onda, os folículos crescem em uma assim denominada fase de crescimento comum por diversos dias (GINTHER et al., 2003; GINTHER et al., 2004a). O principal hormônio hipofisário envolvido na estimulação e regulação do desenvolvimento folicular, em mamíferos, é o FSH (BERGFELT e GINTHER, 1992).

Os dois maiores folículos da onda ovulatória, denominados: folículo dominante (folículo pré-ovulatório durante o período pré-ovulatório) e folículo subordinado (ou segundo maior folículo) crescem aproximadamente em paralelo, durante a fase de crescimento comum (GASTAL et al., 1997). Tomando-se as dimensões destes dois

folículos a partir da emergência, as médias divergiram gradualmente por poucos dias, começando quatro dias pós emergência (GASTAL et al., 1997). Em média, o futuro folículo dominante emerge primeiro, mantém-se durante a fase de crescimento comum e é o primeiro a alcançar um estágio crítico associado com a divergência (GINTHER et al., 2004b). A diferença média em diâmetros entre os dois folículos ao início da divergência (cerca de 3mm) é equivalente a aproximadamente um dia; presumivelmente, esta vantagem de tempo permite que o futuro do folículo ovulatório seja estabelecido antes que o próximo folículo maior alcance um diâmetro similar. Esta interpretação é compatível com os resultados de estudos subsequentes, que usaram ablação no décimo dia após ovulação, sem restringir o número de folículos na onda (GASTAL et al., 2004). Neste mesmo estudo, o intervalo entre a emergência a 6mm e a divergência foi de aproximadamente seis dias.

A fase de crescimento comum termina em uma mudança nas razões de crescimento entre os folículos, que é conhecida como divergência. A divergência é caracterizada por crescimento contínuo do folículo ovulatório em desenvolvimento, simultaneamente havendo crescimento reduzido e subsequente atresia dos folículos restantes, denominados subordinados. Segundo Ginther et al. (2004a), divergência é caracterizada pelo crescimento contínuo e preferencial de um ou, ocasionalmente, dois folículos pertencentes à onda ovulatória maior. O folículo favorecido é denominado folículo dominante. A divergência inicia-se quando o futuro folículo dominante e os maiores folículos subordinados alcançam diâmetro médio de 22,5 e 19mm respectivamente (GINTHER et al., 2009). É descrito que, em éguas Miniaturas, apenas 25% dos intervalos interovulatórios apresentam divergência (GASTAL et al., 2008) similar àquela observada em raças maiores, comparada com a incidência acima de 80% de divergência identificável observada em equinas, bovinas e humanas (GINTHER et al., 2004a).

A divergência observada para indivíduos é determinada por análise retrospectiva dos folículos dominante e subordinado. Ainda que apenas os dois maiores folículos sejam usados para detectar a divergência, outros folículos subordinados podem ser usados na estimativa do momento da divergência, através da diminuição simultânea no tamanho, comparativamente ao segundo maior folículo. O diâmetro médio do maior folículo na divergência é 22.5mm (GINTHER et al., 2003); outros estudos citam uma faixa de entre 22.2mm (GINTHER et al., 2000) e 24.8mm (GINTHER et al., 2004c).

Estudos com emprego de ablação folicular demonstram que a capacidade de dominância é similar entre os maiores folículos ao tempo da divergência, mas dominância de um folículo menor é bloqueada na presença de um maior (GASTAL et al., 2004).

As concentrações de FSH e LH inicialmente permanecem associadas em éguas, mas dissociam-se a partir do pico de FSH: Após o pico, a concentração média de LH sobe, enquanto a concentração de FSH diminui. A concentração diminui por 3 a 4 dias antes do início da divergência e alcança um nódulo 2 ou 3 dias depois (SQUIRES et al., 1986). O declínio de FSH é necessário para o estabelecimento da divergência, como indicado pelo desenvolvimento de vários folículos dominantes após administração de FSH (SQUIRES et al., 1986).

Entre o pulso de FSH e o início da divergência, todos os folículos da onda contribuem para a queda na concentração de FSH (DONADEU e GINTHER, 2001). Em associação com o fim da fase de crescimento comum/início da divergência, a relação FSH/folículos muda de envolvimento de vários folículos para envolvimento de apenas o folículo dominante em desenvolvimento. Aparentemente o folículo subordinado não alcançou um estágio de desenvolvimento similar e não estaria responsivo às baixas concentrações de gonadotropinas, e como resultado sua razão de crescimento diminui (GINTHER, 2000).

Dentre outros fatores presentes no fluido folicular (GINTHER et al., 2004a), o nível de estradiol contribui para a responsividade aumentada às gonadotropinas do folículo dominante, durante o processo de divergência: Cerca de um dia antes do início da divergência, quando o maior folículo mede cerca de 18mm, a concentração intrafolicular de estradiol começa a aumentar diferencialmente no futuro folículo dominante. Este aumento diferencial contribui para o aumento na concentração sistêmica de estradiol, tendo efeito negativo no FSH. Testosterona e outros andrógenos também são produzidos por folículos equinos (DONADEU e GINTHER, 2002), e agem suprimindo a circulação de FSH durante o estro através da estimulação do acúmulo de FSH na hipófise, para liberação durante o diestro (THOMPSON et al., 1991).

Após o pico de FSH, uma elevação transitória nos níveis circulantes de hormônio luteinizante (LH) ocorre durante a divergência, como parte da onda ovulatória de LH, alcançando concentrações máximas um dia após a ovulação (WHITMORE et al., 1973; GASTAL et al. 1999).

Na égua, usualmente apenas um folículo dominante por onda ovulatória desenvolve-se, a partir do processo de divergência. Ocasionalmente, dois folículos da mesma onda ovulatória originam-se da divergência e tornam-se dominantes, havendo a possibilidade de ovulação dupla (GASTAL, 2009).

A incidência de ovulações múltiplas (usualmente duas) varia consideravelmente entre raças e estudos, abrangendo de 2% (pôneis) a 25% (Puro-Sangue de Corrida) (GINTHER, 1992); aparentemente, em miniaturas é ausente ou muito baixa, uma vez que não há relatos de ovulações duplas na raça (GASTAL et al., 2008; GASTAL et al., 2008a; GINTHER et al., 2008; NEVES et al., 2010).

A incidência de folículos dominantes duplos é maior do que a incidência das ovulações duplas. Ovulações duplas podem ocorrer síncronas ou assíncronas, unilateralmente ou bilateralmente (GINTHER et al., 2008; MOREL et al., 2001).

Folículos ovulatórios múltiplos apresentam emergência tardia, concentração maior de LH precedendo a divergência, menor concentração de FSH no dia da divergência, antes e depois da ovulação, e estradiol significativamente mais alto dois dias após a divergência; ainda, maior concentração de progesterona no diestro e menor concentração de LH iniciando no dia após a ovulação (GINTHER et al., 2008).

Provavelmente o indicador mais usado para estimar a ovulação em éguas, o maior diâmetro de um folículo pré-ovulatório pode variar de acordo com o porte, raça e localidade do animal (NEWCOMBE, 1994), tendo sido relatadas dimensões que vão de 34mm a 70mm (GINTHER, 1995).

Diferenças no diâmetro dos folículos pré-ovulatórios de animais de diferentes raças são relatadas em alguns estudos, sendo que em éguas Sela Francês, o maior diâmetro do folículo pré-ovulatório é cerca de 3mm maior do que em pôneis Welsh (PALMER, 1987), assim como entre Puro-Sangue Árabe (40mm) e Quarto de Milha (43mm) (DIMMICK et al., 1993), e aproximadamente 10mm maior em Bretãs (GINTHER et al., 2004c) e Clydesdales do que em Quarto de Milha (GINTHER, 1995; em Trotadoras da região outrora conhecida como Iugoslávia, 41,75mm (IVKOV et al., 1999); em éguas Cáspias, 42,8mm (SHIRAZI et al., 2004); em éguas Miniatura, o maior diâmetro médio foi de 37,3mm (GASTAL et al., 2008); em Lusitanas, 47,4mm (MATA, 2012); em éguas de tiro irlandesas, 44,7mm (NEWCOMBE e CUERVO-ARANGO, 2013) Porém, em outro experimento, não houve diferença no máximo diâmetro do folículo pré-ovulatório entre éguas com características físicas da raça

Quarto de Milha e éguas sem raça definida de menor porte (BERGFELT e GINTHER, 1996).

A fase luteal inicia-se à ovulação, com a formação do corpo lúteo, glândula secretora de progesterona (BERGFELT e ADAMS, 2007), sendo que a concentração máxima de progesterona é atingida por volta do sexto dia do ciclo (BLANCHARD et al., 2003), considerando o dia da ovulação como dia zero. O corpo lúteo forma-se dentro do lumen colapsado do folículo, após a liberação do oócito e líquido folicular, derivando principalmente das células da teca (MOREL, 2003). Começando cerca de 24 – 48 horas após a ovulação, os níveis de progesterona aumentam atingindo o máximo por volta do quinto ou sexto dia do ciclo e mantendo-se até cerca de quinze dias após a ovulação (MOREL, 2003). Quando não há concepção, a duração do corpo lúteo depende da produção e liberação, pelo endométrio, de prostaglandina F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) entre os dias 13 e 16 pós ovulação (BLANCHARD et al., 2003) independentemente da raça (BERGFELT e GINTHER, 1996; GASTAL et al., 2008; GINTHER et al., 2008; URQUIETA et al., 2009). Uma vez absorvida pela circulação sistêmica, PGF<sub>2</sub>α causa luteólise levando à queda nos níveis de progesterona, o que termina o bloqueio à secreção de LH (BLANCHARD et al., 2003).

