

REPRODUÇÃO ASSISTIDA EM EQUINOS: uma análise das biotecnologias com foco em ICSI¹

ASSISTED REPRODUCTION IN EQUINES: an analysis of biotechnologies focusing on ICSI

Camille Coutinho Rosa²

Maria Eduarda Siqueira de Oliveira²

Laura Paranaíba Franco Macedo³

RESUMO

O presente trabalho apresenta uma revisão bibliográfica sobre as principais biotecnologias reprodutivas aplicadas à equinocultura, com ênfase na injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). O estudo teve como objetivo analisar e comparar técnicas como a inseminação artificial (IA), a transferência de embrião (TE), e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), destacando suas aplicações, vantagens, limitações e perspectivas no aprimoramento genético de equinos. A pesquisa foi conduzida em bases de dados científicas, resultando na seleção de 55 artigos relevantes sobre o tema. Os resultados demonstram que, embora as técnicas convencionais como IA e TE sejam amplamente empregadas e apresentem bons índices de prenhez, a FIV ainda enfrenta limitações devido à baixa eficiência da capacitação espermática na espécie. Nesse contexto, a ICSI surge como a biotecnologia mais promissora, permitindo a fecundação direta do oócito e superando as barreiras fisiológicas típicas dos equinos. Observou-se também que fatores como idade e raça das éguas, qualidade dos gametas, estação reprodutiva e condições laboratoriais influenciam o sucesso dos procedimentos. Conclui-se que a utilização integrada dessas biotecnologias, especialmente a ICSI, representa um avanço significativo para o melhoramento genético, a conservação de linhagens e o fortalecimento da equinocultura brasileira.

Palavras-chave: Produção *in vitro* de embriões; Fisiologia reprodutiva; Subfertilidade; Comparação de biotecnologias reprodutivas; Melhoramento genético.

¹ Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade FacMais de Ituiutaba, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária, no segundo semestre de 2025.

² Acadêmica do 10º período do curso de Medicina Veterinária pela Faculdade FacMais de Ituiutaba.

Email: camille.rosa@aluno.facmais.edu.br

² Acadêmica do 10º Período do curso de Medicina Veterinária pela Faculdade FacMais de Ituiutaba.

Email: mariaeduarda.siqueira@aluno.facmais.edu.br

³ Professora-orientadora. Especialista em Pecuária Leiteira. Docente da Faculdade FacMais de Ituiutaba.

E-mail: laura.macedo@facmais.edu.br

ABSTRACT

This paper presents a literature review on the main reproductive biotechnologies applied to equine breeding, with emphasis on intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The study aimed to analyze and compare techniques such as artificial insemination (AI), embryo transfer (ET), and intracytoplasmic sperm injection (ICSI), highlighting their applications, advantages, limitations, and perspectives in the genetic

improvement of horses. The research was conducted in scientific databases, resulting in the selection of 55 relevant articles on the subject. The results demonstrate that, although conventional techniques such as AI and ET are widely used and present good pregnancy rates, IVF still faces limitations due to the low efficiency of sperm capacitation in the species. In this context, ICSI emerges as the most promising biotechnology, allowing direct fertilization of the oocyte and overcoming the typical physiological barriers of horses. It was also observed that factors such as the age and breed of the mares, gamete quality, reproductive season, and laboratory conditions influence the success of the procedures. It is concluded that the integrated use of these biotechnologies, especially ICSI, represents a significant advance for genetic improvement, lineage conservation, and the strengthening of Brazilian equine breeding.

Keywords: in vitro embryo production; reproductive physiology; subfertility; comparison of reproductive biotechnologies; genetic improvement.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a quarta posição no *ranking* mundial de rebanhos equinos, contabilizando cerca de 5,8 milhões de animais, atrás apenas dos Estados Unidos, China e México (IBGE, 2024). No cenário nacional, Minas Gerais se destaca como o estado com maior rebanho, com cerca de 788 mil equinos, representando 13,6% do total do país (Minas Gerais, 2024). Além disso, a equinocultura movimenta, por ano, mais de R\$30 bilhões e gera cerca de 3 milhões de empregos diretos e indiretos, evidenciando sua importância como um segmento estratégico dentro do agronegócio brasileiro (Compre Rural, 2023).

Neste contexto, destaca-se a relevância da equinocultura nacional. Todavia, historicamente, as biotecnologias reprodutivas em equinos foram desenvolvidas de forma mais tardia em relação a outras espécies de interesse zootécnico, como bovinos e suínos. A primeira transferência de embriões em equinos bem-sucedida ocorreu na década de 1970, enquanto em bovinos e suínos, essas técnicas já eram aplicadas com sucesso desde a década de 1950 (Squires *et al.*, 2003).

A introdução da inseminação artificial (IA) em equinos também foi posterior, sendo estabelecida na década de 1970, enquanto em bovinos, a IA já era utilizada desde a década de 1930 (Carnevale, 2000).

De acordo com Morris (2018), a primeira gestação obtida por meio de ICSI foi relatada em 1996. Nesse procedimento, espermatozoides frescos foram selecionados pela técnica de *swim-up*, em seguida um único espermatozoide foi microinjetado em um oócito previamente maturado *in vitro*.

Esse avanço mais recente em equinos reflete os desafios específicos da espécie, como a baixa eficiência na fertilização *in vitro* convencional e a complexidade na manipulação dos gametas, que exigiram mais tempo para o desenvolvimento e aprimoramento das biotecnologias reprodutivas (Scheeren *et al.*, 2025).

Embora a ICSI apresente benefícios na reprodução de equinos, observa-se uma escassez de estudos nacionais que avaliem a eficácia da técnica e sua adequação às condições brasileiras, especialmente em animais de alto valor genético destinados a competições e reprodução seletiva. Tal lacuna acadêmica justifica a condução desta pesquisa, que visa contribuir com dados técnicos e científicos nesse campo emergente.

Neste contexto, o presente estudo está relacionado à biotecnologia aplicada à reprodução de equinos e o objetivo geral proposto foi analisar a aplicação da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) em equinos com capacidade reprodutiva reduzida, especialmente indivíduos de elevado mérito genético. Os objetivos específicos que se buscam alcançar são: descrever a técnica da ICSI e suas etapas; compreender seus pontos positivos e desvantagens; compará-la com biotecnologias reprodutivas mais utilizadas como a inseminação artificial (IA), transferência de embrião (TE); além de avaliar os benefícios, as limitações operacionais e as perspectivas futuras dessa tecnologia no contexto da reprodução assistida.

Dessa forma, este estudo busca avaliar a aplicabilidade da ICSI na reprodução equina, considerando-a como uma estratégia para superar a subfertilidade, destacando seu potencial como ferramenta de melhoramento genético e contribuição para o avanço da equinocultura brasileira.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Na pecuária brasileira, o melhoramento genético desempenha um papel fundamental na equideocultura, sendo uma das principais ferramentas para o avanço da reprodução animal, contribuindo para o aumento da eficiência reprodutiva, na qualidade do plantel e da competitividade no mercado internacional. Por meio dessa seleção de animais superiores e da aplicação de biotecnologias reprodutivas, é possível fortalecer as características desejáveis, destacando-se principalmente na produção de cavalos com maiores aptidões de resistência, linhagem de produção, pelagem, além de melhores valores de mercado (Cabral *et al.*, 2023).

