

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

**CARACTERÍSTICAS DO CICLO ESTRAL E DA DINÂMICA FOLICULAR EM
FÊMEAS MUARES (*Equus mulus*)**

Diego Lunelli

**Porto Alegre
2018**

Diego Lunelli

**CARACTERÍSTICAS DO CICLO ESTRAL E DA DINÂMICA FOLICULAR EM
FÊMEAS MUARES (*Equus mulus*)**

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em
Medicina Animal na área de Reprodução
Animal

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Pires
Neves

Porto Alegre

2018

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)

CIP - Catalogação na Publicação

Lunelli, Diego
Características do ciclo estral e da dinâmica folicular em fêmeas muaras (Equss mulus) / Diego Lunelli. -- 2018.
38 f.
Orientador: 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. Dinâmica folicular em mulas. 2. Taxa de crescimento folicular. 3. Ecotextura uterina nas fases folicular e luteal. I. Neves, Adriana Pires, orient. II. Título.

DIEGO LUNELLI

**CARACTERÍSTICAS DO CICLO ESTRAL E DA DINÂMICA FOLICULAR EM
FÊMEAS MUARES (*Equus mulus*)**

Aprovado por:

Profa. Dra. Adriana Pires Neves (Orientadora)
UNIPAMPA – PPG em Medicina Animal – Equinos (UFRGS)

Dra. Valesca Peter dos Santos
Clínica de Equinos Laboratório Hípica

Prof. Dr. Eduardo Malshitzky
ULBRA

Henrique Boll de Araujo Bastos
UFRGS

Dedico

Aos meus pais Beth e Hélio
por todo apoio e vibrações positivas;
A minha irmã Mery que mesmo longe
sempre se manteve presente de alguma forma;
A todas as pessoas que incentivaram essa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades que Ele coloca em nossa jornada e ao mesmo tempo pela direção que Nos fornece em nossas escolhas.

À minha família que sempre foi meu maior exemplo e fonte de inspiração para seguir em frente com segurança. Pai e mãe, amo vocês.

À minha irmã Mery que mesmo estando longe, transmitia energias positivas e vibrava pelas minhas conquistas.

À Maria Vitória que em tão pouco tempo tornou-se especial e importante em minha vida. Agradeço por toda paciência e incentivo nas horas difíceis. Você é minha melhor companhia.

À Profa. Dra. Adriana Pires Neves que não mediu esforços para me orientar nessa tese e se fez presente em todas as etapas dessa trajetória. Meu muito obrigado.

Aos meus amigos, Carlos Eduardo Camargo e Liomara Amaral, pelo companheirismo nesses anos de doutorado e encorajamento em momentos complicados.

Aos meus alunos e agora colegas de profissão que dedicaram-se diariamente no controle folicular das mulas, saibam que a perseverança de vocês foi de extrema importância para que esse trabalho fosse realizado. Meu muito obrigado ao Mairon Graciani, Valdecir Olegini, Diego Borin Menezes, Lucas Grassi, Leonardo Mainardi, Leonardo Mariani, João Lucas de Oliveira e Rodrigo Sanders.

À Mayra Laura, Liriane e Marina Vidal por terem auxiliado na procura das mulas utilizadas nesse experimento.

Ao Programa de Pós graduação em Medicina Animal: Equinos da UFRGS pela oportunidade de ingresso e por entenderem as minhas condições.

Às instituições de ensino, Universidade do Contestado e Faculdades Integradas do Vale do Iguaçu, pelo incentivo e auxílio à pesquisa. Por entenderem que nunca devemos interromper os estudos e sim seguir nos atualizando sempre.

“Se o dinheiro for a sua
esperança de independência,
você jamais a terá. A única
segurança verdadeira consiste
numa reserva de sabedoria, de
experiência e de competência.”

Henry Ford

RESUMO

Muare não se reproduzem devido à incompatibilidade no número de cromossomos entre as espécies genitoras. Contudo, manifestam regularmente sinais de estro, apresentando provavelmente ciclos estrais normais, assim como as fêmeas das demais espécies. Desta forma, as fêmeas muare despertam interesse na área reprodutiva, principalmente na área da biotecnologia da reprodução como receptoras de embrião. Poucos estudos têm sido realizados procurando contribuir para o entendimento do comportamento reprodutivo e de alguns aspectos fisiológicos do ciclo estral da mula, como o estudo da dinâmica folicular durante o intervalo interovulatório, caracterizando as fases de emergência, desvio e dominância. Fato este que contribui para a utilização desta espécie em programas de transferência de embrião. Este estudo teve por objetivo elucidar características do ciclo estral e realizar a avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular durante o ciclo estral de fêmeas muare. Foram acompanhados ciclos estrais de três mulas para determinar o dia da ovulação (D0) e o início da onda folicular. O dia da emergência do futuro folículo ovulatório foi definido como o dia em que o mesmo atingisse 10 mm de tamanho. O início do desvio, caso acontecesse, foi designado como o dia anterior ao dia em que ocorresse uma mudança significativa entre o diâmetro dos dois maiores folículos associado ao não crescimento ou diminuição do tamanho do folículo subordinado. O diâmetro máximo do folículo ovulatório foi obtido no dia anterior ao da ovulação, e as taxas de crescimento definidas antes e após o desvio, nos casos em que fossem observados pelo menos dois folículos. A ecotextura do endométrio foi avaliada nas fases folicular e luteal. A fase de emergência surgiu aos $11,66 \pm 2,8$ dias e o desvio aos $3,66 \pm 0,57$ dias, ambas antes da ovulação. A taxa de crescimento folicular diária foi definida para ondas foliculares que tiveram apenas um folículo na fase de emergência; e também para aquelas que apresentaram dois e por consequência a fase de desvio. Para a primeira situação, a média dessa taxa foi de $3,1 \pm 0,49$ mm ao dia até o momento da ovulação. Já na segunda, a média da taxa de crescimento desde a fase de emergência até a fase de desvio foi de $3,27 \pm 0,46$ mm para o futuro folículo ovulatório e de $3,23 \pm 0,67$ mm para o folículo subordinado, o qual sofreu atresia. Após o desvio, o folículo ovulatório cresceu em média $3,67 \pm 0,18$ mm por dia até a ovulação. Um dia antes da ovulação, o folículo dominante atingiu a dimensão média

de $37,24 \pm 5,88$ mm. A ecotextura variou de 0 a 1 (0 a 3) em fase luteal, e atingiu valores máximos em fase folicular. As mudanças anatômicas e comportamentais foram compatíveis com a fase do ciclo estral em que as fêmeas se encontravam. Conclui-se que as variáveis avaliadas se assemelham às observadas em fêmeas equinas e asininas; porém, a baixa quantidade de oócitos ao nascimento.

Palavras-chave: mulas; emergência; desvio; dominância.