## 4. ARTIGOS

### 4.1 Artigo 1

Artigo para publicação no periódico Theriogenology.

#### **Ovarian dynamics in mares: similarities and differences between mares of different sizes**

FF Albrecht<sup>1,\*</sup>, AP Neves<sup>1,2</sup>, RC Mattos<sup>1</sup>, ER Araújo<sup>3,4</sup>, VF Penteadó<sup>2</sup>, GO Oliveira<sup>2</sup>,  
RM Gregory<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Equine Medicine, College of Veterinary Medicine, UFRGS, Porto Alegre-RS, Brazil

<sup>2</sup>College of Animal Science, UNIPAMPA, Dom Pedrito-RS, Brazil

<sup>3</sup>College of Animal Science and Food Engineering, USP, Pirassununga-SP, Brazil

<sup>4</sup>School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, Madison-WI, USA

\*Corresponding author. Tel +55 55 99 963 6791

Email address: [freire.albrecht@ufrgs.br](mailto:freire.albrecht@ufrgs.br)

Postal address: Avenida Bento Gonçalves, 9090, REPROLAB, CEP 91540-000, Porto Alegre-RS, Brazil

#### **Abstract**

Comparisons of ovarian dynamics between more than two equine breeds under standardized conditions, are not found in the literature. The objective of this study was to compare contemporarily follicular and luteal dynamics during one interovulatory interval by daily ultrasonography examinations in small size mares (Mini Pony group - MP; n=10), medium size mares (Large Pony group - LP; n=9) and large size mares (Brazilian Warmblood group - BH; n=12). It was concluded that all three groups differed regarding maximum diameter of the preovulatory follicle (POF) (mm) (MP=36.15; LP=40.95; BH=46.66), maximum diameter of POF one day before ovulation (mm) (MP=35.8; LP=40.55; BH=46.48) and the mean daily growth of POF (mm/day) (MP=2.6; LP=3.05; BH=3.51). The MP group differed from LP and BH groups regarding number of follicles per ovulatory wave (MP=4.8; LP=10.11; BH=9.75), number of follicles per day (MP=4.19; LP=10, 27; BH=10.63), number of follicles equal or greater than 10mm (MP=2.98; LP=5.88; BH=5.98), diameter of POF at deviation

(mm) (MP=22.62; LP=24.81; BH=25.58), diameter of second largest follicle (SLF) at deviation (MP=15.56; LP=21.25; BH=21.83), diameter difference between FPO and SLF at deviation (mm) (MP=7.25; LP=3.56; BH=3.75), corpus luteum (CL) area (mm<sup>2</sup>) (MP=436.1; LP=674.4; BH=720.4). There was no difference between groups regarding cycle length (MP=21.9; LP=20.22; BH=20.58), occurrence of deviation (MP=80%; LP=88.89%; BH=100%), days between emergence of POF and SLF (MP=0.8, LP = 0.89, BH = 0.92), and diameter difference between POF and SLF at emergence (mm) (MP=0.4; LP=0.44; BH=0.5) and at deviation (mm) (MP=7.25; LP=3.56; BH=3.75); days between emergence and deviation (MP=5.12; LP=5.5; BH=5.5), deviation and ovulation (MP=5.12; LP=6.62; BH=6.8), number of minor waves (MP = 0.3; LP = 0.33; BH = 0.42) and CL lifespan (days) (MP=12.4; LP=14.67; BH=13.92). There were double ovulations in groups LP (11%) and BH (33%); the majority of single ovulations (60%) occurred in the left ovary. Correlations were observed between maximum diameter of POF, area of CL and weight and height of mares.

Keywords: mare, luteal, ponies, warmblood, miniponies, deviation

## 1 Introduction

There are about 500 equine breeds around the world [1], some of them holding striking differences in appearance. In the process of horse breeds formation, breeders sometimes chose to reach extremes. Miniponies, whose origin dates back to the 17th century [2] are known to be the smallest equines, measuring up to 100 cm at the withers [3]. Currently they are used as pets, in animal-assisted therapy programs, guides for blind people and in equestrian disciplines adapted to the breed. The Brazilian Pony breed, a Brazilian minipony, originated from crosses of Shetland and Fallabela miniponies with other light breeds. Horses used for racing, jumping, dressage and other disciplines are animals with powerful athleticism and physique suited to speed and impulsion. Among these breeds is the Brazilian Warmblood jumper, measuring over 160 cm [4], with some individuals higher than 180 cm at withers. The Brazilian Warmblood breed ancestry traces back to Thoroughbred, Holsteiner, Hannoverian, Trakehner, Anglo Norman and other European horse breeds. Large ponies are used for farm working with cattle, light draft, pleasure riding, trail riding and in polo clubs. Large pony breeds, like the Criollo breed of South America, have agile constitution and should be no higher than 148 cm at withers [5, 6]. Selection pressures



applied during breeds development and improvement may modify some aspects of physiology, including reproductive physiology [7], like dimensions of the preovulatory follicle and hormonal dynamics [8].

Several studies have reported and compared follicle sizes and dynamics throughout the estrous cycle of several breeds: Lusitano mares [9], Caspian mares [10], minipony mares [11], Thoroughbreds [12], Arabian and Quarter Horse mares [13], Yugoslavian Trotters [14], heavy draft mares [15], Welsh pony mares and Warmbloods [16, 17]. However, contemporary comparisons between more than two breeds or sizes of mares are not found in literature. The aim of this study was to compare ovarian dynamics between Warmbloods, large pony mares and minipony mares during one interovulatory interval using standardized conditions.

## **2 Materials and methods**

### **2.1 Experiment site**

This study was performed exclusively at a horse breeding farm in Alegrete (29°38' S, 56°16' W), city located in Southern Brazil, from October to December (breeding season in Southern hemisphere) The mean altitude for the location is 351ft. Day light hours are 14h5min at summer solstice and 10h16min at winter solstice.

### **2.2 Animals and groups formation**

Non-lactating cycling mares were selected for the experiment. Body condition ranged from 4 to 4.5 (scale score between 1 – poor – and 5 – overweight) throughout the experimental period. All mares were clinically healthy. Defective coaptation of vulvar labia, history of endometritis or functional cervical defects prevented mares from being selected for the experiment. Ten Brazilian Pony mares were assigned to group MP (Minipony), nine Criollo/Criollo crossbred mares were assigned to group LP (Large Pony) and twelve Brazilian Warmblood mares were assigned to group BH (Brasileiro de Hipismo). Mean height, weight and age of groups are shown in Table 1.

All animals remained at the farm throughout the entire experimental period, being kept in the same pasture paddock of native grassland and under natural light. Fresh water and trace-mineral supplementation were available *ad libitum*. Concentrate supplementation was provided daily at a 1.5% BW ratio.

Table 1. Mean height, weight and age of mares in each group

	<b>BH</b>	<b>LP</b>	<b>MP</b>	<b>p</b>
Mean height (cm)	166,75 ± 2,38 <sup>a</sup>	140 ± 1,12 <sup>b</sup>	83,30 ± 5,21 <sup>c</sup>	<0.0001
Mean weight (Kg)	499,67 ± 8,80 <sup>a</sup>	380,11 ± 14,01 <sup>b</sup>	91,80 ± 4,10 <sup>c</sup>	<0.0001
Mean age (years)	13,33 ± 2,67 <sup>a</sup>	13,33 ± 1,73 <sup>a</sup>	12,20 ± 1,62 <sup>a</sup>	0.393

Different letters in the same row means statistical difference;  $\alpha=0.05$

#### 2.4 Daily examinations and data collection

The experimental period consisted of one full estrous cycle plus four days prior to the first ovulation of the experimental period and four days after the second ovulation of the experimental period. The same operator examined all mares daily at the same hour of the day during the entire experimental period. Daily examinations were performed by transrectal palpation and ultrasonography (Shenzen Well D-9618 ultrasound equipped with 5 MHz endorectal probe). Examinations began and ended after thoroughly cleansing of the mares' perineal area; one lubricated glove was used per mare. Data collection consisted of daily measurement in millimeters (mm) of all visible follicles in each ovary by measuring longitudinal and transversal axis of follicles' antrum using electronic callipers provided with the ultrasound software. Corpora lutea (CL) area were measured in square millimeters using the ultrasound software. All follicles were tracked and identity was kept through daily graphical representations of follicle dimensions in individual tracking sheets. The preovulatory follicle was designed POF and the second largest follicle of the ovulatory wave was designed SLF.

#### 2.5 Statistical analysis

The software Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA) was used for statistical analysis. The ANOVA test was used to verify if there was difference of means between groups; when difference was pointed by the test, the t test was used to verify which mean was different.