Nesse contexto, compreender anatomia e os mecanismos fisiológicos é essencial para o sucesso das biotecnologias aplicadas ao melhoramento genético. O processo reprodutivo dos mamíferos tem início com o desenvolvimento e a maturação das células germinativas, que culminam na formação dos gametas funcionais. Nas fêmeas, destacam-se o crescimento folicular e a seleção do folículo dominante, seguidos pela ovulação, processos regulados por mecanismos endócrinos. Nos machos, ocorre a espermatogênese, responsável pela produção e maturação dos espermatozoides, também sob controle hormonal preciso. A compreensão detalhada dessas etapas é essencial para o estudo da fisiologia reprodutiva e para a aplicação de biotecnologias reprodutivas em animais (Hafez; Hafez, 2013; Noakes; Parker; Hutchison, 2009).

2.1 Anatomia do aparelho reprodutor da égua

Entender a anatomia do trato reprodutor da égua é fundamental para o sucesso com as biotecnologias reprodutivas. O sistema reprodutor feminino é composto por ovários, ovidutos, útero, cérvix, vagina e vulva, estruturas que atuam de forma integrada para possibilitar a ovulação, fecundação, o transporte embrionário e manutenção da gestação. A vulva é a abertura externa do canal reprodutor, composto por lábios, clitóris e vestibulo, essa região é importante para proteger a égua da entrada de ar e outras contaminações. A vagina consiste em um tubo revestido de membrana mucosa muscular, conectando o vestibulo da vulva com o colo do útero. A cérvix tem função de oferecer proteção a cavidade uterina de contaminações externas e permite o transporte dos espermatozoides. O útero é responsável pela produção hormonal, regulando a função do corpo lúteo, atua na manutenção da gestação e contrações durante o parto e desenvolvimento embrionário. Os ovários são bilaterais, e nos equinos apresentam formato de feijões, responsáveis por produzir gametas femininos (oócitos) através da gametogênese e apresentam particularidades anatômicas importantes como a fossa de ovulação, que é o local exclusivo onde ocorre a liberação do oócito. Os ovidutos também são bilaterais e responsáveis por captar o oócito, através do infundíbulo no seu terço final (Equinovet, 2021).

Compreender essas estruturas e suas funções é indispensável para o sucesso das técnicas de aspiração folicular, maturação oocitária, transferência de embriões e a ICSI, uma vez que alterações anatômicas ou funcionais podem comprometer os resultados reprodutivos.

2.2 Foliculogênese

É um processo fisiológico fundamental para a reprodução em fêmeas de mamíferos. Em equinos, a dinâmica folicular apresenta características peculiares em relação a outras espécies domésticas, o que demanda atenção especial em programas de reprodução assistida (Ginther, 1992). Os folículos ovarianos se desenvolvem a partir de uma população de folículos primordiais, que entram em diferentes estágios de crescimento até alcançarem a ovulação. Esse processo é regulado por um equilíbrio hormonal envolvendo FSH, LH e fatores intraovarianos locais (Hsueh *et al.*, 2015; Roy, 1994; Lima-Verde *et al.*, 2011).

Éguas exibem várias ondas foliculares ao longo do ciclo estral. Cada onda consiste em folículos que emergem, crescem, alguns se estabilizam e outros incluem um folículo dominante que pode ovular. Após o surgimento de uma onda ovulatória, os folículos crescem em uma fase comum até o início da divergência, momento em que o folículo dominante continua a crescer enquanto os subordinados começam a regredir. A divergência ocorre quando o futuro folículo dominante atinge aproximadamente 22,5 mm, e as ondas ovulatórias, as ondas anovulatórias maiores e as menores originam-se de um pico de FSH. As concentrações intrafoliculares de estradiol, IGF-1, inibina-A e activina-A aumentam de forma diferencial no futuro folículo dominante, e resultados experimentais demonstram que o sistema IGF-1 é crucial para o início das diferenças em águas (Ginther *et al.*, 2004).

As ondas ovulatórias, assim como as ondas anovulatórias maiores e as ondas menores, originam-se da estimulação de um pico de FSH, que atinge o pico quando o maior folículo tem cerca de 13mm. Na fase de desvio, o folículo dominante continua a crescer e os subordinados começam a regredir (Ginther *et al.* 2004).

O diâmetro dos folículos pré-ovulatórios em éguas também sofre influência sazonal e ambiental. Rua *et al.* (2019) encontrou médias de $\sim 39,3 \pm 3,8$ mm (ovário esquerdo) e $\sim 39,2 \pm 3,5$ mm (ovário direito), com pequenas variações conforme temporada e lado do ovário, mas sem efeito do ano.

A variabilidade no diâmetro pré-ovulatório, sazonalidade e saúde da égua (idade, raça, estado corpóreo) implicam diretamente na eficiência da recuperação de oócitos. Folículos menores ou folículos em ondas anovulatórias geram oócitos com menor competência de maturação, o que repercute em baixos índices de clivagem e desenvolvimento embrionário. Portanto, para técnicas como aspiração folicular (OPU), superovulação ou sincronização, conhecer a dinâmica folicular é crucial para maximizar o rendimento.

2.3 Ovulação

A ovulação corresponde ao rompimento do folículo dominante e à liberação do oócito apto à fertilização. O evento é desencadeado pelo pico pré-ovulatório de LH, que induz modificações estruturais e bioquímicas no folículo, culminando na ruptura da parede folicular e na extrusão do oócito envolto pelas células do cúmulo (Carnevale; Ginther, 1995). Nas éguas, a ovulação apresenta especificidades importantes devido à fossa de ovulação, região exclusiva onde ocorre a liberação do oócito, característica única entre os equinos (McKinnon *et al.*, 2016).

O pico de LH (Luteinizing Hormone) é o principal desencadeador da ovulação, induzindo reativação da meiose no oócito, produção de prostaglandinas, degeneração do estroma folicular na parede do folículo, aumento da pressão intra folicular e ruptura.

Estudos indicam que a administração de hCG em éguas com folículos de pelo menos 35 mm de diâmetro pode induzir a ovulação dentro de 24 a 48 horas na grande maioria dos casos (Bollwein; Braun, 2001). Além disso, revisões clínicas sugerem que a ovulação costuma ocorrer por volta de 36 a 40 horas após o tratamento, quando o folículo está nesse tamanho (McCue; Ferris; Burden, 2014).

Fatores como estação do ano, fotoperíodo, saúde geral da égua, presença de dominantes residuais antigas, e sincronização hormonal afetam a resposta à indução da ovulação e o tempo de ovulação.

A ovulação adequada é importante para técnicas de coleta de oócitos, maturação *in vitro* e ICSI, uma vez que o estágio em que o oócito se encontra (normalmente metáfase II) determina sua competência para fecundar e prosseguir o desenvolvimento embrionário. Se um oócito for coletado cedo ou sem maturação suficiente, mesmo com bom espermatozoide não há garantia de sucesso.

2.4 Espermatogênese

É o processo de formação dos gametas masculinos, ocorrendo nos túbulos seminíferos dos testículos. É dividida em três fases principais: multiplicação, crescimento e diferenciação (Setchell, 2006). Em garanhões, a espermatogênese dura aproximadamente 57 dias (Johnson *et al.*, 1997), podendo variar conforme raça, saúde, estação e nutrição; é um processo contínuo e dependente da ação coordenada de hormônios hipofisários e gonadais — em particular FSH, LH e testosterona (Roser, 2008; Leme, 2003).

A qualidade espermática é fator determinante para o sucesso reprodutivo, especialmente em biotecnologias de reprodução assistida. Além do tempo, a qualidade espermática é afetada por morfologia, motilidade progressiva, integridade

de DNA, níveis de antioxidantes, manejo térmico (exposição a calor), alimentação e saúde geral.