ABSTRACT

Mules do not reproduce due to incompatibility in number of chromosomes between the genitor species. However, they regularly manifest signs of estrus, probably showing normal estrous cycles, as well as females of other species. In this way, female mules arouse interest in the reproductive area, mainly in the area of reproduction biotechnology as embryo recipients. Few studies have been done seeking to contribute to the understanding of the reproductive behavior and some physiological aspects of the mule estral cycle, such as the study of follicular dynamics during the interovulatory interval, characterizing the phases of emergence, deviation and dominance. This fact contributes to the use of this species in embryo transfer programs. This study aims clarify characteristics of the estrous cycle and performs the ultrasonographic evaluation of the follicular dynamics during the estral cycle of females mules. Three cycles of three mules were followed to determine the day of ovulation (D0) and the beginning of the follicular wave. The day of the emergence of the future ovulatory follicle was defined as the day that it reached 10 mm in size. The beginning of deviation, if it happened, was designated as the day before the day when there was a significant change between the diameter of the two largest follicles associated with non-growth or decreased size of the subordinate follicle. The maximum diameter of the ovulatory follicle was obtained the day before ovulation, and the growth rates defined before and after deviation, in cases where at least two follicles were observed. The echotexture of the endometrium was evaluated in the follicular and luteal phases. The emergency phase occurred at 11.66 ± 2.8 days and the deviation at 3.66 ± 0.57 days, both before ovulation. The daily follicular growth rate was defined for follicular waves that had only one follicle in the emergency phase; and also for those that presented two and consequently the deviation phase. For the first situation, the average of this rate was 3.1 ± 0.49 mm a day until the time of ovulation. In the second, the average growth rate from the emergency phase to the deviation phase was 3.27 ± 0.46 mm for the future ovulatory follicle and 3.23 ± 0.67 mm for the subordinate follicle, that suffered atresia. After deviation, the ovulatory follicle increased on average 3.67 ± 0.18 mm a day until ovulation. One day before ovulation, the dominant follicle reached the average size of 37.24 ± 5.88 mm. The echotexture ranged from 0 to 1 (0 a 3) in the luteal phase, and it reached maximum values in the follicular phase. The anatomical and

behavioral changes were compatible with the phase of the estrous cycle in which the females were. In conclusion, the variables evaluated resemble those observed in equine and asinine females.

Key words: mules; emergency; deviation; dominance.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP – Adenosina Monofosfato

CL – Corpo Lúteo

D0 – Dia da Ovulação

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador das Gonadotrofinas

LH – Hormônio Luteinizante

PGF₂ α – Prostaglandina

SRD – Sem raça definida

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do crescimento (mm) dos folículos ovulatório (triângulo) e subordinado (quadrado) desde a fase de emergência até a ovulação, em onda folicular	34
Figura 2 – Representação do crescimento do folículo ovulatório (mm) seis dias antes da ovulação (n=13).	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias e desvio padrão da duração do momento em que ocorreu a emergência e o desvio do folículo ovulatório; e da dimensão máxima do folículo ovulatório em mulas (<i>Equus mulus</i>).	32
Tabela 2 – Médias e desvio padrão da taxa de crescimento folicular em ondas com um ou dois folículos na fase de emergência (<i>Equus mulus</i>).	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Importância da mula na história e na atualidade	18
2.2 Estacionalidade reprodutiva e ciclo estral	18
2.3 Dinâmica folicular em fêmeas equinas e asininas	19
2.4 Características dos hormônios reprodutivos em fêmeas equinas e asininas.....	21
ARTIGO 1:CARACTERÍSTICAS DO CICLO ESTRAL E DA DINÂMICA FOLICULAR EM FÊMEAS MUARES (<i>EQUUS MULUS</i>)	23
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
Animais	29
Ultrassonografia	29
Análise estatística	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

O mercado do cavalo no Brasil vem apresentando nos últimos anos uma retomada de crescimento econômico além de uma estruturação da cadeia produtiva. Segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – ESALQ/USP, o setor movimentou no país um valor superior a R\$ 7,5 bilhões anuais gerando cerca de 640 mil empregos diretos (MAPA, 2011). O Brasil possui o quarto maior rebanho de equídeos do mundo, com uma população estimada em torno de 7.986.023 animais, sendo 5.541.702 equinos, 1.130.795 asininos e 1.313.526 muares (IBGE, 2008). Para suprir as demandas nos sistemas de produção dessas espécies, as biotécnicas destinadas a reprodução vêm se desenvolvendo; para tal, é fundamental o conhecimento da fisiologia reprodutiva, especialmente no que diz respeito às características do ciclo estral.

Os equídeos possuem a habilidade de cruzarem-se com espécies fenotípica e cariotipicamente diferentes. O cruzamento de um macho, asinino, *Equus asinus* ($2n=62$) com uma fêmea equina, *Equus caballus* ($2n=64$) produz os muares, *Equus mulus* ($2n=63$). Embora este cruzamento tenha alta taxa de prenhez e com produtos viáveis, estes são normalmente inférteis. Wodsdalek (1916) foi o primeiro a propor que espermatozoides não são produzidos nos testículos dos burros por uma incompatibilidade cromossômica entre as espécies progenitoras, ocorrendo um bloqueio da meiose. Taylor e Short (1973) demonstraram que na *Equus mulus* ($2n=63$) haveria um bloqueio parcial da meiose dos cromossomos sexuais femininos, produzindo um baixo estoque de oócitos ao nascimento. No entanto, existem várias descrições na literatura de mulas férteis, sendo alguns casos confirmadas com cariotipagem da matriz e do produto (PINHEIRO, 1989; CHANDLEY e CLARKE 1985; RONG, et al. 1985).

A transferência de embriões entre espécies diferentes demonstrou ser bem-sucedida em equinos e muares, que podem levar a denominar uma variedade de diferentes espécies de equinos (ALLEN e ROWSON 1972). A transferência cirúrgica de embriões de equinos e asininos em mulas cíclicas resultou no nascimento de potros vivos (DAVIES; ANTCZAK; ALLEN, 1985), e da mesma forma pelo método não cirúrgico (CAMILLO et al., 2003). Estes autores observaram a dificuldade de sincronização entre doadora e receptoras como limitante da técnica, que

possivelmente esteja ligada à falta de conhecimento da dinâmica folicular e à forma de manipulação artificial do ciclo estral das mulas.

Poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de contribuir para o entendimento do comportamento reprodutivo e dos aspectos fisiológicos do ciclo estral da mula. Estas informações são essenciais quando se considera a utilização destes animais em biotecnologias reprodutivas importantes como a transferência de embrião de asininos e equinos, que têm por objetivo a melhora genética e o aumento da produção de animais de alto valor genético e comercial. Provavelmente, as características do ciclo estral da mula se assemelhem às observadas na égua e na jumenta, uma vez que a fêmea muar é resultado do cruzamento entre as espécies citadas. A partir dessas afirmações, torna-se fundamental o acompanhamento da dinâmica folicular da mula, visando aprofundar o conhecimento na fisiologia reprodutiva desta espécie e a utilização das mesmas como receptoras de embriões. Sendo assim, o padrão de crescimento folicular e a compreensão dos seus mecanismos, são de grande utilidade na manipulação artificial da função ovariana, o que permite proporcionar um controle exógeno da dinâmica folicular destas fêmeas.