Pearson correlation test was used to test groups for correlation between height and weight of mares and maximum diameter of POF and corpora lutea.

### 3 Results

#### 3.1 Cycle length, deviation and intervals

Deviation occurred in all groups without difference (table 2). Early events of the interovulatory interval (emergence of minor waves); and interval events (days between

emergence of the two largest follicles, emergence of the ovulatory wave to deviation, deviation to ovulation; and cycle length) were not different between groups as shown in table 2.

Table 2. Results by cycle event in groups MP (Minipony), LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood)

	Group MP	Group LP	Group BH	Mean	p
<b>Cycle length (days)</b>	21.9 ± 1.85 <sup>a</sup>	20.22 ± 1.71 <sup>a</sup>	20.58 ± 2.19 <sup>a</sup>	20.9 ± 2.02	0.154
<b>Days between emergence of POF and SLF</b>	0.8 ± 0.79 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.93 <sup>a</sup>	0.92 ± 1.16 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.96	0.961
<b>Occurrence of deviation</b>	80% <sup>a</sup>	88.89% <sup>a</sup>	100% <sup>a</sup>	89.63%	0.304
<b>Days from emergence to deviation</b>	5.12 ± 1.55 <sup>a</sup>	5.5 ± 0.83 <sup>a</sup>	5.5 ± 1 <sup>a</sup>	5.39 ± 1.1	0.733
<b>Days from deviation to ovulation</b>	7.12 ± 1.12 <sup>a</sup>	6.62 ± 0.75 <sup>a</sup>	6.8 ± 0.72 <sup>a</sup>	6.86 ± 0.85	0.512
<b>Minor waves</b>	0.3 ± 0.48 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.51 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.49	0.622

*Different letters in the same row means statistical difference;  $\alpha=0.05$*

### 3.2 Number and size of follicles

Regarding number of follicles, group MP was different from groups LP and BH in number of follicles per wave and per day, total number of follicles and follicles  $\geq 10$  mm (table 3).

No difference between groups was observed regarding the diameter difference between the two largest follicles of the ovulatory wave (POF and SLF) at emergence (table 3). However, group MP differed from groups LP and BH regarding diameter of POF and SLF (both at deviation) and difference in diameter between these two follicles at deviation (table 3).

All groups differed in size of POF at its maximum and at one day before ovulation. Mean daily growth rate of POF from emergence to ovulation was different for all groups (table 3).

Table 3. Results for number and size of follicles in group MP (Minipony), LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood)

	Group MP	Group LP	Group BH	Mean	p
<b>Difference between two largest follicles (mm) at emergence</b>	0.4 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.73 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.452 ± 0.57	0.923
<b>Follicles per ovulatory wave</b>	4.8 ± 0.79 <sup>a</sup>	10.11 ± 2.03 <sup>b</sup>	9.75 ± 1.42 <sup>b</sup>	-	< 0.0001
<b>Follicles per day</b>	4.19 ± 0.74 <sup>a</sup>	10.27 ± 1.71 <sup>b</sup>	10.63 ± 1.22 <sup>b</sup>	-	< 0.0001
<b>Follicles ≥ 10mm</b>	2.98 ± 0.55 <sup>a</sup>	5.88 ± 1.32 <sup>b</sup>	5.98 ± 0.82 <sup>b</sup>	-	< 0.0001
<b>POF diameter at deviation (mm)</b>	22.62 ± 1.96 <sup>a</sup>	24.81 ± 3.32 <sup>b</sup>	25.58 ± 2.12 <sup>b</sup>	-	< 0.0001
<b>POF maximum diameter (mm)</b>	36.15 ± 1.27 <sup>a</sup>	40.95 ± 1.54 <sup>b</sup>	46.66 ± 3.06 <sup>c</sup>	-	< 0.0001
<b>POF diameter on day -1 (mm)</b>	35.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	40.55 ± 1.34 <sup>b</sup>	46.48 ± 2.2 <sup>c</sup>	-	< 0.0001
<b>POF daily growth rate (mm/day)</b>	2.61 ± 0.25 <sup>a</sup>	3.05 ± 0.25 <sup>b</sup>	3.51 ± 0.31 <sup>c</sup>	-	< 0.0001
<b>2<sup>nd</sup> largest follicle diameter at deviation (mm)</b>	15.56 ± 2.41 <sup>a</sup>	21.25 ± 2.71 <sup>b</sup>	21.83 ± 2.37 <sup>b</sup>	-	<0.0001
<b>Difference between POF and 2<sup>nd</sup> largest follicle at deviation (mm)</b>	7.25 ± 3.27 <sup>a</sup>	3.56 ± 1.12 <sup>b</sup>	3.75 ± 1.8 <sup>b</sup>	-	0.003

*Different letters in the same row means statistical difference;  $\alpha=0.05$*

### 3.3 Double dominant follicles and double ovulations

While no mare in group MP had double dominant follicles (follicle  $\geq 28$  mm) or double ovulations, group LP had only one mare (11%) with double ovulation and group BH had four mares (33%) with double ovulations and three mares with two double dominant follicles that started regressing 2 days before ovulation (1 mare) or 3 days before ovulation (2 mares)(Fig.1).

### 3.4 Side of ovulation

Single ovulations occurred most in left ovary (60% of single ovulations in groups MP and LP; 62,5% of single ovulations in group BH). This ratio was inverted regarding double ovulations in group BH: 50% of double ovulations occurred bilaterally and 50%

in only one ovary, being the right ovary (75%) preferred. The only double ovulation in LP group was bilateral.

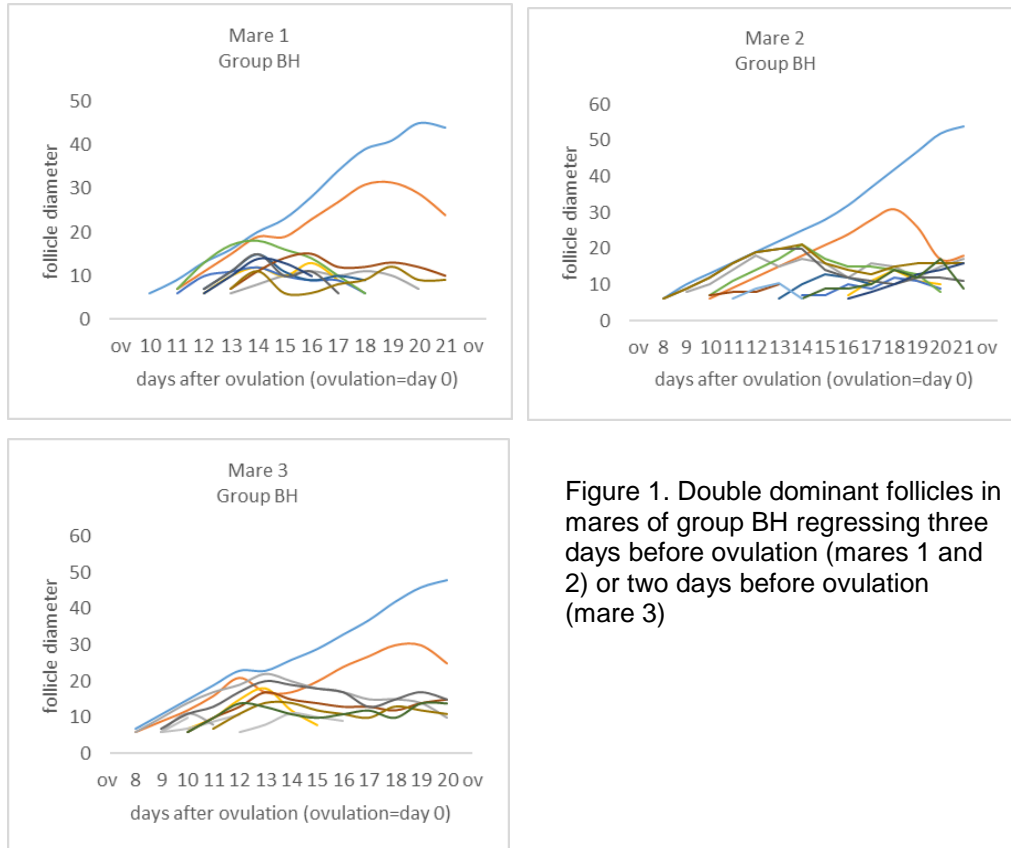


Figure 1. Double dominant follicles in mares of group BH regressing three days before ovulation (mares 1 and 2) or two days before ovulation (mare 3)

In double ovulations, diameter difference between the two preovulatory follicles was 0.5 mm in the mare in group LP and 3.2 mm (bilateral ovulations) or 0.5 mm (ipsilateral ovulations) in group BH.

Double ovulations were synchronous (50% of double ovulations in group BH and the mare in group LP) or asynchronous (50% of double ovulations in group BH).

### 3.5 Corpora lutea

There was no difference in CL lifespan between groups as shown in table 4. The mean area of CL ( $\text{mm}^2$ ) was different for the group MP, but not for groups LP and BH. Maximum area ( $\text{mm}^2$ ) of CL reached its maximum on days 3.3 (group MP), 3.5 (group LP) or 4 (group BH). Results for CL are shown in table 4.