Uma característica relevante para ICSI: mesmo espermatozoides com motilidade baixa ou com pequenas irregularidades morfológicas, contanto que sejam viáveis e com DNA intacto, podem ser usados, dado que apenas 1 espermatozoide é requerido por oócito. Isso permite aproveitar melhor um sêmen congelado, de baixa quantidade ou de gananhões com qualidade espermática subótima.

2.5 Capacitação Espermática

A capacitação espermática é o processo pelo qual o espermatozoide adquire a capacidade de fecundar o oócito. Após a ejaculação, ele precisa passar por uma série de modificações que ocorrem naturalmente dentro do trato reprodutivo da fêmea, principalmente nas tubas uterinas. Essas mudanças tornam o espermatozoide apto a realizar a reação acrossômica, necessária para penetrar a zona pelúcida e permitir a fertilização (Yanagimachi, 1994).

Em termos práticos, a capacitação prepara o espermatozoide para se tornar mais ativo e funcional, possibilitando que ele reconheça e interaja com o oócito. Esse processo é fundamental para que ocorra a fecundação de forma natural, sendo um passo indispensável em qualquer tentativa de reprodução assistida.

Em espécies como bovinos e suínos, já se conhece bem o ambiente e os fatores necessários para reproduzir a capacitação *in vitro*, o que permite a realização de fertilização em laboratório com bons resultados (Parrish *et al.*, 1986). No entanto, em equinos, a capacitação espermática ainda não é completamente compreendida, e os métodos utilizados em outras espécies não funcionam de maneira eficaz.

O principal motivo é que o espermatozoide equino apresenta características fisiológicas únicas, sendo mais estável e resistente às mudanças que normalmente induzem a capacitação em outras espécies. Além disso, o ambiente reprodutivo da égua fornece sinais e substâncias específicas que ainda não foram totalmente identificadas ou reproduzidas em meios de cultura laboratoriais (Hinrichs, 2012).

2.5.1 Relevância para fecundação e técnicas *in vitro*

A dificuldade em promover uma capacitação espermática totalmente eficiente em equinos é um dos principais fatores responsáveis pelas baixas taxas de fertilização obtidas por FIV convencional nessa espécie. Essa limitação fez com que a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se tornasse a técnica preferencial em diversos laboratórios especializados em reprodução equina.

As condições necessárias para a capacitação, como tempo de incubação, temperatura, disponibilidade de substratos metabólicos, presença de antioxidantes e componentes derivados do fluido folicular ou ovidutal são extremamente específicas e ainda não foram plenamente reproduzidas em ambiente laboratorial. A ausência desses fatores fisiológicos impede que o espermatozoide equino complete adequadamente as etapas que o tornam capaz de fertilizar o oócito.

Dessa forma, embora a inseminação artificial e a transferência de embriões sejam amplamente aplicadas com sucesso em equinos, a FIV convencional permanece com resultados limitados. Os índices de sucesso de etapas individuais que envolvem a FIV em equinos ainda estão longe de permitirem a utilização destas técnicas em protocolos de rotina, como acontece em bovinos (Parrish *et al.*, 1986;

Greve *et al.*, 1987). Nesse contexto, a ICSI apresenta maior eficiência por permitir a fecundação direta do oócito, dispensando a necessidade da capacitação espermática.

2.6 Fecundação

A fecundação consiste na fusão do gameta masculino com o feminino, resultando no zigoto. O processo envolve penetração das células do cúmulo, reação acrossômica, fusão das membranas e ativação do oócito (Alberts *et al.*, 2017).

Em espécies como bovinos, suínos e humanos, a fecundação *in vitro* convencional é bem estabelecida, com taxas razoáveis de clivagem e desenvolvimento até blastocisto, pois os meios de cultura têm sido otimizados ao longo das décadas. Já nos equinos, as dificuldades técnicas reforçam a necessidade da ICSI como alternativa (Hinrichs, 2012), pois a fecundação *in vitro* apresenta resultados inconsistentes devido a particularidades fisiológicas e técnicas.

Entretanto na espécie eqüina isto não é regra. Infelizmente, até esta data apenas 2 embriões foram produzidos de FIV e em ambos casos os oócitos foram coletados de folículos pré-ovulatórios conseqüentemente maturados *in vivo* (Bézar et al., 1989). Devido ainda ao número limitado de abatedouros de eqüinos o tempo da coleta dos ovários a aspiração dos oócitos tem variado consideravelmente (18-24 horas) dificultando conseqüentemente os estudos e comprometendo a viabilidade dos oócitos estudados (Carneiro, 2016, p. 162).

A fecundação é o encontro bem-sucedido entre o espermatozoide capacitado e o oócito maduro, resultando em uma série de eventos coordenados que culminam na formação do embrião. Após o reconhecimento e a ligação à zona pelúcida, ocorre a reação acrossômica, permitindo a penetração do espermatozoide e a fusão das membranas gaméticas. Em seguida, há a ativação do oócito, que completa a meiose II (nas espécies em que permanece bloqueado na metáfase II), levando à formação dos pronúcleos e ao início do desenvolvimento embrionário.

O conhecimento aprofundado dos mecanismos fisiológicos descritos anteriormente constitui a base para a aplicação eficiente das biotecnologias reprodutivas, que visam contornar limitações naturais e otimizar o desempenho reprodutivo em equinos.

3 BIOTECNOLOGIAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

O uso das biotecnologias na criação de equinos tem obtido cada vez mais reconhecimento como recurso para promover o ganho genético e melhorar o poder competitivo dos animais. Apesar dos avanços proporcionados, o uso das biotecnologias reprodutivas em equinos ainda enfrenta desafios fisiológicos e de manejo que limitam sua eficiência.

A reprodução equina enfrenta diversas limitações fisiológicas e gerenciais que impactam a eficiência reprodutiva e econômica dos sistemas de criação. Em primeiro lugar, há a sazonalidade reprodutiva: as éguas são poliétricas estacionais de dias longos, o que significa que sua atividade reprodutiva é fortemente influenciada pelo fotoperíodo, limitando o número de ciclos férteis por ano.

Adicionalmente, o longo período de gestação (aproximadamente 310 a 340 dias) torna difícil manter uma produção de potro por ano por égua sem afetar seu

estado físico. Outro problema importante é a eficiência placentária, que pode ser comprometida por fatores como raça, idade da fêmea e condições nutricionais, reduzindo o fornecimento de nutrientes ao feto e predispondo a perdas gestacionais.

Há ainda fatores genéticos (incluindo expressão de genes relacionados à apoptose em oócitos e células do cumulus), ambientais (nutrição, estresse) e maternos (alterações anatômicas ou funcionais do trato reprodutivo, falha no reconhecimento materno da gestação) que aumentam o risco de abortamentos, perdas embrionárias ou diminuição da fertilidade. Essas limitações exigem manejo especializado, uso e escolha criteriosa das biotecnologias e constante monitoramento veterinário para maximizar o sucesso reprodutivo.

Diante dessas barreiras da reprodução na espécie e da exigência de preservar as características desejáveis, as biotecnologias reprodutivas surgem como meio estratégico para superá-las. Para que o Brasil mantenha seu destaque internacional, é fundamental implementar técnicas de reprodução assistida, como a inseminação artificial (IA), transferência de embrião (TE) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

Com base nas técnicas anteriormente citadas, torna-se importante compreender os princípios e aplicações de cada uma delas.

3.1 Inseminação Artificial (IA)

É relatado a prática da inseminação artificial em humanos e equinos desde períodos anteriores ao nascimento de Cristo, embora não existam comprovações oficiais. Entre os relatos mais citados, encontra-se o de 1322 d.C., quando um sheik árabe teria utilizado sêmen de um garanhão pertencente a um povo inimigo para inseminar uma de suas éguas, resultando no nascimento de um potro considerado o primeiro caso bem-sucedido de inseminação artificial em animais (Luz; Celeghini; Brandão, 2024).