O presente trabalho tem por objetivo relatar as características e aspectos reprodutivos encontrados na literatura sobre as fêmeas equina, asinina e muar; assim como estudar no ciclo estral de mulas, a dinâmica folicular durante o espaço interovulatório, acompanhar as mudanças na ecotextura do endométrio, determinar o número de folículos em cada onda folicular, diâmetro e taxa de crescimento do folículo ovulatório

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da mula na história e na atualidade

Na Mesopotâmia e na Assíria, não ter uma mula para montar era sinal de pobreza. Os equinos foram a espécie fundamental na conquista do novo mundo, porém, enquanto estes eram usados em batalhas, os muares carregavam a riqueza dos senhores feudais (RIBEIRO e MELO, 2006).

Atualmente, os muares são considerados animais de grande valia nas regiões tropicais e subtropicais, onde substituem com vantagem os grandes cavalos de tiro das regiões de clima temperado. No Brasil são usados mais na tração de carroças, carroções, carrinhos de mola, charretes e máquinas agrícolas leves. São usados também no transporte de carga sobre o dorso nas regiões montanhosas e acidentadas. Podem ser usados ainda para viagens distantes, podendo fazer etapas de 30 a 40 Km/dia, sem esgotar-se (TORRES; JARDIM, 1992).

No desenvolvimento das espécies, quando duas linhagens se afastam do seu processo evolutivo, essas vão gradativamente se especializando e modificando seu genótipo por mutações e seleção natural, de tal forma que muitas vezes, um retorno a uma espécie comum torna-se impossível. Isto ocorreu com inúmeros animais, mas o caso do cavalo e do jumento é o que melhor ilustra este fato. O cavalo que vivia em grandes manadas nas pradarias desenvolveu maior musculatura, cascos largos, temperamento explosivo, rapidez e agilidade para fugir dos predadores. Já o jumento, que teve durante muito tempo seu habitat em regiões desérticas, montanhosas e rochosas do norte da África e Oriente Médio, sofreu menor pressão de seleção natural para a fuga, tornando-se um animal mais observador e desconfiado. Ao ocorrer o cruzamento dessas duas espécies, *Equus caballus* e *Equus asinus*, o cavalo com 64 cromossomos e o jumento com 62 cromossomos, deu-se origem ao muar com 63 cromossomos, característica essa que torna essa espécie infértil (ABCJPÊGA, 2011).

2.2 Estacionalidade reprodutiva e ciclo estral

A estacionalidade reprodutiva das mulas deve ser semelhante ao que ocorre com as éguas. Por isso, devido à falta de literatura encontrada, os parâmetros correspondentes à estacionalidade reprodutiva e o ciclo estral das mulas serão comparados aos das espécies que lhe dão origem: eqüina e asinina. Fêmeas equinas são consideradas poliéstricas estacionais com fotoperíodo positivo, apresentam vários ciclos estrais durante a temporada reprodutiva, a qual é regulada pela quantidade de horas de luz. O ciclo reprodutivo da égua é dividido em quatro etapas que se diferem endócrina e fisiologicamente: etapa anovulatória, transição de primavera, etapa reprodutiva e transição do outono (GIGLI; RUSSO; AGÜERO, 2006). Segundo Taberner et al. (2008) seguem algumas proposições em seu estudo de que as jumentas não apresentam estação anovulatória.

O começo da etapa reprodutiva ocorre quando as horas de luz são suficientes para suprir o reflexo inibitório produzido pela melatonina sobre a liberação de GnRH. Os primeiros ciclos do ano são irregulares, adquirindo mais regularidade, quanto a duração na medida em que avança a estação reprodutiva. Durante o ciclo da égua ocorrem ondas foliculares que se subdividem em onda maior primária e onda maior secundária. Na primária a ovulação ocorre 24- 48 horas antes que finalize o estro. A onda maior secundária é a ativação e diferenciação de folículos terciários, cujo folículo dominante adquire maior tamanho durante o diestro (GINTHER, 1992). No trabalho de Conceição et al (2009) realizado com jumentas foi encontrada apenas uma única onda folicular maior em dez ciclos estudados.

Gurgel (2007) afirma que o ciclo da égua pode ser dividido ainda em estro (fase folicular) e diestro (fase luteal). Na primeira a égua está sexualmente receptiva ao garanhão com o trato genital preparado para receber os espermatozoides e a ovulação ocorre. Nessa fase os folículos dominantes se desenvolvem e secretam estrógeno, que induz a receptividade sexual. No diestro, a égua rejeita o garanhão e o trato genital está preparado para aceitar e manter o desenvolvimento do concepto (TAROUCO, 2006).

2.3 Dinâmica folicular em fêmeas equinas e asininas

O estudo da dinâmica ovariana nas diferentes espécies domésticas, correlacionada com ações hormonais do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, tem

sido realizado com o objetivo de se conhecer melhor a função ovariana e assim manipular o ciclo estral com eficiência. Com o advento do escaneamento ultrassonográfico dos ovários, principalmente em grandes animais, quando se usa a técnica de ultrassonografia transretal, há uma caracterização em tempo real das estruturas ovarianas. Assim pode-se acompanhar as ondas de desenvolvimento folicular e conhecer os eventos que nela ocorrem, (recrutamento folicular, emergência da onda, crescimento folicular, divergência, ovulação ou regressão), quando eles ocorrem e em que padrões (GINTHER, 1992, 1995).

Segundo McKinnon et al., (1993), aproximadamente dez dias antes da ovulação, o folículo ovulatório surge nas éguas. Conceição et al (2009) descreve que a emergência em jumentas ocorre 9,6 dias após a ovulação (D0), em ciclo estral com duração de $24,1 \pm 2,23$ dias. Estudos recentes apontam que o intervalo entre a emergência e a ovulação foi de $15,8 \pm 4,6$ dias em mulas (SCHIESTL et al., 2013).

O fenômeno de desvio nas éguas tem sido observado a partir da presença de folículos, levando-se em média seis dias após a emergência para a detecção do futuro folículo dominante (GASTAL et al., 1997). Nas jumentas, segundo Conceição et al (2009), o desvio foi mais precoce, com diâmetro folicular menor e ocorreu ao redor de quatro dias após o recrutamento folicular. Neste mesmo estudo o desvio ocorreu $14,0 \pm 0,93$ dias do ciclo estral e a taxa de crescimento diário de $1,31 \pm 0,47$ mm antes do desvio de $2,27 \pm 0,31$ mm após o desvio. Dadarwal et al (2004) obtiveram em éguas a taxa de crescimento do folículo dominante de aproximadamente 3 a 5 mm por dia, e de 2,7 mm por dia em jumentas. No trabalho realizado por Taberner et al. (2008) com jumentas a taxa de crescimento do folículo pré-ovulatório foi 3,7 mm/dia ao longo de cinco dias antes da ovulação. Em mulas a seleção ocorreu $7,7 \pm 2,3$ dias antes da ovulação, crescimento folicular diferente de $2,4 \pm 0,7$ mm/dia antes da seleção e de $3,0 \pm 0,7$ mm/dia depois da seleção (SCHIESTL et al., 2013).