Table 4. Results for area and lifespan of corpora lutea (CL) in groups MP (Minipony), LP (Large Pony) and BH (Brazilian Warmblood)

	<b>Group MP</b>	<b>Group LP</b>	<b>Group BH</b>	<b>p</b>
<b>CL area (mm<sup>2</sup>)</b>	436.1 ± 81.8 <sup>a</sup>	674.4 ± 180.7 <sup>b</sup>	720.4 ± 93.6 <sup>b</sup>	0.0001
<b>CL lifespan (days)</b>	12.4 ± 2.12 <sup>a</sup>	14.67 ± 1.32 <sup>a</sup>	13.92 ± 1.56 <sup>a</sup>	0.021
<b>CL maximum area (mm<sup>2</sup>)</b>				
<b>Day of cycle CL reached maximum area</b>	3.3 ± 0.65 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	4 ± 0.77 <sup>a</sup>	0.01

Different letters in the same row means statistical difference;  $\alpha=0.05$

### 3.6 Correlations

All results for correlations are shown in table 5. There was no significant correlation between height or weight of mares and the maximum diameter of POF for each group.

There was no significant correlation between height or weight of animals in group MP and mean area of CL.

There was a moderate negative correlation between height and mean area of CL in LP group, and significance was approached regarding the negative correlation between weight and mean area of CL in this group.

A weak correlation between height and CL mean area in the BH group approached significance, but there was no correlation between weight and mean area of CL in this group.

Table 5. Values for r and p (in parenthesis) and type of correlations between height, weight, maximum diameter of POF and mean area of CL in groups MP, LP, BH and all mares

	Height and max.diameter of POF	Weight and max.diameter of POF	Height and mean area of CL	Weight and mean area of CL
Group MP, n=10	0.068 (0.852); not significant	-0.196 (0.587); not significant	0.040 (0.912); not significant	0.039 (0.914); not significant
Group LP, n=9	0.174 (0.630); not significant	0.189 (0.601); not significant	-0.677 (0.032); negative, moderate	-0.598 (0.068); approaching significance; negative, moderate
Group BH, n=12	0.450 (0.106); not significant	0.214 (0.425); not significant	0.310 (0.06); approaching significance; positive, weak	0.214 (0.425); not significant
All mares, n=31	0.884 (<0.0001); positive, strong	0.879 (<0.0001); positive, strong	0.657 (<0.0001); positive, moderate	0.661 (<0.0001); positive, moderate

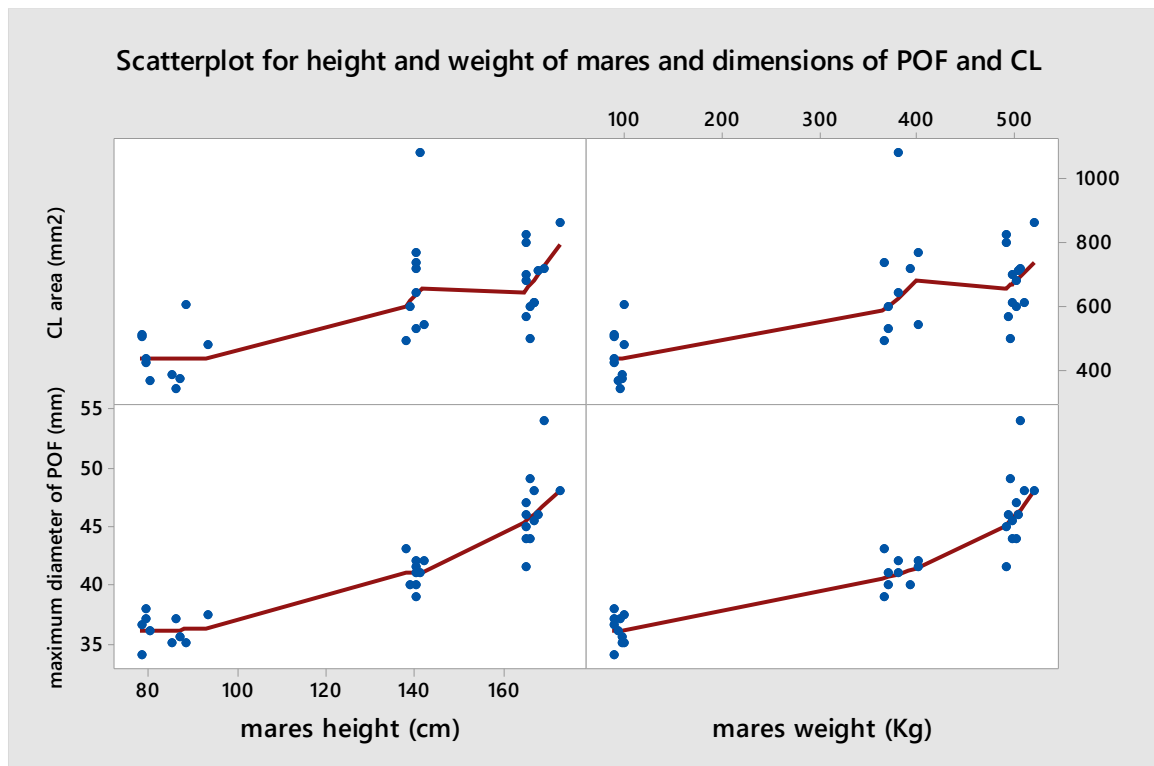


Fig. 2. Correlations between height and weight of mares and sizes of POF and CL (with tendency line)

For all 31 mares there was strong correlation between height and maximum diameter of POF; weight and maximum diameter of POF and a moderate correlation between height and weight and mean CL area (Fig.2) (table 5).

## **4 Discussion**

### **4.1 Cycle length**

Previous studies have indicated shorter cycles in large ponies and horses [17] compared to miniponies [11]. Contrarily to those studies, the present experiment demonstrated that cycles in the three different types of mares had statistically the same length. Data collection started when mares were in the second or third cycle after the beginning of breeding season, that is, about one and a half months before summer solstice. It is possible that mares in the group MP had a shorter cycle compared to the results of Gastal and colleagues [11] because in their study data collection extended until the end of breeding season, when the photoperiod is already decreasing and the cycles can lengthen [19,20,21].

### **4.2 Follicular waves**

Major anovulatory waves were not observed in any animal in this study, agreeing with Gastal and colleagues [11] but differing from studies with large ponies and horses [18, 22]. Minor waves in early diestrus were identified in all groups with no difference between groups. Studies with hormonal profile of gonadotropins and progesterone are granted to help elucidate follicle recruitment in the minipony mare.

### **4.3 Emergency**

For scientific purposes, it is considered the emergence of an ovulatory wave as the day when the largest follicle reaches 6 mm in diameter [18].

In this study, emergences of the future POF and its first subordinate follicle (the future second largest follicle) occurred approximately in the middle of the cycle. Considering mean difference lesser than 1 mm between these two follicles at emergence and cycle length, it was inferred that the difference in maximum diameter of POF in each group occurs due to different mean daily growth rates of POF.



#### 4.4 Deviation

Occurrence of deviation in 80% of cycles in group MP is a novel data in study of minipony mares cycles [11]. The high incidence of deviation in group MP held no difference to groups LP and BH, meaning that even a small number of follicles in the ovulatory wave (mean 4.8 follicles) was sufficient to characterize a deviation event in group MP. Different lineages of animals used in each study may have played a role [12], since a blend of foundation breeds contributed to minipony breeds genetic pool [2]. Deviation occurs with high frequency in cycles of horses and large ponies [18], agreeing with the present study (88.89% of the cycles in group LP and 100% of cycles in group BH).

#### 4.5 Intervals between emergence, deviation and ovulation

All three groups had emergence of the ovulatory wave at about half of inter ovulatory interval, agreeing with other studies [11, 15]. The intervals between emergence and deviation and between deviation and ovulation in all groups are similar to those previously observed on both miniponies [11] and large ponies and horses [18, 20, 23, 24], meaning that length of follicular and luteal phases do not differ between mares of different sizes.

#### 4.6 Number of follicles

Group MP showed 4.19 follicles per day during IOI approximating that from a study in miniponies [11] (6 follicles). However, 2.98 follicles  $\geq$  10 mm per ovulatory wave observed in MP group, represent almost twice the observed in that study (1.5 follicles  $\geq$  10 mm per ovulatory wave).

While number of follicles per day and per ovulatory wave in groups LP and BH agreed with several studies on follicular dynamics in horse mares and large ponies, discrepancies between follicle numbers of miniponies in this experiment and in the previous study [11], suggest once again that it is possible that fluctuation in contribution of foundation breeds to the Brazilian Pony breed may have influenced mechanism of follicle recruitment and destiny during IOI. Studies connecting hormonal profile and follicle dynamics are required for an in-depth understanding of the relationship between age, recruitment and follicle growth in miniponies. It is possible that a greater number of large follicles per ovulatory wave is linked to genetic characteristics of animals selected for the two experiments.