O primeiro registro de IA em equinos no Brasil foi publicado pelo Médico Veterinário Epaminondas Alves de Souza, em 1912. A inseminação artificial pode ser realizada de diferentes formas de processamento do sêmen, como *in natura*, diluído, resfriado ou congelado (Canisso *et al.*, 2008).

A inseminação artificial em equinos é caracterizada pela deposição do sêmen coletado diretamente no útero da fêmea, sem necessidade de monta natural (Alvarenga; Carmo, 2007). A deposição do sêmen no trato genital feminino deve ser realizada no momento próximo à ovulação, determinada por meio de acompanhamento ultrassonográfico dos folículos ovarianos. A ovulação geralmente ocorre quando o folículo dominante atinge entre 35 e 45 mm de diâmetro, e a inseminação é realizada de 12 a 24 horas antes da ovulação prevista. O sêmen, que pode ser fresco, resfriado ou congelado, é depositado diretamente no corpo do útero por meio de uma pipeta introduzida pela cérvix. Quando se utiliza sêmen congelado, a inseminação deve ser realizada no momento da ovulação ou até 6 horas após sua ocorrência, pois o oócito apresenta um curto período de viabilidade, e o espermatozoide descongelado sobrevive por poucas horas no trato reprodutivo da égua.

Dessa forma, esse sincronismo é essencial para aumentar as chances de fecundação e evitar a perda da janela fértil. Recomenda-se a inseminação profunda no corno uterino ipsilateral ao ovário com o folículo pré-ovulatório, visando aumentar a concentração espermática próxima ao local de fecundação. A técnica é amplamente

aplicada por oferecer bons índices de prenhez, otimizar o uso do material genético dos garanhões e reduzir os riscos de transmissão de doenças e acidentes associados à monta natural.

A inseminação artificial (IA) é a biotecnologia mais amplamente disseminada na reprodução animal, apresentando inúmeras vantagens (Sprott *et al.*, 2000). A IA é uma das biotecnologias mais utilizadas no meio da medicina veterinária.

3.2 Transferência de Embrião (TE)

Atualmente, apesar da inseminação artificial ser a técnica mais utilizada em equinos, a transferência de embrião está sendo bastante empregada pelos produtores para adquirir éguas com uma genética melhor, podendo aumentar a quantidade de potros feito por garanhões, sem a precisão da monta natural, reduzindo estresse e riscos de transmissão de doenças sexuais. A TE é mais utilizada para reproduzir éguas de alta qualidade, sem impedir sua atividade no esporte.

No Brasil, o médico veterinário João Junqueira Fleury iniciou a utilização da TE comercial em equinos em 1986 e o Brasil e os EUA respondem por cerca de 70% dos embriões transferidos no mundo atualmente (Alvarenga; Carmo, 2007). Segundo Silveira, Marques e Silva (2024), Teske (2017) e McCue (2011), a transferência de embriões em equinos é uma das biotecnologias mais importantes aplicadas à reprodução assistida, pois permite o aproveitamento máximo do potencial genético de éguas de elevado valor, sem prejudicar sua atividade esportiva ou reprodutiva.

A coleta de embriões em éguas é realizada por lavagem uterina (*flushing*), utilizando uma sonda de Foley acoplada a um coletor de embrião com filtro. Introduce-se a sonda pela cérvix e infunde-se de 2 a 4 litros de solução estéril de lavagem uterina (geralmente Ringer lactato). O líquido é então recuperado por gravidade para o coletor, filtrado e o embrião é identificado. Geralmente embriões de sêmen fresco são visíveis a olho nu, já os embriões de sêmen congelados são vistos com auxílio de uma lupa ou microscópio. A coleta é feita entre o 7º e o 8º dia pós-ovulação quando se utiliza sêmen fresco ou resfriado, e entre o 8º e o 9º dia quando se usa sêmen congelado, devido ao leve atraso na fertilização e desenvolvimento embrionário. Após a recuperação, o embrião pode ser transferido para uma receptora sincronizada ou criopreservado para uso posterior.

3.3 Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI)

A ICSI consiste na introdução de um único espermatozoide diretamente no citoplasma do oócito, utilizando micromanipuladores acoplados a microscópios invertidos de alta resolução (Palermo *et al.*, 1992). Adaptada inicialmente da medicina humana, tornou-se uma das principais técnicas de produção *in vitro* de embriões em equinos devido às dificuldades na capacitação espermática. Entre as vantagens estão: uso de sêmen de baixa qualidade, aproveitamento de palhetas congeladas raras e preservação do material genético de animais de alto valor zootécnico. Contudo, a técnica ainda demanda infraestrutura especializada e elevado custo, limitando sua difusão comercial (Morris, 2018).

Recentemente, Oliveira *et al.* (2024) publicaram uma revisão mostrando aumento no uso da técnica, sobretudo em casos de qualidade espermática reduzida, sêmen congelado ou quantidade limitada de sêmen, ou para preservação de material genético.

Assim, a ICSI consolida-se como a principal biotecnologia reprodutiva para equinos subférteis, pois contorna limitações fisiológicas intrínsecas da espécie, como a dificuldade de capacitação espermática e a baixa taxa de fecundação *in vitro* convencional, representando um marco na reprodução assistida equina.

Quadro 1 - Comparação das taxas de prenhez entre as biotecnologias de reprodução assistida em equinos.

Biotecnologia	Autores/Artigo	Taxas	
		Sêmen fresco	Sêmen congelado
Inseminação artificial (IA)	SIEME, H.; BONK, A.; HAMANN, H.; KLUG, E.; KATILA, T. Effects of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive efficiency. Theriogenology , v. 62, n. 5, p. 915–928, 2004.	59,5% de prenhez	37,2% de prenhez
Transferência de embrião (TE)	CORREIA, S. C.; PEREIRA, R. M. L. N.; CAROLINO, N.; ÁVILA, O.; DUARTE, S. C. Equine embryo transfer: the effect of semen processing and donor mare management on recovery rates. Archivos de Zootecnia , v. 70, n. 270, p. 192–199, 2021.	61,1% recuperação embrionária	~30% recuperação embrionária
Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)	FELIX, M. R.; DOBBIE, T.; WOODWARD, E.; LINARDI, R.; OKADA, C.; SANTOS, R.; HINRICHS, K. Equine in vitro fertilization with frozen–thawed semen is associated with shortened pre-incubation time and modified capacitation-related changes. Biology of Reproduction , v. 112, n. 5, 2025.	Raramente se usa sêmen fresco	27,8% blastocisto por oócito coletado

Fonte: Elaborado pelas autoras.

3.3.1 Etapas do Processo da ICSI

A injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) é uma técnica avançada de reprodução assistida amplamente utilizada em equinos, especialmente quando há baixa motilidade espermática ou quando se deseja aproveitar ao máximo os oócitos obtidos pela aspiração folicular transvaginal (Ovum Pick-Up – OPU).

Nesse contexto, a OPU representa uma etapa fundamental do protocolo, uma vez que a qualidade e a viabilidade dos oócitos coletados influenciam diretamente os resultados da fecundação e do desenvolvimento embrionário.

Durante o procedimento da OPU, as éguas são sedadas e os folículos maiores que 10 mm são aspirados com auxílio da ultrassonografia transvaginal. O intervalo

ideal entre as aspirações é de aproximadamente três semanas, permitindo adequada recuperação folicular (Jacobson *et al.* 2010). O fluido aspirado é filtrado e examinado sob lupa, e os oócitos viáveis são acondicionados em tubos contendo meio de transporte como Embryo *holding medium* ou fluido de oviduto sintético modificado, mantidos a 22-25°C, por até 24 horas, sem prejuízo à maturação e posterior formação de blastocistos (Briski; Salamone, 2022; Claes; Stout, 2022).