Conceição et al. (2009), descrevem em seu estudo com jumentas que o perfil do crescimento do folículo dominante antes e após o desvio folicular, bem como o crescimento do segundo maior (subordinado) antes do desvio e atresia após o desvio, foi condizente com o que se tem documentado na espécie equina. Isto leva a sugestão de que mecanismos similares ao descrito para égua possam estar envolvidos no desenvolvimento folicular da espécie asinina.

Quanto ao folículo pré-ovulatório as mulas apresentaram declínio quando próximo da ovulação, com tamanho de $50,01 \pm 5,091$ mm (SCHIESTL et al., 2013). Esse tamanho foi maior que o encontrado por Conceição et al. (2009), os quais observaram que o diâmetro máximo do folículo dominante nas jumentas, um dia antes da ovulação foi de 36,7 mm (variando de 28 a 46 mm). No trabalho de Taberner et al. (2008) o diâmetro médio dos folículos pré-ovulatórios em jumentas um dia antes da ovulação foi de $44,9 \pm 0,5$ mm (variando de 35 a 60 mm) porém teve um declínio de crescimento nas últimas 24h antes da ovulação. Já Henry (1987) detectou desenvolvimento de folículos que atingiram tamanhos pré-ovulatórios (≥ 40 mm) em éguas de várias idades e raças diferentes. Conceição et al (2009) descreve que no início do experimento os folículos dominantes que originaram a ovulação, tendo como referência (D0) apresentaram diâmetro máximo de $39,6 \pm 2,65$ mm nas jumentas que apresentaram ovulações únicas. Isto se explica porque só é encontrado um folículo no ovário durante o seu desenvolvimento tendo mais aporte sanguíneo e maior espaço físico para seu crescimento.

2.4 Características dos hormônios reprodutivos em fêmeas equinas e asininas

A emergência de cada onda folicular é temporariamente associada com o surgimento do FSH para ondas maiores e menores. O pico da concentração de FSH ocorre quando o maior folículo atinge, aproximadamente, 13 mm de diâmetro e então começa a declinar. A parada do crescimento folicular ocorre quando o maior folículo alcança um diâmetro de 22mm e o segundo maior alcança 19mm (GINTHER, 2000).

O processo ovulatório resulta das interações entre o LH e o AMP cíclico, prostaglandinas e enzimas proteolíticas. Uma quantidade de LH pré-ovulatório se desenvolve progressivamente em aproximadamente uma semana, estendendo até em média de um dia após a ovulação. O folículo rompe-se e o oócito é expelido pela fossa ovulatória que se localiza no bordo côncavo ou ventral do ovário, é recolhido pela fímbria e liberado no infundíbulo do oviduto até ocorrer a fertilização (TAROUCO, 2006).

O estradiol é um estrógeno primário, secretado pelos folículos em desenvolvimento e é candidato para um efeito inibitório na secreção de FSH no

centro tônico do hipotálamo (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O estradiol começa a aumentar na circulação um dia antes do início da seleção. Além disso, os níveis séricos de estradiol aparentemente não contribuem para a diminuição do FSH até o dia anterior do desvio folicular. A eliminação do maior folículo no início esperado da seleção previne o aumento contínuo do estradiol e resulta em um aumento do FSH. Tanto o estradiol quanto a inibina seriam perdidos quando fosse feita a eliminação do maior folículo e uma diminuição nos dois poderia contar para o aumento resultante no FSH (GURGEL, 2007).

As células da granulosa produzem progesterona à medida que se luteinizam, o FSH começa a aumentar a partir do dia 0 (dia da ovulação), o LH na égua continua em alta devido ao seu metabolismo lento no fígado. O desenvolvimento do corpo lúteo na égua vai ocorrer do dia 0 ao dia 5. Após 10 a 12 horas da ovulação o corpo lúteo produz altas concentrações de progesterona. Isso se dá devido à alta concentração de LH depois da ovulação. Nesse período, o LH continua mantendo a função do corpo lúteo. A alta afinidade dos receptores de LH e células luteais, permitem que o CL se mantenha ativo apesar das baixas concentrações deste hormônio durante o diestro. Na égua outros fatores estão associados à manutenção do CL como tratamentos com antagonistas de GnRH. O período de manutenção do CL na égua vai do dia cinco ao dia 14 do ciclo. A sua regressão ocorre devido à ausência de reconhecimento materno de prenhez em torno do dia 14 do ciclo, quando o útero libera prostaglandina $PGF2\alpha$ levando a luteólise do CL. Ainda, estrógenos auxiliam na habilidade de liberar prostaglandina do útero. Porém, é necessário que a progesterona atue preventivamente sobre as células endometriais. Os estrógenos então têm um *feed back* positivo sobre eles mesmo e aumentam os receptores de estrógenos no endométrio e produzem aumento dos receptores da ocitocina. O CL da égua é formado somente por células da granulosa, não produzindo ocitocina; somente o endométrio produz ocitocina, estimulando a secreção de $PGF2\alpha$ (GIGLI; RUSSO; AGÜERO, 2006).

Artigo 1:

**Características do ciclo estral e da dinâmica folicular em fêmeas muaras
(*Equus mulus*)**

Characteristics of the estrous cycle and the follicular dynamics in females mules
(*Equus mulus*)

Diego Lunelli¹, Adriana Pires Neves²

1- Faculdades Integradas do Vale do Iguaçu – UNIGUAÇU. Rua Padre Saporiti, 717, União da Vitória, PR, Brasil.
2- Universidade Federal do Pampa, UNIPAMPA, Rua 21 de Abril,80, Dom Pedrito, RS, Brasil.

RESUMO

Diferente das éguas e das jumentas, as mulas não se reproduzem devido a incompatibilidade no número de cromossomos entre as espécies progenitoras. Poucos estudos têm sido realizados com a finalidade de contribuir para o entendimento do comportamento reprodutivo e dos aspectos fisiológicos do ciclo estral de fêmeas desta espécie, sendo estas informações essenciais quando se considera a utilização destes animais em biotecnologias reprodutivas importantes como a transferência de embrião. O objetivo desse estudo foi determinar as características do ciclo estral e realizar a avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular durante o ciclo estral de fêmeas muares. Foram acompanhados ciclos estrais de três mulas para determinar o dia da ovulação (D0) e o início da onda folicular. O dia da emergência do futuro folículo ovulatório foi definido como o dia em que o mesmo atingisse 10 mm de tamanho. O início do desvio, caso acontecesse, foi designado como o dia anterior ao dia em que ocorresse uma mudança significativa entre o diâmetro dos dois maiores folículos associado ao não crescimento ou diminuição do tamanho do folículo subordinado. O diâmetro máximo do folículo ovulatório foi obtido no dia anterior ao da ovulação, e as taxas de crescimento definidas antes e após o desvio, nos casos em que fossem observados pelo menos dois folículos. A ecotextura do endométrio foi avaliada nas fases folicular e luteal. A fase de emergência surgiu aos $11,66 \pm 2,8$ dias e o desvio aos $3,66 \pm 0,57$ dias, ambas antes da ovulação. A taxa de crescimento folicular diária foi definida para ondas foliculares que tiveram apenas um folículo na fase de emergência; e também para aquelas que apresentaram dois e por consequência a fase de desvio. Para a primeira situação, a média dessa taxa foi de $3,1 \pm 0,49$ mm ao dia até o momento da ovulação. Já na segunda, a média da taxa de crescimento desde a fase de emergência até a fase de desvio foi de $3,27 \pm 0,46$ mm para o futuro folículo ovulatório e de $3,23 \pm 0,67$ mm para o folículo subordinado, o qual sofreu atresia. Após o desvio, o folículo ovulatório cresceu em média $3,67 \pm 0,18$ mm por dia até a ovulação. Um dia antes da ovulação, o folículo dominante atingiu a dimensão média de $37,24 \pm 5,88$ mm. A ecotextura variou de 0 a 1 em fase luteal, e atingiu valores máximos em fase folicular. As mudanças anatômicas e comportamentais foram compatíveis com a fase do ciclo estral em que as fêmeas se

encontravam. Conclui-se que as variáveis avaliadas se assemelham àquelas observadas em fêmeas equinas e asininas.