In LP group, observed follicles  $\geq 10$  mm were almost half the number observed in studies with large ponies (12 follicles). Although follicle population declines in older mares [25], in the present study the two older animals in LP group were 16 years old and had no alterations in previous cycles.

Despite similarities in total number of follicles between group LP and previous studies [18, 22], it is speculated that some arrangement of intrafollicular receptors and intrafollicular factors may have played a role in cessation of growth of about half follicles  $\geq 10$  mm in the ovulatory wave of LP mares.

#### 4.7 Follicle size

LP and BH groups showed diameters of both POF and second largest follicle at deviation greater than in previous studies [10, 18, 22]. However, difference between diameters (equivalent to a difference of about 1 day) agrees with other authors [23, 26]. It is possible that factors such as photoperiod at the time of the experiment [12, 20, 21], different operators, ultrasound equipment, software calibration and individual characteristics of animals (including larger body size of BH mares) may have played a role among studies. The greater difference between POF and the second largest follicle in MP group indicates the considerably slower growth of subordinate follicles.

All three groups differed regarding diameter of POF at maximum and at 1 day before ovulation, confirming the hypothesis that mares of different sizes show different sizes of POF. The maximum diameter of POF in the group MP was about 2 mm smaller than that observed by Gastal et al. in 2008 [11]. The maximum diameter of POF in group LP was similar to that observed in studies with large ponies [10, 16, 22], while the maximum diameter reached by POF in group BH was slightly larger [12, 16, 27] or smaller [9] than that found in other studies involving larger mares. Contrarily to one experiment comparing Quarter Horse-type mares and pony mares [27], the present study showed difference in size of POF between mares of different sizes. However, taken as a single group of 31 mares, strong correlations were found between height ( $r=0.884$ ) and weight ( $r=0.879$ ) of mares and maximum diameter of POF. A characteristic minimum critical diameter, varying according to the size of the mare, seems to be necessary for development of the oocyte.

The mean daily growth rate of POF differed between all groups agreeing with previous studies [11, 12].

#### 4.8 Double Ovulations

Double ovulations occurred in about 2% of cycles in large ponies and 25% of Thoroughbred cycles in other study [28]; in this experiment, BH group had double ovulations in 33.3% of cycles. It is possible that the strong ancestry of the Brazilian Warmblood in Thoroughbred and other foundation breeds had influenced the rate of double ovulations in group BH [29, 30].

It is not clear the reason why 75% of ovulations occurred in the right ovary (contrarily to single ovulators in this study and others [28]) in double ovulators of group BH.

#### 4.9 Corpora lutea

The size of POF is directly related to area of CL [30], which was observed in minipony mares and larger mares in this study. Analyzing area of CL of only single ovulators in groups LP and BH, still no difference was found between these groups ( $p=0.924$ ). There are no studies to date presenting CL measures in Brazilian Warmblood mares.

A moderate negative correlation between height of mares and mean area of CL in group LP was due to the double ovulation in one mare (measured 139 cm at withers) resulting in two cavitory CLs. Cavitory CLs are larger than regular CLs [31]; statistics without data from that mare resulted in no significant correlation ( $r=0.329$ ;  $p=0.426$ ).

Considering all mares in the present experiment ( $n = 31$ ), moderate correlations were found between height of mares and CL mean area and weight of mares and CL mean area (Fig.2).

CL lifespan was the same for all groups agreeing with previous studies [10, 12, 29], demonstrating that length of diestrus is not influenced solely by size of CL.

### 5 Conclusion

There are differences in follicle sizes and daily growth rate of preovulatory follicle in mares of different sizes. Minipony mares differ from larger mares regarding number of follicles and area of CL. Follicle deviation may occur in over than 80% of cycles regardless type and size of the mare. This study showed the importance of data collection on a contemporary basis when examining mares of different types and sizes. It is possible that some characteristics of the estrous cycle in the minipony mare are linked to genetic characteristics of the breed.

## 6 Conflict of interests

None.

## 7 References

- [1] Mason IL. A world dictionary of livestock breeds, types and varieties. CAB International, 1996. Wallingford, UK
- [2] <http://cruzminihorses.com/history.html> (18th January, 2018).
- [3] [http://www.minihorse.com.br/arquivos\\_PDF/Padrao\\_Racial\\_Mini-Horse.pdf](http://www.minihorse.com.br/arquivos_PDF/Padrao_Racial_Mini-Horse.pdf) (22nd January 2018).
- [4] <http://brasileirodehipismo.com.br/site/upload/arquivos/regulamento.pdf> (18th January 2018).
- [5] <http://www.cavalocrioulo.org.br/admin/assets/upload/regulamentos/7058986020.pdf> (1<sup>st</sup> February 2018).
- [6] [http://inside.fei.org/sites/default/files/JumpRules\\_26thEd\\_2018\\_clean\\_0.pdf](http://inside.fei.org/sites/default/files/JumpRules_26thEd_2018_clean_0.pdf) (January 18<sup>th</sup> 2018).
- [7] Kim, SH, Kang, CW, Min, K, Yoon, JT. Matrix metalloproteinases are important for follicular development in normal and miniature pigs. *Biotechnol.Lett.* 2014;36: 1187-1196
- [8] Mata, F. Evaluation of growth models for follicle development and ovulation in Lusitano mares. *Animal Reproduction Science* 2012;136:81-84
- [9] Ginther, O.J., Beg, M.A., Neves, A.P., Mattos, R.C., Petrucci, B.P.L., Gastal, M.O., Gastal, E.L. Miniature Ponies: 2. Endocrinology of the oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development* 2008; 20: 386-390.
- [10] Shirazi A, Gharagozloo F, Ghasemzadeh-Nava H. Ultrasonic characteristics of preovulatory follicle and ovulation in Caspian mares. *Animal Reproduction Science* 2004; 80: 261-266
- [11] Gastal EL, Neves AP, Mattos RC., Petrucci BPL, Gastal MO, Ginther, OJ. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal, and endometrial dynamics during the oestrous cycle. *Reprod Fertil Dev* 2008;20: 376–385.
- [12] Newcombe JR. A comparison of ovarian follicular diameter in Thoroughbred mares between Australia and UK. *Journal of Equine Veterinary Science* 1994; 14: 653-654

- [13] Dimmick, MA, Gimenez, T, Schlager, R. Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian vs. Quarter Horse mares. *Animal Reproduction Science* 1993; 31: 123-129
- [14] Ivkov, V, Ivančev, N, Veselinovic, S, Grubač, S, Snežana, V, Dovenski, T, Mickovski, G, Kocoski, LJ, Popovski, K. 1999:5<sup>th</sup> Symposium on Animal Reproduction. Proceedings. Ohrid, Macedonia
- [15] Ginther, O.J., *Ultrasonic imaging and animal reproduction: Book 2. Horses. Cross-Plains, Equiservices, 1995. p.57*
- [16] Palmer, E. 1987: New results on follicular growth and ovulation in the mare. In: Roche JF, O'Callaghan D (Eds.). *Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals*. Dublin: Martinus Nijhoff Publishers. 237-255.
- [17] Newcombe, JR, Cuervo-Arango, J. Growth rates of ovulatory follicles during the first ovulatory estrus (after seasonal anestrus) and subsequent estrus period in Irish Draught mares. *Irish Veterinary Journal* 2013; 66
- [18] Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci* 2003;78: 239–257.
- [19] Ginther, O.J., Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a twelve-month period in mares. *American Journal of Veterinary Research* 1975; 35: 1173-1179.
- [20] Bisol, J.F.W., 2008: Fotoperíodo artificial sobre a atividade reprodutiva de éguas durante a transição outonal. *Dissertação de Mestrado*.
- [21] Albrecht de David F.F., Bisol, J.F.W., Evangelista, R.M., Bustamante Filho, I.C., Wolf, C.A., Gregory, R.M., Jobim, M.I.M., Mattos, R.C. Artificial photoperiod: Its influence on mare's autumn transition period and seasonal anestrus. *Pferdeheilkunde* 2010; 27:277-280
- [22] 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 women. *Biology of Reproduction* 2004; 71: 1195-1201
- [23] Gastal E.L., Gastal, M.O., Bergfelt D.R., Ginther, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biology of Reproduction* 1997; 57: 1320-1327
- [24] Donadeu, F.X., Pedersen, H.G. Follicle development in mares. *Reprod.Dom.Anim* 2008; 43: 224-231.
- [25] Ginther OJ, Carnevale EM, Bergfelt DR. Delay in emergence of the ovulatory follicular wave in old mares. *J Equine Vet Sci* 1993;13:75–79.

- [26] Ginther, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 2000; 60-61: 61-79.
- [27] Bergfelt, D.R., Ginther, O.J., 1996: Ovarian, uterine and embryo dynamics in horses versus ponies. *Journal of Equine Veterinary Science* 1996; 16: 66-72.
- [28] Ginther, O.J.: *Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects*, 2<sup>a</sup> ed. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 1992
- [29] Dias, I.M.G., Bergmann, J.A.G., Rezende, A.C.C, Castro, G.H.F. Formação e estrutura populacional do eqüino Brasileiro de Hipismo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2000;52(6): 647-654
- [30] Urquieta, B., Durán M.C., Coloma, I., Parraguez, V.H. hCG-induced ovulation in Thoroughbred mares does not affect corpus luteum development and function during early pregnancy. *Reprod Dom Anim* 2009;44: 859-864.
- [31] McKinnon AO, Voss JL: *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993, p.1137.