No laboratório, os oócitos passam por três etapas principais:

- 1) Maturação *in vitro* (MIV): a taxa média de maturação varia entre 50-60% (Choi *et al.*, 2004; Hinrichs, 2010; Sansinena, 2020).
- 2) ICSI: uma pequena fração da palheta de sêmen (aproximadamente 1/10) é cortada sob nitrogênio líquido e descongelada. Após a lavagem realizada por técnicas como *swim-up*, gradiente de densidade ou lavagem simples, conforme a qualidade da amostra, os espermatozoides são colocados em meio contendo polivinilpirrolidona (PVP), o que reduz sua motilidade e facilita a seleção individual (Colleoni *et al.* 2011).

A seleção ocorre sob microscópio invertido equipado com sistema de micromanipulação e duas micropipetas: uma para segurar o oócito e outra para injetar o espermatozoide. O espermatozoide é imobilizado por ruptura da cauda e injetado diretamente no citoplasma do oócito. A penetração pode ser feita pelo método convencional, utilizando pressão mecânica com micropipeta biselada, ou pelo método piezoelétrico, que aplica vibrações elétricas para perfurar a zona pelúcida com maior precisão e menor dano celular (Rader *et al.*, 2016; Salamone *et al.*, 2017).

Figura 1 - Um oócito sendo segurado pelo micromanipulador a vácuo (esquerda) e espermatozoide prestes a ser injetado no citoplasma do oócito pela pipeta biselada (direita).



Fonte: InVitro Equinos (2025)⁵.

⁵ Disponível em: <https://invitroequinos.com/icsi/>. Acesso em: 12 nov. 2025.

- 3) Cultivo *in vitro*: após 7 a 8 dias de cultivo, cerca de 20% dos oócitos atingem o estágio de blastocisto (Choi *et al.*, 2004; Hinrichs, 2010b;

Sansinena, 2020), sendo então transferidos para éguas receptoras sincronizadas, onde ocorre o desenvolvimento gestacional.

A ICSI representa um grande avanço na reprodução equina, pois dispensa a capacitação espermática e permite fecundar diretamente o oócito, superando limitações da fertilização *in vitro* convencional. Essa técnica tem se mostrado eficaz na produção de embriões a partir de sêmen de garanhões de alto valor genético e de oócitos obtidos de éguas subfêrteis, embora fatores como a qualidade e maturidade dos oócitos ainda influenciam significativamente as taxas de sucesso.

3.3.2 Vantagens

Requer apenas um espermatozoide por oócito, o que permite otimizar o uso de material limitado ou de qualidade inferior. Também possibilita o uso de sêmen congelado e de garanhões com baixa motilidade ou morfologia comprometida, uma vez que a barreira da capacitação e da zona pelúcida é superada pela injeção direta do espermatozoide no oócito. Além disso, a técnica independe da eficiência da FIV convencional, que em éguas apresenta taxas de sucesso reduzidas.

Para as fêmeas, a ICSI oferece a vantagem de permitir o aproveitamento de éguas subfêrteis, idosas ou com alterações uterinas, nas quais a fecundação natural ou a inseminação artificial são inviáveis. Por não depender da ovulação nem de um ambiente uterino funcional, a técnica viabiliza o uso de oócitos obtidos por aspiração folicular (OPU), inclusive fora da estação reprodutiva, e reduz a necessidade de estímulo hormonal intenso, ampliando as possibilidades de obtenção de embriões de éguas de alto valor genético (Scheeren *et al.*, 2025).

3.3.3 Fatores que afetam sucesso de ICSI

Idade da égua doadora: estudo retrospectivo com 7.993 sessões de OPU + maturação *in vitro* + ICSI no Brasil mostrou que éguas entre 6 e 15 anos apresentaram índices superiores de blastocistos por OPU, comparativamente a faixas etárias menores ou maiores (Fonte *et al.*, 2024).

Raça: diferenças significativas entre raças (American Quarter Horse, Warmblood, Criollo, Lusitano, Mangalarga) foram identificadas para número de oócitos recuperados, taxa de clivagem e taxa de blastocisto por OPU. (Fonte *et al.*, 2024).

Estação do ano: embora efeito menos pronunciado do que idade/raça, foi observada maturação mais eficiente dos oócitos no verão (Fonte *et al.*, 2024).

Fase do ciclo estral na aspiração: éguas na fase folicular com ou sem folículo dominante apresentaram resultados melhores que aquelas na fase lútea (Fonte *et al.*, 2024).

Tempo entre aspiração dos oócitos e maturação, qualidade do sêmen (fresco X congelado), número de espermatozoides disponíveis, preparação espermática, integridade do DNA espermático são variáveis críticas.

4 METODOLOGIA

Este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica de caráter qualitativo, que aborda diretamente a aplicação da ICSI em equinos. O objetivo geral é reunir e analisar

estudos científicos relacionados à aplicação da injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) em equinos, abordando suas técnicas, desafios, taxas de sucesso e perspectivas na reprodução assistida dessa espécie.

A busca por publicações foi realizada em bases de dados científicas reconhecidas, tais como PubMed, Scientific Electronic Library online (SciELO), ScienceDirect e Google acadêmico. Também foram consultados artigos, revistas e livros especializados em reprodução animal e biotecnologia da reprodução de equinos, como Reprodução Animal, disponíveis em português, inglês e outras línguas.

Foram utilizados descritores como: “injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)”, “reprodução assistida em equinos”, “fertilização *in vitro* equina”, “espermatozoide equino”, “embriões equinos”, “tecnologias reprodutivas em cavalos”, “subfertilidade em equinos” e “problemas reprodutivos”. As combinações de descritores foram adaptadas conforme os critérios de cada base de dados, para refinar os resultados.

A triagem resultou na seleção de 127 artigos que discutem as biotecnologias reprodutivas aplicadas em equinos com problemas férteis. Após análise criteriosa, foram incluídos 55 artigos que atendiam diretamente aos objetivos da pesquisa. Os demais foram excluídos por não se adequarem aos critérios estabelecidos.

Os artigos selecionados foram avaliados quanto à sua relevância científica, qualidade metodológica e contribuição para o conhecimento sobre a técnica em equinos. Os dados extraídos foram organizados de forma sistemática, buscando identificar avanços, limitações, lacunas no conhecimento e direções para futuras pesquisas.

A definição da amostra final do quadro 2, baseou-se na seleção de artigos com maior nível de completude e relevância científica para o tema abordado. Foram excluídas publicações duplicadas, priorizando estudos disponibilizados em língua portuguesa ou que apresentassem tradução para o português, a fim de assegurar a adequada compreensão e análise dos dados.

Quadro 2 - Sistematização da busca eletrônica de artigos científicos relacionada às biotecnologias reprodutivas aplicadas em equinos, com destaque na Injeção Intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

Banco de Dados	Descritores usados	Artigos encontrados	Artigos selecionados	Amostra final
Google Acadêmico, SciELO e ScienceDirect	ICSI equinos; Reprodução equina; IA equinos; TE equinos; biotecnologias reprodutivas equinos.	86.560	127	55

Fonte: Elaborado pelas autoras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das publicações selecionadas evidencia o avanço significativo das biotecnologias reprodutivas aplicadas à equideocultura, destacando a importância dessas técnicas para o melhoramento genético e o aumento da eficiência reprodutiva.