Palavras-chave: mulas; emergência; desvio; dominância.

ABSTRACT

Unlike mares and donkeys, mules do not reproduce due to incompatibility in the number of chromosomes between the progenitor species. Few studies have been done with the purpose of contributing to the understanding of the reproductive behavior and the physiological aspects of the estrous cycle of females of this species, this information are essential when considering the use of these animals in important reproductive biotechnologies such as embryo transfer. The objective of this study was to determine the characteristics of the estrous cycle and performs the ultrasound evaluation of the follicular dynamics during the estral cycle of females mules. Three cycles of three mules were followed to determine the day of ovulation (D0) and the beginning of the follicular wave. The day of the emergence of the future ovulatory follicle was defined as the day that it reached 10 mm in size. The beginning of deviation, if it happened, was designated as the day before the day when there was a significant change between the diameter of the two largest follicles associated with non-growth or decreased size of the subordinate follicle. The maximum diameter of the ovulatory follicle was obtained the day before ovulation, and the growth rates defined before and after deviation, in cases where at least two follicles were observed. The echotexture of the endometrium was evaluated in the follicular and luteal phases. The emergency phase occurred at 11.66 ± 2.8 days and the deviation at 3.66 ± 0.57 days, both before ovulation. The daily follicular growth rate was defined for follicular waves that had only one follicle in the emergency phase; and also for those that presented two and consequently the deviation phase. For the first situation, the average of this rate was 3.1 ± 0.49 mm a day until the time of ovulation. In the second, the average growth rate from the emergency phase to the deviation phase was 3.27 ± 0.46 mm for the future ovulatory follicle and 3.23 ± 0.67 mm for the subordinate follicle, that suffered atresia. After deviation, the ovulatory follicle increased on average 3.67 ± 0.18 mm a day until ovulation. One day before ovulation, the dominant follicle reached the mean size of 37.24 ± 5.88 mm. The ecotexture ranged from 0 to 1 in the luteal phase, and reached maximum values in the follicular phase. The anatomical and behavioral changes were compatible with the phase of the estrous cycle in which the females were. In conclusion, the variables evaluated resemble those observed in equine and asinine females.

Key words: mules; emergency; deviation; dominance.

INTRODUÇÃO

Os muares são considerados animais de grande valia nas regiões tropicais e sub-tropicais, onde substituem com vantagem os grandes cavalos de tiro das regiões de clima temperado, devido as características de inteligência e resistência (TORRES; JARDIM, 1992). No meio rural e urbano são de grande popularidade, principalmente pela rusticidade, força física e docilidade, pelos diversos serviços prestados em regiões com topografias acidentadas e por sua adaptação aos mais variados climas do Brasil (OLIVEIRA, 2004).

A fêmea muar mula ($2n=63$) é um indivíduo híbrido resultado do cruzamento da égua ($2n=64$) com o jumento ($2n=62$). Diferente das éguas e das jumentas, as mulas não se reproduzem devido à incompatibilidade do número de cromossomos entre as espécies progenitoras. Wodsedalek (1916) afirma que espermatozóides não são produzidos no macho muar devido a um bloqueio na meiose. O mesmo fato foi observado na fêmea por Taylor e Short (1973), os quais demonstraram que um bloqueio parcial na meiose provocava um baixo estoque de oócitos ao nascimento. Contudo, podem manifestar regularmente sinais de estro e apresentam ciclos estrais, assim como as fêmeas das demais espécies. Por este motivo, as mulas despertam interesse na área reprodutiva, especialmente como receptoras de embrião.

A transferência de embrião pode ser empregada para a conservação de espécies em extinção como os cavalos Przewalski (SUMMERS et al., 2010). No entanto é necessário utilizar fêmeas equídeas de outras espécies para serem utilizadas como receptoras de embrião, capazes de manter a gestação a termo e com boa habilidade materna. Alguns estudos relatam a transferência de embrião interespecie com resultados variados. Utilizando mulas cíclicas como receptoras e a transferência de embrião não cirúrgica, González et al. (2015) obtiveram a sincronização com jumentas doadoras e relatam o nascimento de dois produtos após 372 e 379 dias. O uso de mulas cíclicas como receptoras de equinos e asininos comprovaram-se viáveis, nascendo produtos normais tanto com método cirúrgico (DAVIES et al, 1985), quanto pelo método não cirúrgico (CAMILLO et al, 2003).

No contexto da transferência de embrião, a dificuldade na sincronização entre fêmeas doadora e receptora é o fator limitante da utilização desta biotecnologia, fato

este justificado pela escassez de estudos relativos à dinâmica folicular e as possibilidades de manipulação artificial do ciclo estral de mulas. A partir dessas afirmações, torna-se fundamental o acompanhamento das fases da onda folicular da mula, visando aprofundar o conhecimento na fisiologia reprodutiva desta espécie e a utilização das mesmas como receptoras de embrião. O objetivo deste estudo foi caracterizar as fases de emergência, desvio e dominância; estimar o número de folículos em cada onda folicular, diâmetro e taxa de crescimento do folículo ovulatório; e acompanhar as mudanças na ecotextura do endométrio

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O experimento foi realizado no município de União da Vitória, o qual está localizado a 26°13'48" latitude sul e 51°05'11" longitude oeste, na região sul do estado do Paraná. Durante os meses de setembro de 2015 a março de 2016, foram utilizadas três mulas cíclicas resultantes do cruzamento de éguas SRD com jumento da raça Pêga, com idades que variam de 4 a 10 anos e peso médio de 350 Kg. Os animais receberam diariamente alimentação composta de ração comercial e feno de alfafa, além de sal mineral e água *ad libitum*. No manejo diário foi observado e anotado o comportamento sexual das fêmeas na presença de um garanhão, assim como possíveis alterações anatômicas da genitália externa.

Ultrassonografia

Para a avaliação dos ovários e do útero, foi utilizado aparelho de ultrassom (Mindray DP-2200Vet) com transdutor linear de 5 MHz. Diariamente, as fêmeas foram palpadadas por via transretal e monitoradas para determinar o dia da ovulação (D0); visualizar todos os folículos com tamanho superior a 5 mm e esboça-los em documento próprio, assim como informações relativas à condição uterina.