## 4.2 Artigo 2

Artigo para apresentação em poster no XII International Symposium on Equine Reproduction e publicação no Journal of Equine Veterinary Science

### **Follicle Deviation in Miniature Mares**

AP Neves<sup>1,2</sup>, FF Albrecht<sup>1</sup>, RM Gregory<sup>1</sup>, RC Mattos<sup>1</sup>, ER Araújo<sup>3,4</sup>, VF Penteado<sup>2</sup>, GO Oliveira<sup>2</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; 2-Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal do Pampa, Dom Pedrito, RS, Brazil; 3- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brazil; 4- School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, USA

**Key words:** follicle, deviation, Miniature Horse, mares, cycling mares

#### **1 Introduction**

Miniature horses originated during the XVII century in Europe descending from Shetland ponies. At that time, those animals were used in the coal mines works for being the smaller ones, or serving as pets for the nobility. A few centuries and proper genetic improvements later, it was in Argentina around mid-18th century a that breeding program between smaller animals began and would result in the modern Miniature horses breed: aiming harmony and proportionality in their conformation with genetic infusions of breeds such as Purebred Arabian, Quarter Horse and Welsh Pony [1]. Today these animals are used as pets, in animal therapy programs for nursing homes, guides for blind people, equine therapy and equestrian disciplines adapted to the breed. Although miniature horse breeders succeeded in developing a perfect miniature of larger breeds, many studies are still needed for a comprehensive understanding of the physiological and metabolic differences between horses and miniature horses. A striking example of those differences occurs in the reproductive tract, especially regarding follicular and hormonal dynamics in miniature mares: less

follicles during IOI (inter ovulatory interval), smaller preovulatory follicle diameter and absence of double ovulations [2, 3]. Apparently, follicle deviation occurred only in 25% of miniature mares' IOIs [3], compared to 80% of IOIs in pony and horse mares [4, 5]. Deviation or follicular selection in mares is the distinction of growth rates between the future dominant ovulatory follicle and its subordinate follicles during the second largest follicle wave about seven days before ovulation [6]. Such differences and many others make the miniature horse breeds - such as the Brazilian Pony breed - an important experimental model to be considered in comparative studies about folliculogenesis, both among horse breeds and between horses and other animal species.

The objective of this study was to characterize estrous cycle of Brazilian Pony mares during breeding season by collecting data on the duration of estrous cycle: count follicle population every day, measure and track individual follicles 6 mm or larger from detection until ovulation or atresia, record the stage of follicular waves and relate these data to follicle deviation.

## **2 Material and methods**

The study was conducted at a horse farm during breeding season (August to January) in Alegrete (29°38' S, 56°16' W), Southern Brazil. Ten non-lactating Brazilian Pony mares with sound clinical and reproductive records, age between 10 and 12 years, height average between 78 and 93 cm and weight average between 87 and 97 kg were submitted to daily transrectal ultrasound (Shenzen WellID-9618 with a 5MHz probe) examinations during the entire IOI cycle plus four days preceding the first ovulation of IOI and four days following the second ovulation of IOI, averaging 29.9 days of examination per mare. Examinations were performed at the same time by the same operator. Data were recorded on individual sheets for each animal. Rectal palpation and ultrasonography were used to measure uterine horns, ovaries, follicles and corpora lutea. Follicle identity was tracked daily from detection to ovulation or atresia. All animals were kept on the same pasture paddock and given fresh water and mineral supplementation *ad libitum*. Concentrate supplementation was provided at a 1.5% BW ratio per animal.

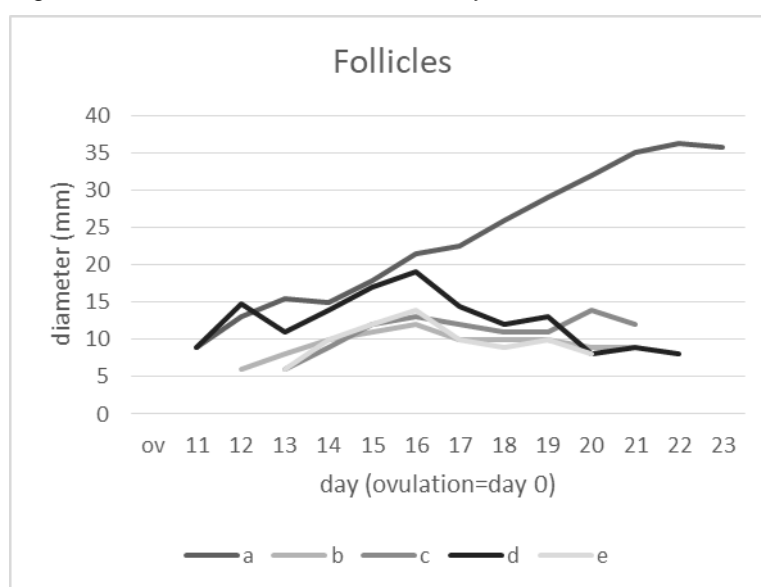
## **3 Results**

Twenty interovulatory intervals (IOI) were studied in ten miniature mares. The deviation of dominant follicle occurred in 8 out of 10 cycles (80%) (Fig.1). The mean



interval from detection of the ovulatory wave to deviation was  $5.1 \pm 1.5$  days and from follicle deviation to ovulation,  $7.1 \pm 1.1$  days. The average of dominant follicle diameter was  $35.6 \pm 1.1$  mm one day prior to ovulation; at follicle deviation,  $22.6 \pm 2.0$  mm; and at its maximum diameter,  $36.1 \pm 1.1$  mm. The growth curve rate of dominant ovulatory follicle was  $2.6 \pm 0.2$  mm per day. The diameter average of the second largest follicle at deviation period was  $15.7 \pm 2.1$  mm. The difference between dominant ovulatory follicle and second largest follicle at deviation was of  $6.4 \pm 2.7$  mm. Mean interovulatory interval (IOI) was  $21.9 \pm 1.85$  days.

Fig.1. Follicle deviation in Brazilian Pony mares



Source: Fabíola Freire Albrecht

#### 4 Discussion and conclusion

The high occurrence of follicle deviation in this study agreed with other studies on larger horse breeds [3, 7, 8] and deviated from the first findings about follicle dynamics in Brazilian Pony mares [3].

Some factors might have potentially contributed to the occurrence of high follicle deviation rates in miniature mares in this current study, such as: higher number of growing follicles during the ovulatory wave, greater number of follicles larger than 10 mm per ovulatory wave when compared to the previous study about follicle dynamics of Brazilian Pony mares [3], and the different breeding stocks among mares. Also, the

former study [3] was performed at the end of breeding season, when the declining photoperiod may have had influence.

In conclusion, the follicle deviation incidence in miniature mares occurs similarly to normal size mares which can be a great animal model for comparative studies on follicular dynamics within and among species due to its small size and ease of management.

#### Acknowledgements

The authors wish to thank to Ms. Luciana Richer, for help reviewing the article.

#### References

- [1] History of the Minihorse (January 18<sup>th</sup>, 2018). cruzminihorses.com: <http://cruzminihorses.com/history.html>
- [2] Gastal, E.L., Gastal, M.O., Beg, M.A., Neves, A.P., Petrucci, B.P.L., Mattos, R.C., Ginther, O.J. Miniature Ponies: Similarities and Differences from Larger Breeds in Follicles and Hormones during the Estrous Cycle. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2008;28, 508-517
- [3] Gastal, E.L., Neves A.P., Mattos R.C., Petrucci B.P.L., Gastal M.O., Ginther, O.J. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal, and endometrial dynamics during the oestrous cycle. *Reprod Fertil Dev* 2008;20, 376–385.
- [4] 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 Women. *Biology of Reproduction*, 2004: 71, 1195–1201 (2004)
- [5] Ginther O.J., Beg M.A., Donadeu F.X., Bergfelt D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci*, 2003: 78, 239–257.
- [6] Donadeu, F.X., Pedersen, H.D. Follicle development in mares. *Reprod Dom Anim*, 2008: 43, 224-231
- [7] Adams, G.P., Singh, J., Baerwald, A.R. Large animal models for the study of ovarian follicular dynamics in women. *Theriogenology*, 2012: 78, 1733-1748
- [8] Jacob, J.C., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Carvalho, G.R., Beg, M.A., Ginther, O.J. Follicle deviation in ovulatory follicular waves with one or two dominant follicles in mares. *Reprod Dom Anim*, 2009: 44, 248-254

