

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



**Dissertação**

**Gestação gemelar em equinos: com ênfase na raça Crioula**

**Camila Gervini Wendt**

Pelotas, 2020

**Camila Gervini Wendt**

**Gestação gemelar em equinos: com ênfase na raça Crioula**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira

Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bruna da Rosa Curcio

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

W473g Wendt, Camila Gervini

Gestação gemelar em equinos: com ênfase na raça Crioula / Camila Gervini Wendt ; Carlos Eduardo Wayne Nogueira, orientador ; Bruna da Rosa Curcio, coorientadora. — Pelotas, 2020.

60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Gêmeos. 2. Equinos - Prenhez. 3. Ovulações múltiplas. 4. Reprodução equina. I. Nogueira, Carlos Eduardo Wayne, orient. II. Curcio, Bruna da Rosa, coorient. III. Título.

CDD : 636.1

Camila Gervini Wendt

Gestação gemelar em equinos: com ênfase na raça Crioula

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30/01/2020

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira (Orientador)  
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ilusca Sampaio Finger  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Maria Pazinato  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carine Dahl Corcini  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por permitir que eu realize meus sonhos e por iluminar sempre meu caminho.

À minha família, fundamental para todas as etapas que levaram a conclusão da presente dissertação. Ao meus pais e irmã, Carolina, Everson e Nina, que apesar de sentirem falta e me quererem por perto, compreendem e incentivam meu crescimento e dedicação. Aos meus avós, bisas, tios e dindos que sempre apoiaram minhas decisões e vibram a cada conquista.

Aos colegas que são além de amigos foram grandes incentivadores do meu crescimento. Amigos que se tornam verdadeiros irmãos durante esta caminhada, em especial a Bruna Suñé, Índia, Mari, Rafa, Gabi, Isa e Tati, muito obrigada!

Agradeço também a Universidade Federal de Pelotas, CAPES, CNPq e ABCCC pelo constante incentivo à pesquisa. Aos professores Bruna Curcio e Carlos Nogueira por fazerem parte da minha formação desde a graduação e por auxiliarem nas decisões, acreditando sempre no nosso potencial!

Muito Obrigada!

***“Nós, seres humanos, estamos na natureza para auxiliar o progresso dos animais na mesma proporção que os anjos estão para nos auxiliar.”***  
***Chico Xavier***

## Resumo

WENDT, Camila Gervini. **Gestação gemelar em equinos: com ênfase na raça Crioula**. 2020. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020

Gestações gêmeas em equinos frequentemente resultam em aborto ou natimortos, sendo responsáveis por prejuízos na criação. Poucos estudos descrevem as características reprodutivas e gestacionais em éguas Crioulas. O objetivo da presente dissertação é realizar uma revisão bibliográfica a respeito dos principais aspectos da gestação gemelar e apresentar resultados sobre a incidência em éguas Crioulas. Foram realizados dois artigos de revisão bibliográfica, sendo o primeiro a respeito dos fatores que influenciam a ocorrência e o segundo sobre métodos de diagnóstico e manipulação dessas gestações. Já o terceiro artigo traz um estudo retrospectivo composto por 814 éguas gestantes, demonstrando a incidência de gestações gêmeas e ovulações múltiplas em éguas Crioulas, relacionando a ocorrência com status reprodutivo, idade da égua, uso de indutores de ovulação e mês da estação reprodutiva. A incidência de gestação gemelar foi de 3,44%, sendo mais frequente em éguas solteiras e primíparas. Mesmo com índices reduzidos quando comparadas a outras raças, é importante conhecer os fatores de risco, métodos de diagnóstico e intervenção da gestação gemelar para abordar aspectos reprodutivos em éguas Crioulas.

**Palavras-chave:** gêmeos; equinos; ovulações múltiplas; reprodução; prenhez.

## **Abstract**

WENDT, Camila Gervini. **Twin pregnancies in horses: an approach of Criollo mares.** 2020. 59f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Twin pregnancies in horses often result in abortion or stillbirths and are responsible for huge losses in the equine industry. Few studies describe reproductive and gestational characteristics in Criollo mares. The aim of this dissertation is to review the main aspects of twin pregnancy in mares and to present scientific results about the incidence of twin pregnancies in Criollo mares. Two articles of bibliographic review were made, the first about the factors that influence the occurrence and the second about diagnostic methods and manipulation of these gestations. The third article presents retrospective study with 814 pregnant mares, demonstrating the incidence of twin pregnancies and multiple ovulations in Criollo mares, correlating the occurrence with reproductive status, age of the mare, use of ovulation inducers and month of breeding season. The incidence of twin pregnancy was 3.44%, being more frequent in single and primiparous mares. Even with low rates when compared to other breeds, it is important to know the risk factors, diagnostic methods and intervention of twin pregnancy to address reproductive aspects in Criollo mares.