A dimensão dos folículos com tamanho entre 5 e 10 mm foi definida apenas pela altura dos mesmos, enquanto naqueles com tamanho superior a 10 mm, o

diâmetro folicular foi determinado pela média obtida entre a altura e a largura do antro, utilizando os valores máximos nas imagens visualizadas (Ginther *et al.* 2006). O dia da emergência do futuro folículo ovulatório foi definido como o dia em que o mesmo atingisse 10 mm de tamanho (Gastal *et al.* 1999, 2000), sendo os dias contabilizados deste momento até a ovulação. O início do desvio, caso acontecesse, foi designado como o dia anterior ao dia em que ocorresse uma mudança significativa entre o diâmetro dos dois maiores folículos (Gastal *et al.*, 1997) associado ao não crescimento ou diminuição do tamanho do folículo subordinado. O diâmetro máximo do folículo ovulatório foi obtido no dia anterior ao da ovulação, e as taxas de crescimento definidas antes e após o desvio, nos casos em que fossem observados pelo menos dois folículos.

A ecotextura do endométrio foi graduada de 0 a 3, sendo que valores próximos a 3 representam a fase folicular (presença de dobras endometriais) e valores próximos a 0 são referentes a fase luteal (ausência de dobras endometriais).

Análise estatística

Todos os dados coletados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel 2010 e a análise estatística foi feita de forma descritiva (média e desvio padrão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Citações clássicas na literatura sobre a infertilidade e a ausência de atividade ovariana em mulas já são conhecidas, porém relatos recentes apontam ciclicidade e a utilização das mesmas como receptoras de embrião. Evidências de abatedouro mostraram a presença de corpo lúteo em 45,83% dos ovários avaliados e apenas 15,27% possuíam folículos, sugerindo ciclicidade em fêmeas muares e baixo estoque de folículos (GONZÁLEZ *et al.*, 2014).

As mulas utilizadas nesse experimento apresentaram atividade cíclica reprodutiva durante os meses em que foram avaliadas. No manejo diário, foi observado comportamento sexual compatível com a fase do ciclo estral, ou seja, na presença do garanhão demonstravam interesse pelo mesmo, sendo este fato confirmado pela aproximação, posição de micção, a própria micção com elevação

da cauda e a eversão do clitóris. Em alguns casos, observou-se movimentos de mastigação com a boca aberta. Todas essas características são compatíveis com a fase folicular, a qual foi confirmada durante a avaliação ultrassonográfica pela presença de folículo dominante e edema uterino. Em fase luteal, a ultrassonografia revelou presença de corpo lúteo e ausência de edema uterino, sendo que as fêmeas não demonstraram interesse sexual pelo garanhão, e sim agressividade. Em fase folicular, Volpe et al. (2005) afirmam que as mulas apresentam movimentação dos lábios vulvares, movimentos de mastigação, posição de micção e elevação da cauda. Jumentas apresentam características similares, especialmente os movimentos com a mandíbula, eversão do clitóris, micção frequente e elevação da cauda (VANDERPLASSCHE et al., 1981). Outro sinal importante relatado por Taberner et al. (2008) em jumentas da Catalonia é o de orelhas baixas encostando o pescoço estendido, associado com a abertura e fechamento da boca.

Mulas apresentam secreção vaginal abundante, edema e intumescência vulvar durante o estro (VOLPE et al., 2005). Algumas alterações anatômicas também foram observadas na genitália externa, que mais uma vez, tinham correlação com a fase do ciclo estral. O edema vulvar e a hiperemia da mucosa vaginal foram identificados pela inspeção dessas estruturas na fase folicular, sendo estes fatos não observados em fase luteal, e sim a presença de tonicidade nos lábios vulvares e coloração rósea pálida da mucosa vaginal.

Gastal et al. (2014) relataram que o espaço interovulatório em mulas foi de $22,3 \pm 0,5$ dias. Com a determinação do dia da ovulação (D0), o acompanhamento da nova onda folicular subsequente, formação de folículo dominante e pré-ovulatório, e por fim a formação de um novo corpo lúteo, foi possível contabilizar sete espaços interovulatórios nas fêmeas avaliadas. A duração média desses espaços foi de $24,57 \pm 8,1$ dias (Tabela 1). Em alguns casos, que não foram contabilizados, ocorreram ovulações sem que as mulas apresentassem atividade ovariana subsequente compatível com o início de uma nova onda folicular. Em fêmeas asininas, a literatura demonstra variação considerável nesse aspecto, com duração média de 24 dias (FIELDING, 1988), mas com intervalos que variam de 22 a 29 dias (TABERNER, 2008).

As ondas foliculares que culminaram com a ovulação, independente de pertencerem a intervalos interovulatórios, totalizaram 12 casos. Nessas ondas, foi possível observar as fases de emergência, desvio (quando da presença de mais de

um folículo) e dominância, sendo que o folículo pré-ovulatório surgiu (fase de emergência) em média $11,66 \pm 2,8$ dias antes da ovulação. Em todos os casos acompanhados, a onda emergente era a onda folicular ovulatória, ou seja, neste estudo as mulas apresentaram apenas uma única onda folicular. Em nove casos, somente um folículo emergiu na onda folicular ovulatória e em três casos, dois folículos iniciaram o crescimento. Nestes últimos, baseado nos critérios adotados para definir o momento em que a fase de desvio ocorreu, identificou-se que essa fase surgiu em média $3,66 \pm 0,57$ dias antes da ovulação (Tabela 1). Desta forma, como um dos dois folículos que emergiram sofreu atresia, não ocorreram casos de dupla ovulação.

Conceição et al. (2009) estudaram 10 ciclos estrais de sete jumentas e observaram que as fases de emergência e desvio, ocorreram respectivamente aos $10,2 \pm 0,7$ e $14,0 \pm 0,82$ dias de ciclos estrais com duração média $23,0 \pm 1,79$ dias. Mini pôneis caracterizaram-se por apresentar $12,3 \pm 1,0$ dias em média da ovulação até o início da fase de emergência e $11,2 \pm 0,7$ dias dessa até a próxima ovulação (GASTAL et al., 2008).

Tabela 1 – Médias e desvio padrão da duração do momento em que ocorreu a emergência e o desvio do folículo ovulatório; e da dimensão máxima do folículo ovulatório em mulas (*Equus mulus*).

Variáveis	Média e desvio padrão
Emergência do folículo ovulatório	$11,66 \pm 2,8$ dias antes da ovulação (n=12)
Desvio do folículo ovulatório	$3,66 \pm 0,57$ dias antes da ovulação (n=13)
Diâmetro máximo do folículo ovulatório	$37,54 \pm 5,88$ mm (n=13)

A taxa de crescimento folicular diária foi definida para ondas foliculares que tiveram apenas um folículo na fase de emergência; e também para aquelas que apresentaram dois e por consequência a fase de desvio. Para a primeira situação, a média dessa taxa foi de $3,1 \pm 0,49$ mm ao dia até o momento da ovulação. Já na segunda, a média da taxa de crescimento desde a fase de emergência até a fase de desvio foi de $3,27 \pm 0,46$ mm para o futuro folículo ovulatório e de $3,23 \pm 0,67$ mm para o folículo subordinado, o qual sofreu atresia. Após o desvio, o folículo ovulatório cresceu em média $3,67 \pm 0,18$ mm por dia até a ovulação (Tabela 2).