## **5 Considerações finais**

Este trabalho veio contribuir de maneira importante para o estudo da reprodução em éguas e suas aplicações, visto que comparações contemporâneas entre mais de duas raças, envolvendo um mesmo operador e local, não foram encontradas na literatura. O estudo da fisiologia reprodutiva em raças de minipôneis é ainda pouco conhecido, representando um campo de pesquisa vasto e rico que deve ser explorado. Sua comparação com raças maiores é ponto imprescindível de estudo, não só para o aprofundamento no conhecimento da raça, mas também para aplicações no campo da pesquisa intra e interespecífica.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P., SINGH, J., BAERWALD, A.R. Large animals models for the study of ovarian follicular dynamics in women. **Theriogenology**, v. 78, p. 1733-1748, 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos (18 de Janeiro de 2018). *www.cavalocrioulo.org.br*. Fonte: Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos:  
<http://www.cavalocrioulo.org.br/admin/assets/upload/regulamentos/7058986020.pdf>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO PÔNEI (18 de Janeiro de 2018). *site.ponei.org.br*. Fonte: Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Pônei: <http://site.ponei.org.br/padratildeo-pocircnei-brasileiro.html>
- BERGFELT, D.R, ADAMS, G.P. Current Therapy in Equine Reproduction, Missouri: Saunders Elsevier, 2007; p. 1-13.
- BERGFELT D.R., GASTAL E.L., GINTHER O.J. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 426-432, 2001.
- BERGFELT D.R., GINTHER O.J. Follicular populations following inhibition of follicle stimulating hormone with equine follicular fluid during early pregnancy in the mare. **Theriogenology**, v. 26, p. 733-747, 1986
- BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J. Ovarian, uterine and embryo dynamics in horses versus ponies. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 16, p. 66-72, 1996.
- BERGFELT, D.R., GINTHER O.J. Relationships between circulating concentrations of FSH and follicular waves during early pregnancy in mares. **Equine Veterinary Science**, v. 12, p. 274-279, 1992.
- BERGFELDT 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.
- BLANCHARD, T.L., DICKSON, D.V., SCHUMACHER, J., LOVE, C.C., BRINSKO, S.P., RIGBY, S.L. Manual of Equine Reproduction, St. Louis: Mosby, 2003; p. 11.
- BRIDGES T.S., DAVIDSON T.R., CHAMBERLAIN C.S., GEISERT R.D., SPICER L.J. Changes in follicular fluid steroids, insulin-like growth factors (IGF) and IGF-binding proteins concentrations, and proteolytic activity during equine follicular development. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 179-190, 2002.
- CARNEVALE, E.M. The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. **Theriogenology**, v. 69, p. 23-30, 2008.
- DAVIDSON T.R., CHAMBERLAIN C.S., BRIDGES T.S., SPICER L.J. Effect of follicle size on in vitro production of steroids and insulin-like growth factor I, IGF II and the IGF binding proteins by equine ovarian granulosa cells. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1640-1648, 2002.

DIMMICK, M.A., GIMENEZ, T., SCHLAGER, R.L. Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian vs. Quarter Horse mares. **Animal Reproduction Science**, v. 31, p. 123-129, 1993.

DONADEU F.X., GINTHER O.J. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 111-1118, 2002.

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

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

DONADEU F.X., GINTHER O.J. Supression of circulating concentrations of FSH and LH by inhibin and estradiol during the initiation of follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v. 60, p. 1423-1434, 2003.

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.

FEDERAÇÃO EQUESTRE INTERNACIONAL (05 de Fevereiro de 2018).  
<http://www.fei.org>. Fonte: Fédération Équestre Internationale:  
[http://inside.fei.org/sites/default/files/JumpRules\\_26thEd\\_2018\\_clean\\_0.pdf](http://inside.fei.org/sites/default/files/JumpRules_26thEd_2018_clean_0.pdf)

GASTAL, E.L. Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. **Animal Reproduction**, v. 6, p. 144-158, 2009.

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

GASTAL E.L., GASTAL M.O., BEG M.A., GINTHER O.J. Interrelationships among follicles during the common growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. **Reproduction**, v. 128, p. 417-422, 2004.

GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., BEG, M.A., NEVES, A.P., PETRUCCI, B.P.L., MATTOS, R.C., GINTHER, O.J. Miniature Ponies: Similarities and differences from larger breeds in follicles and hormones during the estrous cycle. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, p. 508-517, 2008a.

GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., GINTHER, O.J. Experimental assumption of dominance by a smaller follicle and associated hormonal changes in mares. **Biology of Reproduction**, v. 61, p. 24-730, 1999.

GASTAL EL, NEVES AP, MATTOS RC., PETRUCCI BPL, GASTAL MO, GINTHER, OJ. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal, and endometrial dynamics during the oestrous cycle. **Reprod Fertil Dev**, v. 20, p. 376–385, 2008.

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

GINTHER, O.J. Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 13, p. 18-25, 1993.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Book 2. Horses. Cross-Plains, Equiservices, 1995. p. 57

GINTHER, O.J. **Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects**, 2<sup>a</sup> ed. Cross-Plains, WI: Equiservices Publishing, 1992.

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

GINTHER, O.J. The mare: A 1000-pound guinea pig for study of the ovulatory follicular wave in women. **Theriogenology**, v. 77, p. 818-828, 2012.

GINTHER, O.J., BEG, M.A., DONADEU, F.X., BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 239-57, 2003.

GINTHER O.J., BEG M.A., GASTAL M.O., GASTAL, E.L. Follicle dynamics and selection in mares. **Animal Reproduction**, v. 1, p. 45-63, 2004a.

GINTHER, O.J., BEG, M.A., NEVES, A.P., MATTOS, R.C., PETRUCCI, B.P.L., GASTAL, M.O., GASTAL, E.L. Miniature Ponies: 2. Endocrinology of the oestrous cycle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 386-390, 2008.

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 women. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 1195-1201, 2004b.

GINTHER O.J., GASTAL E.L., GASTAL M.O., BEG M.A. Critical role of insulin-like growth factor system in follicle selection and dominance in mares. **Biology of Reproduction**, v. 70, p. 1374-1379, 2004c.

GINTHER, O.J., GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., BEG, M.A. Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones: What's new? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, p. 454-460, 2008.

GINTHER, O.J., GASTAL E.L., GASTAL M.O., CHECURA C.M., BEG M.A. Dose-response study of intrafollicular injection of insulin-like growth factor on follicular-fluid factors and follicle dominance in mares. **Biology of Reproduction**, v. 70, p. 1063-1069, 2004d.

GINTHER O.J., GASTAL E.L., GASTAL M.O., DUARTE L.F., BEG, M.A. Follicle suppression of circulating follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone before versus after emergence of the ovulatory wave in mares. **Theriogenology**, v. 72, p. 445-452, 2009.

GINTHER, O.J., MEIRA, C., BEG, M.A., BERGFELT, D.R. Follicle and endocrine dynamics during experimental follicle deviation in mares. **Biology of Reproduction**, v. 67, p. 862-867, 2002.

IVKOV, V., IVANČEV, N., VESELINOVIC, S., GRUBAČ, S., SNEŽANA, V., DOVENSKI, T., MICKOVSKI, G., KOCOSKI, L.J., POPOVSKI, K. Ultrasonic measurement of follicle's diameter in estrus of mares. In: 5<sup>th</sup> SYMPOSIUM ON ANIMAL REPRODUCTION, 1999. Proceedings. Ohrid, Macedonia.

KIM. S.H., KANG, C.W., MIN, K.S., YOON, J.T. Matrix metalloproteinases are important for follicular development in normal and miniature pigs. **Biotechnol.Lett**, v. 36, p. 1187-1196, 2014.

MARTINEZ-CHEQUER, J.C., STOUFFER, R.L., HAZZARD, T.M., PATTON, P.E., MOLSKNESS, T. Insulin-like growth factors 1 and 2, but not hypoxia, synergize with gonadotropin hormone to promote vascular endothelial growth factor-A secretion by monkey granulosa cells from preovulatory follicles. **Biology of Reproduction**, v. 68, p. 1112-1118, 2003.

MASON, I.L. A world dictionary of livestock breeds, types and varieties. CAB International, 1996. Wallingford, UK.

MATA, F. Evaluation of growth models for follicle development and ovulation in Lusitano mares. **Animal Reproduction Science**, v. 136, p. 81-84, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Brasília, 2016.

MOREL, M.C.G.D. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management. CABI Publishing, 2<sup>a</sup> ed. 2003. London, UK.

MOREL, M.C.G.D., O'SULLIVAN, J.A.M. Ovulation rate and distribution in Thoroughbred, as determined by ultrasonic scanning: The effect of age. **Animal Reproduction Science**, v.66. Abstract, 2001.

NEVES, A.P., BUSTAMANTE FILHO, I. C., WOLF, C.A., CASTRO, F.S., RICHTER, G., MOTTA, F.F., DAVOLLI, G.M., CAMOZZATO, G.C., AGNE, G.F., GREGORY, J.W., GREGORY, R.M., MATTOS, R.C. Some aspects of peripartum, neonate and foal heat in minipony mares. **Pferdeheilkunde**, v. 26, p. 36-38, 2010.

NEWCOMBE, J.R. A comparison of ovarian follicular diameter in Thoroughbred mares between Australia and UK. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 14, p. 653-654, 1994.

NEWCOMBE, J.R., CUERVO-ARANGO, J. Growth rates of ovulatory follicles during the first ovulatory estrus (after seasonal anestrus) and subsequent estrus period in Irish Draught mares. **Irish Veterinary Journal**, v.66, 2013.