**Keywords:** twins; equine; multiple ovulations; reproduction; gestation.

## Lista de Figuras

### Artigo 1

- Figura 1 Avaliação ultrassonográfica de dois folículos pré ovulatórios (43mm e 35mm)..... 16
- Figura 2 Avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de gestação em éguas. a. Vesícula embrionária dez dias após a ovulação. b. Vesícula embrionária treze dias após a ovulação..... 17

### Artigo 2

- Figura 1 Imagem ultrassonográfica de duas vesículas embrionárias fixadas concomitantemente a um cisto endometrial (\*) 18 dias após a ovulação. A seta indica o septo entre as vesículas embrionárias..... 28
- Figura 2 a. Imagem ultrassonográfica de cistos endometriais no corno uterino de égua PSI. b. Diagrama esquemático para mapeamento dos cistos durante exame ginecológico..... 29
- Figura 3 Imagem ultrassonográfica do útero imediatamente após o esmagamento de uma vesícula embrionária com 15 dias pós ovulação, nota-se a característica de disseminação do líquido oriundo da vesícula manipulada..... 31

## Lista de Tabelas

### Artigo 3

Tabela 1	Effect of reproductive status and mare's parity on the incidence of twin pregnancies and multiple ovulations.....	43
Tabela 2	Incidence of twin pregnancies and multiple ovulation in Criollo mares according to the mare's age, season of the year and use of hormones to induce ovulation.....	44

## Lista de Abreviaturas e Siglas

AI	Artificial insemination
ABCCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos
BH	Brasileiro de Hipismo
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
GG	Gestação Gemelar
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
KCL	Cloreto de Potássio
LH	Hormônio Luteinizante
mm	Milímetros
Mhz	Megahertz
MO	Múltiplas ovulações
PGF2 $\alpha$	Prostaglandina F2 $\alpha$
PSI	Puro Sangue Inglês
VE	Vesícula Embrionária
YO	Years Old

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>11</b>
<b>2 Artigos.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Artigo 1.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Artigo 2.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Artigo 3.....</b>	<b>38</b>
<b>3 Considerações Finais.....</b>	<b>51</b>
<b>Referências.....</b>	<b>52</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>59</b>

## **1 Introdução**

O cavalo Crioulo é descendente de animais trazidos pelos colonizadores espanhóis e portugueses da península ibérica para a América do Sul a partir do início do século XV. Desde então, estes animais passaram por um longo período de seleção natural, que promoveu características de rusticidade e completa adaptação ao ambiente sul americano. Atualmente a raça possui mais de 570 mil exemplares registrados junto a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC, 2019) que têm grande importância econômica e cultural no Brasil. A valorização destes animais fez com que a partir de 2012 fosse permitido o uso de técnicas reprodutivas, como inseminações com sêmen fresco, refrigerado ou congelado e transferências de embriões. Atualmente, com o alto investimento em exemplares da raça a seleção e escolha de acasalamentos passou a ser por desempenho atlético ou pedigree, fator este que pode implicar em queda da fertilidade e rusticidade.

A maioria das gestações gemelares (GG) resulta em perdas embrionárias, aborto em fase final de gestação ou nascimento de potros debilitados, seja por restrição de crescimento ou síndrome de asfixia no parto (McKINNON, 2007). Existem alguns fatores que influenciam na ocorrência de GG, como a raça, sazonalidade, status reprodutivo, uso de indutores de ovulação, idade e nutrição da égua. Os métodos de diagnóstico e estratégias para manejar a GG variam de acordo com o tempo de gestação. Poucos estudos descrevem características reprodutivas de éguas Crioulas (MARINO et al., 2010; DURANT et al., 2010) e não se sabe a verdadeira incidência de múltiplas ovulações (MO) e GG nesta raça. Tendo em vista isso, o objetivo da presente dissertação é realizar uma revisão bibliográfica sobre os principais aspectos da GG e apresentar os resultados sobre a incidência de GG e MO em éguas Crioulas.

## **2 Artigos**

### **2.1 Artigo 1**

#### **Gestação gemelar em éguas, parte I: desenvolvimento e fatores de risco**

Camila Gervini Wendt<sup>1</sup>, Bruna da Rosa Curcio<sup>1\*</sup>, Bruna dos Santos Suñé  
Moraes<sup>1</sup>, Isadora Paz Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Tatiane Leite Almeida<sup>1</sup>, Carlos  
Eduardo Wayne Nogueira<sup>1</sup>

Aceito para publicação na Revista Brasileira De Medicina Equina  
(ISSN 1809-2063)

## 1                    **Gestação gemelar em éguas, parte I: desenvolvimento e fatores de risco**

2  
3                    Camila Gervini Wendt<sup>1</sup>, Bruna da Rosa Curcio<sup>1\*</sup>, Bruna dos Santos Suñé Moraes<sup>1</sup>,  
4                    Isadora Paz Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Tatiane Leite Almeida<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Wayne  
5                    Nogueira<sup>1</sup>

6                    <sup>1</sup> Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas RS, Brasil.