Entre os métodos estudados, a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI) se sobressai por oferecer soluções eficazes diante das limitações fisiológicas inerentes à espécie equina, como a baixa taxa de fertilização *in vitro* convencional e a dificuldade de capacitação espermática (Hinrichs *et al.*, 2002; Leemans *et al.*, 2016; Choi *et al.*, 2002). A técnica se destaca por ultrapassar etapas críticas da fecundação — incluindo a reação acrossômica e a penetração da zona pelúcida — permitindo resultados consistentes mesmo quando a FIV convencional falha (Colleoni *et al.*, 2007; Rader *et al.*, 2016; Briski; Salamone, 2022).

Os estudos revisados demonstram que o êxito das técnicas reprodutivas depende do conhecimento aprofundado da fisiologia e da endocrinologia reprodutiva dos equinos. Aspectos como o crescimento folicular, a maturação oocitária, a ovulação e a espermatogênese são determinantes para o bom desempenho das biotecnologias. Pesquisas clássicas sobre fisiologia reprodutiva equina (Ginther; Bergfelt, 1993) e estudos posteriores (Carnevale *et al.*, 2019) destacam que fatores hormonais, ambientais e genéticos exercem influência direta sobre a qualidade dos gametas e, consequentemente, sobre o sucesso das técnicas laboratoriais. Os autores descrevem que oscilações de FSH e LH, com as variações de estradiol, inibina e ativina, estabelecem uma dominância folicular, a qualidade do folículo ovulatório e o potencial para ovulação e fertilização. Assim, a compreensão desses fatores fisiológicos é essencial na otimização de procedimentos reprodutivos assistidos.

A literatura também aponta a relevância das condições laboratoriais e do manejo dos gametas para o alcance de resultados satisfatórios. A precisão na coleta, manipulação e maturação dos oócitos, bem como na seleção espermática, é essencial para elevar as taxas de clivagem e desenvolvimento embrionário. Segundo Hinrichs (2018) e Briski e Salamone (2022), a ICSI exige equipamentos sofisticados e profissionais capacitados, uma vez que cada oócito manipulado representa uma oportunidade única de obtenção de um embrião viável (desde a seleção do espermatozoide, o corte da cauda para imobilização, a perfuração controlada da zona pelúcida e do oolema, até a liberação adequada do gameta no citoplasma), podendo comprometer o desenvolvimento embrionário. Assim, a padronização dos protocolos de maturação e injeção é fundamental para reduzir perdas e maximizar o aproveitamento do material biológico.

Oliveira *et al.* (2024) afirmam que a ICSI ampliou de forma significativa as possibilidades reprodutivas na equinocultura, “permitindo o uso de amostras de sêmen de baixa qualidade, com motilidade reduzida, provenientes de garanhões idosos, subférteis ou já falecidos, desde que a integridade estrutural dos espermatozoides seja preservada, o que favorece a maximização do potencial genético e a preservação de linhagens de alto valor zootécnico”. Os autores também destacam que diferentes técnicas de seleção “como swim-up, gradientes de densidade e lavagens seriadas” permitem recuperar espermatozoides morfollogicamente superiores, contribuindo para melhores resultados no desenvolvimento embrionário.

Morris (2018) reforça que o surgimento da ICSI representou um marco para a reprodução assistida equina, “uma vez que a fertilização *in vitro* convencional apresentou resultados historicamente inconsistentes devido à dificuldade de capacitação espermática *in vitro* e à limitada capacidade dos espermatozoides equinos de atravessar a zona pelúcida”. Segundo a autora, a ICSI supera essas limitações porque “elimina a dependência da capacitação espermática ao permitir a injeção direta do espermatozoide no ooplasma”, constituindo-se como a técnica de maior eficiência para produção de embriões *in vitro* na espécie.

Essa característica tem grande impacto na conservação de material genético e no fortalecimento da competitividade do setor equino, tanto no âmbito nacional quanto internacional.

Outro aspecto frequentemente abordado nas publicações refere-se às particularidades fisiológicas das éguas, como a sazonalidade reprodutiva e a duração do ciclo estral. Tais fatores exigem um monitoramento rigoroso por meio de avaliações hormonais e ultrassonográficas para sincronizar as etapas de coleta e fertilização. Dessa forma, observa-se que o sucesso das biotecnologias não depende apenas da técnica utilizada, mas também do manejo adequado e do conhecimento das particularidades biológicas da fêmea.

Quadro 3 - Taxas de conversão dos oócitos em blastocistos, taxas de prenhez inicial, taxas de prenhez mantida e taxas de perda embrionária inicial.

Título do Artigo	Autores	Fonte	Conversão Oócitos → Blastocistos (%)	Taxa de Prenhez Inicial (até 60 dias) (%)	Taxa de Prenhez Mantida (90 dias) (%)	Taxa de Perda Embrionária Inicial (até 60 dias) (%)
Success rate in a clinical equine in vitro embryo production program	Claes A.; Stout T. A. E.	Science Direct (2022)	≥1 blastocisto em 78% das sessões	77.7	NR	NR
Equine in vitro produced blastocysts: relationship of embryo morphology, stage and speed of development to foaling rate	Lewis N. <i>et al.</i>	Reproduction, Fertility and Development (2023)	NR	76.9	56.3	NR
Blastocyst Formation Rates In Vivo and In Vitro of In Vitro-Matured Equine Oocytes Fertilized by ICSI	Choi Y. H. <i>et al.</i>	Biology of Reproduction (2004)	15–20 (in vitro); 36 (in vivo)	NR	NR	NR
Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from in vitro maturation and ICSI to embryo culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer	Galli C. <i>et al.</i>	Animal Reproduction Science (2007)	NR (faixa variável)	Até 69	Até 83	NR

Legenda: Valores médios reportados em estudos clínicos e revisões sobre a técnica de ICSI em éguas, considerando variações entre protocolos (OPU/IVM), qualidade dos gametas e condição das receptoras. NR - Não relatado. **Fonte:** Elaborado pelas autoras.

Quadro 4 - Resultados esperados no laboratório pioneiro de ICSI no Brasil, InVitro Equinos.

Resultados esperados da InVitro Equinos				
Oócitos por égua por aspiração	Taxa de conversão de oócitos em embriões	Embriões por aspiração	Taxa de prenhez inicial dos embriões transferidos	Taxa de perda embrionária inicial até os 90 dias de gestação
7 a 8	21%	2,0	60%	18-20%

Fonte: Elaborado pelas autoras com base em InVitro Equinos (2025)⁴.

De modo geral, os estudos analisados demonstram que as biotecnologias reprodutivas, em especial a ICSI, representam ferramentas promissoras para o avanço da equideocultura. Apesar dos resultados positivos, ainda há desafios relacionados à variação entre laboratórios, à necessidade de infraestrutura especializada e à otimização dos meios de cultivo embrionário. O aprimoramento contínuo dos protocolos, aliado à capacitação técnica dos profissionais, é essencial para garantir maior eficiência e previsibilidade nos resultados.

Conclui-se que a aplicação das biotecnologias reprodutivas em equinos, com destaque para a ICSI, contribui de forma decisiva para o melhoramento genético, a conservação de linhagens valiosas e a sustentabilidade do setor. O investimento em pesquisa, inovação e formação de mão de obra qualificada é fundamental para consolidar o Brasil como referência internacional em reprodução assistida equina.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo bibliográfico teve como objetivo analisar e comparar as principais biotecnologias reprodutivas aplicadas à equideocultura, com destaque na técnica da ICSI. Embora a inseminação artificial e a transferência de embrião sejam amplamente utilizadas e apresentam bons índices de prenhez, a fertilização *in vitro* enfrenta algumas limitações nos equinos. Nesse caso, a ICSI surge como um avanço na superação fisiológicas da espécie.

A injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) destaca-se como uma das biotecnologias reprodutivas mais eficazes e inovadoras aplicadas à espécie equina, uma vez que supera as limitações observadas na capacitação espermática e possibilita a fecundação direta do oócito. Essa técnica tem se mostrado particularmente vantajosa em situações de subfertilidade, no uso de sêmen congelado ou de baixa qualidade, bem como na preservação de material genético de garanhões de elevado valor zootécnico. Dessa forma, a ICSI representa um importante avanço no manejo reprodutivo, favorecendo o melhoramento genético e a conservação de linhagens de interesse econômico e produtivo.

A análise da literatura evidencia, contudo, que a eficiência dessas biotecnologias é fortemente influenciada por fatores biológicos e técnicos, como a dinâmica folicular, a competência oocitária, a qualidade espermática e a padronização

⁴ Disponível em: <https://invitroequinos.com/icsi/#resultados-esperados>. Acesso em: 13 nov. 2025.

dos protocolos laboratoriais. Além disso, aspectos intrínsecos ao animal, como a raça, idade, estação reprodutiva e estado fisiológico da matriz, exercem impacto significativo sobre o desenvolvimento embrionário e as taxas de prenhez. Assim, embora a ICSI apresente grande potencial para impulsionar a reprodução equina, o

aprimoramento contínuo das metodologias e a capacitação técnica especializada ainda são essenciais para sua consolidação em larga escala.

Conclui-se que a aplicação integrada das biotecnologias reprodutivas, com ênfase na ICSI, representa um avanço decisivo para o fortalecimento da equinocultura brasileira. O investimento em pesquisa, inovação tecnológica e formação profissional permitirá consolidar o Brasil como referência internacional em reprodução assistida equina, promovendo não apenas ganhos genéticos, mas também a conservação de linhagens valiosas e o desenvolvimento sustentável do setor.

REFERÊNCIAS

ALBERTS, B. *et al.* **Biologia molecular da célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

ALVARENGA, M. A.; CARMO, M. T. Biotecnologia em reprodução equina: o que há de novo para o veterinário de campo. **Rev. Bras. Med. Equina**, v. 14, p. 26-29, 2007. Disponível em:

<https://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploa dsprofessor/ebba64683df2af06431d7ebb278a8000.pdf>. Acesso em: 24 set. 2025.

BRIOTE, I. F. P. **Biotecnologias de Reprodução Assistida em Equinos: Ovum Pick Up e Injeção Intracitoplasmática**. 2022. Relatório Final de Estágio (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade do Porto, Porto, 2022. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/141728/2/568162.pdf#page24>. Acesso em: 30 out. 2025.

BOLLWEIN, H.; BRAUN, J. Follicular dynamics after treatment with hCG for ovulation induction in mares. **Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere**, v. 27, n. 1, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10077815/>. Acesso em: 17 nov. 2025.

BRISKI, O.; SALAMONE, D. F. Past, present and future of ICSI in livestock species. **Animal Reproduction Science**, v. 246, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432022000045?via%3Di hub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

CABRAL, L. A. R.; PACHECO, W. B.; SANTOS, S. S. A. dos; PRADO, A. da S.; NUNES, J. F. TÉCNICAS DE SEXAGEM ESPERMÁTICA E SUA IMPORTÂNCIA NA PRODUÇÃO ANIMAL. **Ciência Animal**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 118-130, 2023. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/11042>. Acesso em: 16 nov. 2025.

CANISSO, I. F.; SOUZA, F. A.; SILVA, E. C.; CARVALHO, G. R.; GUIMARÃES, J. D.; LIMA, A. L. Inseminação artificial em equinos: sêmen fresco, diluído, resfriado e

transportado. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 389–398, 2008. DOI: 10.7213/cienciaanimal.v6i3.10622. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/cienciaanimal/article/view/10622>. Acesso em: 16 nov. 2025.

CARNEIRO, G. F. M. Produção *in vivo* e *in vitro* de embriões em equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 4, p. 158-166, 2016. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v40/n4/p158166%20\(RB688\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v40/n4/p158166%20(RB688).pdf). Acesso em: 16 nov. 2025.

CARNEVALE, E. M. **Biotecnologia na Reprodução de Equinos**. São Paulo: Editora Veterinária, 2000.

CARNEVALE, E.; GINTHER, O. J. Defective Oocytes as a Cause of Subfertility in Old Mares. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 1, p. 209-214, 1995. DOI: https://doi.org/10.1093/biolreprod/52.monograph_series1.209.

CLAES, A.; STOUT, T. A. E. Success rate in a clinical equine in vitro embryo production program. *Theriogenology*, v. 187, n. 15, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X22001601?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

CHOI, Y. H. *et al.* Production of Nuclear Transfer Horse Embryos by Piezo-Driven Injection of Somatic Cell Nuclei and Activation with Stallion Sperm Cytosolic Extract. **Biology of Reproduction**, [S.l.], v. 67, n. 2, 2002.

CHOI, Y. H.; ROASA, L. M.; LOVE, C. C.; VARNER, D. D.; BRINSKO, S. P.; HINRICHS, K. Blastocyst formation rates in vivo and in vitro of in vitro-matured equine oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection. **Biology of reproduction**, v. 70, n. 5, p. 1231-1238, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023903>. Acesso em: 16 nov. 2025.

CLAES, A.; STOUT, T. A. E. Success rate in a clinical equine in vitro embryo production program. **Theriogenology**, v. 187, p. 215-218, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X22001601?via%3Dihub>. Acesso em: 16 nov. 2025.

COLLEONI, S. *et al.* New Methods for Selecting Stallion Spermatozoa for Assisted Reproduction. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, n. 9, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080611001018?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

COMPRERURAL. Cavalos movimentam mais de R\$ 30 bilhões no Brasil. **Compre Rural**, 2023. Disponível em: <https://www.comprerural.com/cavalosmovimentammais-de-r-30-bilhoes-no-brasil/>. Acesso em: 9 set. 2025.

CORREIA, S. C.; PEREIRA, R. M. L. N.; CAROLINO, N.; ÁVILA, O.; DUARTE, S. C. Equine embryo transfer: the effect of semen processing and donor mare management on recovery rates. **Archivos de Zootecnia**, v. 70, n. 270, p. 192–199,

2021. Disponível em: <https://www.uco.es/az/index.php/az/article/view/5472/3439>. Acesso em: 16 nov. 2025.

EQUINOVET. Reprodução de éguas: anatomia e fisiologia, 2021. Disponível em: <https://blog.equinovet.com.br/reproducao-de-eguas-anatomia-e-fisiologia/>. Acesso em: 15 dez. 2025

FELIX, M. R.; DOBBIE, T.; WOODWARD, E.; LINARDI, R.; OKADA, C.; SANTOS, R.; HINRICHS, K. Equine in vitro fertilization with frozen–thawed semen is associated with shortened pre-incubation time and modified capacitation-related changes. **Biology of Reproduction**, v. 112, n. 5, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40057974/>. Acesso em: 16 nov. 2025.

FONTE J. S. *et al.* Successful equine *in vitro* embryo production by ICSI - effect of season, mares' age, breed, and phase of the estrous cycle on embryo production. **Theriogenology**, v. 223, p. 47-52, 2024. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2024.04.007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X24001456?via%3Diuhub>. Acesso em: 16 nov. 2025.