Em pôneis miniaturas observou-se que a taxa de crescimento folicular do sexto ao terceiro dia antes da ovulação foi de $2,5 \pm 0,4$ mm e de $1,2 \pm 0,4$ mm do terceiro ao dia anterior a ovulação (GASTAL et al., 2008). Em trabalho semelhante,

Taberner et al. (2008) verificaram médias diárias do quinto ao dia anterior da ovulação em jumentas e estabeleceram o valor de $3,7 \pm 0,1$ mm como sendo a média da crescimento nesse intervalo.

Tabela 2 – Médias e desvio padrão da taxa de crescimento folicular em ondas com um ou dois folículos na fase de emergência (*Equus mulus*).

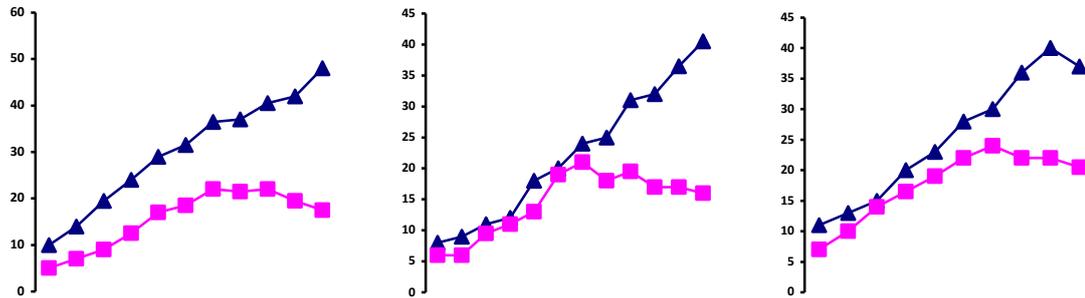
Variáveis	Média e desvio padrão
Folículo ovulatório *	$3,1 \pm 0,49$ mm (n=9)
Folículo ovulatório (antes do desvio) **	$3,27 \pm 0,46$ mm (n=3)
Folículo subordinado (antes do desvio) **	$3,23 \pm 0,67$ mm (n=3)
Folículo ovulatório (após o desvio) **	$3,67 \pm 0,18$ mm (n=3)

(*) Um folículo na fase de emergência

(**) Dois folículos na fase de emergência

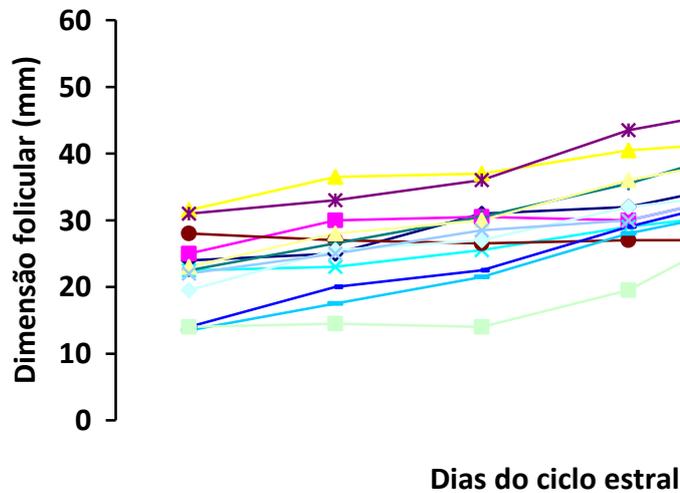
A figura 1 representa o crescimento do folículo ovulatório e do subordinado, fato este que foi observado em apenas três ondas foliculares. Nas demais, o único folículo visualizado na fase de emergência foi o ovulatório. Este evento pode ser explicado pelas conclusões de Taylor e Short (1973), os quais afirmaram que as fêmeas muaras apresentam uma baixa quantidade de oócitos ao nascimento devido a um bloqueio parcial na meiose. Conclusões semelhantes foram abordadas por Souza et al. (2013), o quais avaliaram três ovários de mulas provenientes de abatedouro, sem histórico de idade e selecionados de forma aleatória. No maior ovário (9.17g) observaram 21 folículos primários e um antral; no ovário com peso intermediário (2.3g) nenhum folículo foi encontrado; e no de menor tamanho (1.61g) apenas três folículos primários estavam presentes. Neste mesmo estudo, os autores relatam a visualização macroscópica do parênquima ovariano bastante distinto quando comparado as espécies equina e asinina, além de significativa vascularização.

Figura 1 – Representação do crescimento (mm) dos folículos ovulatório (triângulo) e subordinado (quadrado) desde a fase de emergência até a ovulação, em onda folicular com dois folículos.



Um dia antes da ovulação, o folículo dominante atingiu a dimensão média de $37,24 \pm 5,88$ mm (Tabela 1), sendo que seis dias antes da ovulação a dimensão desse folículo variou de 13,5 a 31,5 mm (Figura 2). Em três casos ($n=13$) o folículo ovulatório, um dia antes da ovulação, reduziu o seu diâmetro em média $2 \pm 1,32$ mm, sendo que nos demais casos, o folículo cresceu $2,16 \pm 0,28$ mm. Gastal et al. (2014) afirmaram que a dimensão do folículo um dia antes da ovulação em mulas com ciclo estral espontâneo foi de $38,2 \pm 0,2$ mm e naqueles ciclos induzidos com prostaglandina $F2\alpha$ observaram $39,4 \pm 0,1$ mm. Para a mesma espécie, Volpe et al. (2005) dimensões que variaram de 39 a 41 mm. Em jumentas da Catalonia que apresentaram dupla ou tripla ovulação, a dimensão folicular máxima alcançada foi de $44,1 \pm 0,6$ mm e em ovulações simples de $46,3 \pm 0,9$ mm (TABERNER et al., 2008). O evento da redução do diâmetro já foi relatado para algumas espécies, fato este confirmado em estudo conduzido por Gastal et al. (2008) em mini pôneis, os quais relatam um decréscimo na taxa de crescimento em $1,2 \pm 0,8$ mm quando o folículo ovulatório atingiu a sua dimensão máxima até o momento da ovulação.

Figura 2 – Representação do crescimento do folículo ovulatório (mm) seis dias antes da ovulação (n=13).



Em fase luteal e no início da onda folicular (folículos com dimensão entre 15 a 20 mm), o endométrio apresentou ecotextura com graduação de 0 a 1 (escala de 0 a 3), que aumentava gradativamente conforme o crescimento folicular, atingindo graduação máxima quando da existência de folículo pré ovulatório e redução significativa da ecotextura após a ovulação.