PALMER, E. New results on follicular growth and ovulation in the mare. In: Roche JF, O'Callaghan D (Eds.). **Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals**. Dublin: Martinus Nijhoff Publishers. 237-255, 1987.

REDMER, D.A., REYNOLDS, L.P. Angiogenesis in the ovary. **Veterinary Reproduction**, v. 1, p. 182-192, 1996.

SHIRAZI, A., GHARAGOZLOO, F., GHASEMZADEH-NAVA, F. Ultrasonic characteristics of preovulatory follicle and ovulation in Caspian mares. **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 261-266, 2004.

SQUIRES, E.L., GARCIA, R.H., GINTHER O.J., VOSS, J.L., SEIDEL, G.E. Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares. **Theriogenology**, v. 26, p. 661-670, 1986.

THOMPSON Jr D.L., GARZA, F.J., St GEORGE, R.L., RABB, M.H, BARRY, B.E., FRENCH, D.D. Relationships among LH, FSH and prolactin secretion, storage and response to secretagogue and hypothalamic GnRH content in ovariectomized pony mares administered testosterone, dihydrotestosterone, estradiol, progesterone, dexamethasone or follicular fluid. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 8, p. 189-199, 1981.

TURNER, D.D., GARCIA, M.C., MILLER, K.F., HOLTAN, D.W., GINTHER, O.J. FSH and LH concentrations in periparturient mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 547-553, 1979.

URQUIETA, B., DURÁN, M.C., COLOMA, I., PARRAGUEZ, V.H. hCG-induced ovulation in Thoroughbred mares does not affect corpus luteum development and function during early pregnancy. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 44, p. 859-864, 2009.

WATSON, E.D., McDONNELL, A.M., CUDDEFORD, D. Characteristics of cyclicity in maiden Thoroughbred mares in the United Kingdom. **Journal of the British Veterinary Association**, v. 5. Abstract, 1994.

WHITMORE, H.L., WENTWORTH, B.C., GINTHER, O.J. Circulating concentrations of luteinizing hormone during estrous cycle of mares as determined by radioimmunoassay. **American Journal of Veterinary Research**, v. 34 p. 631-636, 1973.

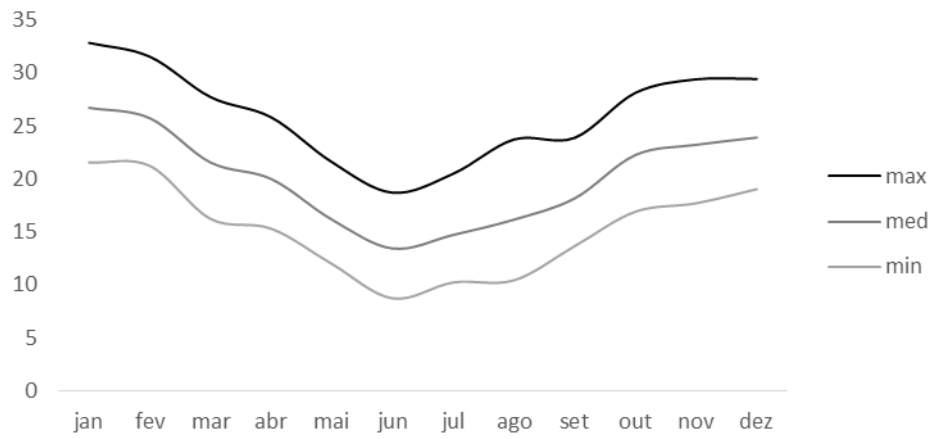
WRATHAL, J.H.M., KNIGHT, P.G. Effects of inhibin related peptides and estradiol on androstenedione and progesterone secretion by bovine theca cells in vitro. **Journal of Endocrinology**, v. 145, p. 491-500, 1995.



## APÊNDICES

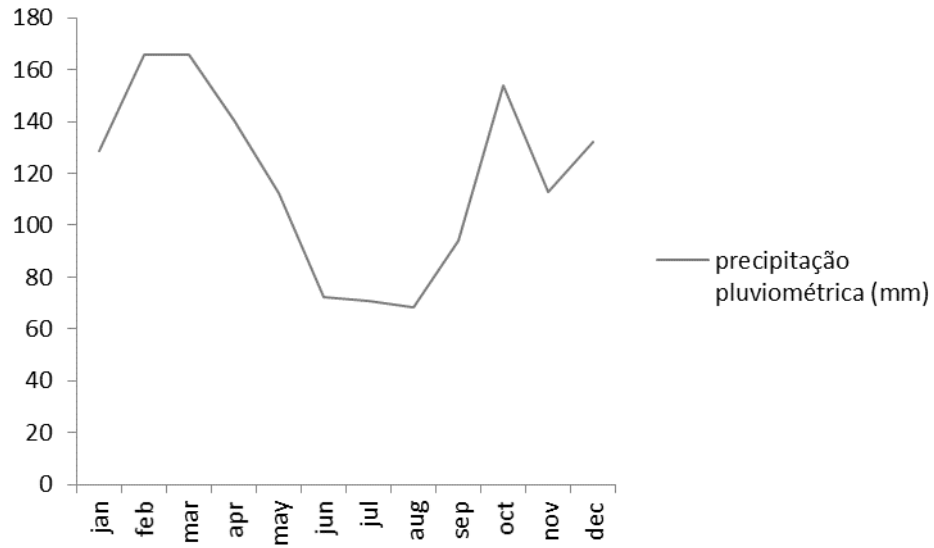
Apêndice A – Temperaturas mínima, média e máxima para a região do experimento.....	49
Apêndice B – Pluviosidade média para a região do experimento.....	50
Apêndice C – Dados de idade, altura e peso dos animais empregados no Experimento.....	51
Apêndice D – Manejo empregado.....	52
Apêndice E – Formulação comercial de suplemento mineral.....	53
Apêndice F – Formulação comercial de suplemento concentrado.....	54
Apêndice G – Folha individual de rastreamento folicular.....	55

Apêndice A – Temperaturas mínima, média e máxima para a região do experimento (°C)



fonte: INMET, Brasil

## Apêndice B – Pluviosidade média para a região do experimento (mm)



fonte: INMET, Brasil

Apêndice C – Dados de idade, altura e peso dos animais empregados no experimento

	<b>Grupo MP</b>	<b>Grupo LP</b>	<b>Grupo BH</b>
<b>n</b>	10	9	12
<b>Idade,média (anos)</b>	12,2 ± 1,62	13,33 ± 1,73	13,33 ± 2,67
<b>Idade,mediana (anos)</b>	12	12	14
<b>Idade, moda (anos)</b>	12	12	16
<b>Altura, média (cm)</b>	83,30 ± 5,21	140 ± 1,12	166,75 ± 2,38
<b>Altura,mediana (cm)</b>	82	140	166
<b>Altura, moda (cm)</b>	78;79	140	165
<b>Peso, média (Kg)</b>	91,80 ± 4,10	380,11 ± 14,01	499,67 ± 8,80
<b>Peso,mediana (Kg)</b>	92	380	498
<b>Peso, moda (Kg)</b>	87;88;85;97	365	490;500

## Apêndice D – Manejo empregado

<b>Manejo</b>	<b>Periodicidade</b>	<b>Observações</b>
<b>Administração de anti-helmíntico</b>	Julho e dezembro	<i>Per os</i> ; formulação comercial com ivermectina 1,2% (200µg/Kg PV) e praziquantel 15% (2,5mg/Kg PV)
<b>Nivelamento dentário</b>	Verificações mensais	Nivelamento realizado quando necessário
<b>Casqueamento preventivo</b>	Bimestral	Casqueamento corretivo quando necessário
<b>Palpação e ultrassonografia transretais</b>	Mensal	Exames de rotina para acompanhamento do ciclo estral
<b>Suplementação mineral</b>	<i>Ad libitum</i>	Formulação comercial; Apêndice E.
<b>Suplementação concentrada</b>	Diária	Formulação comercial, 1,5%PV; Apêndice F.

## Apêndice E – Formulação comercial de suplemento mineral

Ingrediente	Níveis de garantia
Ca (mínimo/máximo)	130,00g/Kg / 146,00g/Kg
P (mínimo)	75,00g/Kg
S (mínimo)	5000mg/Kg
Na (mínimo)	150,00g/Kg
Co (mínimo)	14,00mg/Kg
Cu (mínimo)	1000mg/Kg
Cr (mínimo)	40,00mg/Kg
Fe (mínimo)	2500mg/Kg
I (mínimo)	90,00mg/Kg
Mn (mínimo)	2000mg/Kg
Se (mínimo)	11,00mg/Kg
Zn (mínimo)	3700mg/Kg
F (máximo)	750,00mg/Kg

## Apêndice F – Formulação comercial de suplemento concentrado

Ingrediente	Níveis de garantia
Umidade (máximo)	13,0%
Proteína bruta (mínimo)	15,0%
Extrato etéreo (mínimo)	6,0%
Matéria fibrosa (máximo)	10,0%
Matéria mineral (máximo)	10,0%
Ca (máximo)	1,0%
P (mínimo)	0,45%
Energia digestível	3200Kcal