GALLI, C.; COLLEONI, S.; DUCHI, R.; LAGUTINA, I.; LAZZARI, G. Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from in vitro maturation and ICSI to embryo culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer. **Animal Reproduction Science**, v. 98, n. 1-2, p. 39-55, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.10.011>. Acesso em: 16 nov. 2025.

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

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L. Follicle dynamics and selection in mares. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, 2004. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a608bf7783717068b480d>. Acesso em: 17 nov. 2025.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R. Growth of small follicles and concentrations of FSH during the equine oestrous cycle. **Reproduction**, v. 99, n. 1, p. 105-111, 1993.

GREVE, T.; XU, K. P.; CALESEN, H.; HYTTEL, P. In vivo development of in vitro fertilized bovine oocytes matured in vivo versus in vitro. **Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer**, v. 4, p. 281-285, 1987. DOI: 10.1007/BF01555205.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (ed.) **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2013.

HINRICHS, K. Assisted reproduction techniques in the horse. **Reproduction Fertility and Development**, v. 25, p. 80-93, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD12263>.

HINRICHS, K. Assisted reproductive techniques in mares. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. 2, p. 4–13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.13259>.

HINRICHS, K. In Vitro Production of Equine Embryos: State of the Art. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 2, p. 3-8, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0531.2010.01624.x>. Acesso em: 17 nov. 2025.

HSUEH, A. J. W. *et al.* Intraovarian control of early folliculogenesis. **Endocrine reviews**, v. 31, n. 1-2, p. 1-24, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/edrv/articleabstract/36/1/1/2354672?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 17 nov. 2025.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2023 – Efetivo dos rebanhos por tipo de rebanho**. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 9 set. 2025.

JACOBSON, C. C. *et al.* Recovery of mare oocytes on a fixed biweekly schedule, and resulting blastocyst formation after intracytoplasmic sperm injection. **Teriogenology**, v. 73, n. 8, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X10000336?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

JOHNSON, L. *et al.* Factors affecting spermatogenesis in the stallion. **Teriogenology**, v. 48, n. 7, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16728209/>. Acesso em: 17 nov. 2025.

LEME, D. P. **Características reprodutivas de garanhões mantidos sob luz natural ou contínua, em ambiente tropical**. 2003. 85 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2003.

LEWIS, N. *et al.* Equine *in vitro* produced blastocysts: relationship of embryo morphology, stage and speed of development to foaling rate. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 35, n. 4, p. 338-351, 2023. Disponível em: <https://connectsci.au/rd/article-abstract/35/4/338/51052/Equine-in-vitro-producedblastocysts-relationship?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 16 nov. 2025.

LIMA VERDE, L. B.; ROSSETO, R.; FIGUEIREDO, J. R. Influência dos hormônios esteroides na foliculogênese. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 4, p. 472-482, 2011.

LUZ, M. R.; CELEGHINI, E. C. C.; BRANDÃO, F. Z. **Reprodução animal: equinos**. v. 3. Barueri: Manole, 2024. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788520465332/>. Acesso em: 09 out. 2025.

MCCUE, P. M. Transferência de Embriões em Equinos: Recuperação do embrião. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 09, n. 03, p. 94-98, 2011. Disponível em: <https://www.revistamvezcrmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/21>. Acesso em: 16 nov. 2025.

MCCUE, P.; FERRIS, R. A.; BURDEN, C. A. Review of Techniques for Prediction of Ovulation in the Mare. **AAEP Annual convention**, Salt Lake City, 2014. Disponível em: https://www.ivis.org/library/aaep/aaep-annual-convention-salt-lake-city-2014/review-of-techniques-for-prediction-of-ovulation-mare?utm_source. Acesso em: 17 nov. 2025.

MCKINNON, A. O. *et al.* (ed.) **Equine reproduction**. 2. ed. New Jersey: WileyBlackwell, 2016.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Equideocultura 2024 – Evolução do rebanho equino em Minas Gerais**. Belo Horizonte: Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, 2024. Disponível em: https://www.mg.gov.br/system/files/media/documento_detalhado/202410/Equideocultura_2024.pdf. Acesso em: 9 set. 2025.

MORRIS, L. H. A. The development of in vitro embryo production in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 6, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29654624/>. Acesso em: 17 nov. 2025.

NOAKES, D. E.; PARKER, K. L.; HUTCHISON, J. **Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 9. ed. London: Elsevier, 2009.

OLIVEIRA, R. P. *et al.* Equine ICSI: an update on semen perspective. **Animal Reproduction**, v. 21, n. 4, 2024.

PALERMO, G. *et al.* Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. **The Lancet**, v. 340, n. 8810, p. 17-18, 1992.

PARRISH, J. J.; SUSKO-PARRISH, J. L.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; CRITSER, E. S.; EYESTONE, W. H.; FIRST, N. L. Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen. **Theriogenology**, v. 25, n. 4, p. 591-600, 1986. DOI: 10.1016/0093691X(86)90143-3.

RADER, K. B. S. *et al.* Intracytoplasmic Sperm Injection, Embryo Culture, and Transfer of In Vitro–Produced Blastocysts. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 31, n. 3, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749073916300335?via%3DiHub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

ROSER, J. F. Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. **Animal Reproduction Science**, v. 107,

n. 3-4, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18571346/>. Acesso em: 17 nov. 2025.

ROY, S. K. Regulation of ovarian follicular development: a review of microscopic studies. **Microscopy Research & Technique**, v. 27, n. 2, 1994. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jemt.1070270203>. Acesso em: 17 nov. 2025.

RUA, M. A. S. *et al.* Environmental effects and repeatability of the follicular diameter in mares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, 2019. Disponível em: <https://rbz.org.br/pt-br/article/environmental-effects-and-repeatability-of-the-folliculardiameter-in-mares/>. Acesso em: 16 nov. 2025.

SANSINENA, M. Chapter 2 - Assisted reproductive biotechnologies in the horse. **Reproductive Technologies in Animals**, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/editedvolume/abs/pii/B9780128171073000023?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

SCHEEREN, V. F. C.; GIACHINI, L. F.; TORTATO, M. Z.; FRISO, A. M. Produção in vitro de embriões equinos: o que pode dar errado neste processo? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 49, n. 1, p. 111–122, jan./mar. 2025. Disponível em: <https://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v49/n1/p.111-122.pdf>. Acesso em: 9 set. 2025.

SETCHELL, B. P. **The mammalian testis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.

SIEME, H.; BONK, A.; HAMANN, H.; KLUG, E.; KATILA, T. Effects of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive efficiency. **Theriogenology**, v. 62, n. 5, p. 915–928, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15251243/>. Acesso em: 16 nov. 2025.

SILVEIRA, A. J. N. do N.; MARQUES, L.; SILVA, L. R. Transferência de embrião em equinos: uma revisão de literatura. Artigos científicos do curso de medicina veterinária – Universo BH, [s. l.], v. 39, 2024. Disponível em: <https://revista.universo.edu.br/index.php?journal=3universobelohorizonte3&page=article&op=view&path%5B%5D=15499>. Acesso em: 14 out. 2025.

SPROTT, R. L. *et al.* Artificial insemination outcomes in beef females using bovine sperm with a detectable fertility-associated antigen. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 795-798, 2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/articleabstract/78/4/795/4625731?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 16 nov. 2025.

SQUIRES, E. L.; CARNEVALE, E. M.; MCCUE, P. M.; BRUEMMER, J. E. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, v. 59, n. 1, p. 151-170, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)01268-2](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)01268-2).

TESKE, J. **Transferência de embriões em equinos**. 2017. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/182535/TCC%20Juliano%20Teske%202017-2%20Orientado%202%20vers%C3%A3o%20repositorio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 14 out. 2025.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. *In*: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (ed.). **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, 1994. p. 189-317.