CONCLUSÕES

Conclui-se que fêmeas muaras apresentam comportamento sexual e alterações anatômicas semelhantes àsquelas observadas em éguas e jumentas. Na dinâmica folicular e nas características do ciclo estral, as variáveis avaliadas demonstraram-se similares quando comparadas as espécies progenitoras, com exceção da quantidade de folículos emergentes no início da onda folicular, na qual foi observado apenas um folículo em desenvolvimento na maior parte das dinâmicas foliculares estudadas. Apesar desta informação, as fêmeas culminaram com a ovulação e formaram corpo lúteo, fato este que pode sugerir a utilização das mesmas como receptoras de embrião, desde que a sincronização com a fêmea doadora seja alcançada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCJPÊGA. Artigos sobre reprodução: **Porque a mula é infértil**. Disponível em <http://www.cavalodosuldeminas.com.br/artigos/reproducao/504/porque_a_mula_é_in_fertil/> Acesso em 16 de junho de 2014.

ALLEN, W.R., ROWSON, L.E.A. Transfer of ova between horses and donkeys. **Proceedings of the 7th International Congress on Animal Reproduction**, Germany, p.484-487, 1972.

ALLEN, W.R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **Reproduction**, v.121, p.513-527, 2001.

CAMILLO F., VANNOZZI I., ROTA A., LUZIO B. DI., ROMAGNOLI S., ÁRIA G., ALLEN W.R. Successful Non-Surgical Transfer of Horse Embryos to Mule Recipients. **Reprod. Dom. Anim.**, v.38, p.380- 385, 2003.

CHANDLEY, A.C, CLARKE C.A. Cum Mula Peperit. **J R Soc Med**, v. 78, p. 800-801, 1985.

CONCEIÇÃO, J.C.; FREITAS NETO, L.M.; AGUIAR FILHO, C.R.; ARAÚJO, G.H.M.; OLIVEIRA, J.B.; BARTOLOMEU, C.C.; OBA, E.; MEIRA, C. Avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular ovariana de Jumenta (*Equus asinus*) durante o ciclo estral. **Medicina Veterinária**, Recife, v.3, n.3, p.7-14, jul-set, 2009.

DADARWAL, D; TANDON, S.N.; PUROHIT, G.N.; PAREEK, P.K. Ultrasonographic evaluation of uterine involution and postpartum follicular dynamics in French Jennies (*Equus asinus*). **Theriogenology** 2004;62:257–64.

DAVIES C.J., ANTEZAK D.F., ALLEN W.R. Reproduction in mules: embryo transfer using sterile recipients. **Equine Vet J Suppl.**, v.3, p.63- 67, 1985.

FIELDING, D. Reproductive characteristics of the jenny donkey – *Equus asinus*: a review. **Tropical Animal Health and Production**. v.20, p.161-166, 1988.

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. **Biol. Reprod.**, v.57, p.1320–1327, 1997.

GASTAL, E. L., BERGFELT, D. R., NOGUEIRA, G. P., GASTAL, M.O., GINTHER, O. J. Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. **Biol. Reprod.**, v.61, p.1492–1498, 1999.

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

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. 29, p.509-517, 2008.

GASTAL, E.L., BARROS, L.O., CARNEIRO, G.F., GASTAL, M.O. Follicular dynamics in mules. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.34, p.144, 2014.

GIGLI, I; RUSSO, A.; AGÜERO, A. **Consideraciones sobre la dinámica ovárica em equino, bovino y camélidos sudamericanos**. tad de Ciências Veterinárias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín, 2006, p183- 204.

GINTHER, O. J. **Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects**. 2nd ed. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 1992.

GINTHER, O.J. Introduction. In: **Ultrasonic imaging and animal reproduction: fundamentals book 1**. Equiservices, 1995. Chap.1, p.7-26.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60-61, p.61-79, 2000.

GINTHER, O. J., UTT, M. D., BERGFELT, D. R., BEG, M. A. Controlling interrelationships between progesterone/LH and estradiol/LH during the equine estrous cycle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.95, p.144–150, 2006.

GONZÁLEZ, S.M., DA SILVA, C.B., MAX, M.C., SOUZA, A.K., GOMES, R.G., SENEDA, M.M. Incidência de folículos, oócitos e corpos lúteos em ovários de mulas recuperados em matadouro. XV Conferência Anual ABRAVEQ, Campos do Jordão, SP, 2014.

GONZÁLEZ, S.M., GOMES, R.G., SOUZA, A.K., SILVA, C.B., SILVA-SANTOS, K.C., SENEDA, M.M. Evidences of regular estrous cycles in mules and successful use of these animals as recipients for donkey embryos. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.35, p. 869-872, 2015.

GURGEL, J.R.C. Dinâmica Folicular em Éguas. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Campus de Poços de Caldas. 2007.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ed. São Paulo: Manole, 2004.

HENRY, M. *et al.* Clinical and endocrine aspects of the oestrus cycle in donkeys (*Equus asinus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35, p.297-303, 1987.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -IBGE. **Produção da pecuária municipal**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/>> Acesso em 27 abr 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Equinos - mercado interno**. Brasília, Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>. Acesso em: 19 set. 2016.

MCKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Williams & Wilkins: p.1115, 1993.

OLIVEIRA, V. B. Uma visão técnica e pedagógica sobre os muares. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Educação Agrícola – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

PINHEIRO, L.E.L., HENRY, M., ROCA M.L.C., GASTAL E.L., GUIMARÃES S.E.F. Caracterização cromossômica de uma mula fértil e de sua progênie. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 1, p. 110, 1989.

RIBEIRO, E.A; MELLO, M.O. Transferência de Embrião Mular para Mulas Acíclicas. **Projeto mula Parida**, 2006.

RONG, R., CAI H., WEI J. Fertile mule in China and her unusual foal. **J R Soc Med**, v. 78, p. 821- 825, 1985.

SCHIESTL, A.J., CAMARGO, C.E., SZCZERBOWSKI, C.R., LUNELLI, D. Acompanhamento ultrassonográfico da dinâmica folicular em mulas (*Equus mulus mulus*). In: Anais da XIV Conferência Annual da ABRAVEQ, v.46, p.271, 2013.

SOUZA, A. K., GONZALEZ, S. M., GOMES, R. G., SENEDA, M. M. Estimate of ovarian follicular population in mules: preliminary results. Proceedings of the 27th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), August 29th to September 1st, 2013, Praia do Forte, BA, Brazil. Abstracts.

TABERNER, E.; MEDRANO, A.; PENA, A.; RIGAU, T.; MIRO, J. Oestrus cycle characteristics and prediction of ovulation in Catalanian jennies. **Theriogenology**, v.70, p.1489–149, 2008.

TAROUCO, A. K. **Fisiologia reprodutiva da égua**. 2006. Disponível em <<http://pucrs.campus2.br/~thompson>>. Acesso em 16 de junho de 2014.

TAYLOR, M.J., SHORT, R.V. Development of the germ cells in the ovary of the mule and hinny. **J. Reprod. Fert.**, v.32, p.441-445, 1973.

TORRES, A. P.; JARDIM, W. R. **Criação do Cavalo e de outros equinos**. 3 ed. São Paulo: Nobel, 1992.

VOLPE, P., RUSSO, M., IANETTI, L., IZZO, B. Endocrine and ultrasonographic aspects of the oestrus cycle of the mule. *The Veterinary Record*, v.157, 740-744, 2005.

WODSEDALEK J.E. Causes of Sterility In the Mule. **Biol Bull Mar Biol Lab Woods Hole**, v.30, p.1-56, 1916.