### 8                    **RESUMO**

9                    Gestações gemelares em equinos são responsáveis por abortos no terço final de gestação ou  
10                    nascimento de potros debilitados. O objetivo desta revisão é discutir os fatores de risco para o  
11                    desenvolvimento de gestações gemelares. As múltiplas ovulações são responsáveis pela  
12                    ocorrência de gêmeos, sendo mais frequentes em éguas Puro Sangue Inglês, de Polo  
13                    Argentino e Brasileiro de Hipismo quando comparadas a Árabes e Pôneis. Éguas solteiras  
14                    terão maior incidência de múltiplas ovulações e gestações gemelares e éguas mais velhas  
15                    possuem maiores taxas de múltiplas ovulações, mas não de gêmeos. O uso de indutores de  
16                    ovulação pode elevar as taxas de ovulações duplas e à medida que a estação reprodutiva  
17                    progride, aumenta a incidência de gestações gemelares. O conhecimento desses fatores de  
18                    risco é importante para a realização do diagnóstico e intervenção adequada para evitar  
19                    prejuízos causados por essas gestações.

20                    **Unitermos:** ovulações múltiplas; gêmeos; equinos; prenhez; reprodução.

### 21                    **Twin pregnancies in mares, part I: Development and risk factors**

22                    Twin pregnancies in horses are responsible for abortion in the late gestation or birth of  
23                    debilitated foals. The aim of this review is to discuss the risk factors for the development of  
24                    twin pregnancies. The multiple ovulations are responsible for the occurrence of twins, being  
25                    more frequent in Thoroughbred, Polo Argentino and Brazilian Sport Horse when compared to

26 Arabs and Ponies. Single mares will have a higher incidence of multiple ovulations and twin  
27 pregnancies and older mares have higher rates of multiple ovulations but not twins. The use of  
28 ovulation inducers may increase double ovulation rates and as the reproductive season  
29 progresses, the incidence of twin pregnancies increases. Knowledge of these risk factors is  
30 important for proper diagnosis and intervention to avoid losses caused by this pregnancies.

31 **Keywords:** multiple ovulations; twins; horses; pregnancy; reproduction.

32

### 33 **Embarazos gemelares en yeguas, parte I: desarrollo y factores de riesgo**

#### 34 **Resumen**

35 Los embarazos gemelares en yeguas son pueden causar abortos en la gestación tardía o el  
36 nacimiento de potros debilitados. El objetivo de esta revisión es analizar los factores de riesgo  
37 para el desarrollo de embarazos gemelares. Las ovulaciones múltiples son responsables por la  
38 ocurrencia de gemelos, siendo más frecuentes en yeguas Pura Sangre Inglés, de Polo  
39 Argentino y Brasileiro de Hipismo en comparación con las Árabes y Ponis. Las yeguas  
40 solteras tendrán una mayor incidencia de ovulaciones múltiples y embarazos gemelares, y las  
41 yeguas mayores tienen tasas más altas de ovulaciones múltiples pero no gemelos. El uso de  
42 inductores de la ovulación puede aumentar las tasas de ovulación doble y a medida que  
43 avanza la temporada reproductiva aumenta la incidencia de embarazos gemelares. El  
44 conocimiento de estos factores de riesgo es importante para un diagnóstico e intervención  
45 adecuados para evitar daños causados por estos embarazos.

46 **Palabras clave:** ovulaciones múltiples; gemelos; caballos; embarazo; reproducción.

47

48

## 1. Introdução

49

50 As perdas gestacionais ou neonatais geram grandes prejuízos para a indústria equina  
51 devido ao alto custo de todas as etapas relacionadas ao desenvolvimento da gestação  
52 (coberturas, transporte de sêmen e de animais, serviços veterinários, manejo sanitário e  
53 nutricional). Além disso, podem causar danos que irão prejudicar as taxas de concepção da  
54 égua em um próximo acasalamento ou até mesmo inviabilizar esta égua como reprodutora. A  
55 mortalidade fetal e perinatal após a concepção de gêmeos em éguas já foi a principal  
56 responsável por perdas na criação Puro Sangue Inglês (PSI) nos Estados Unidos<sup>1</sup>.

57 Existem alguns fatores que influenciam a ocorrência de gestações gemelares (GG),  
58 como a raça, sazonalidade, status reprodutivo, uso de indutores de ovulação, fertilidade do  
59 garanhão e idade da égua. Tendo em vista que o conhecimento desses fatores é fundamental  
60 para o diagnóstico e intervenção no momento adequado, o objetivo desta revisão é discutir os  
61 principais fatores de risco para o desenvolvimento de GG em éguas.

62

## 2. Como ocorre a gestação gemelar

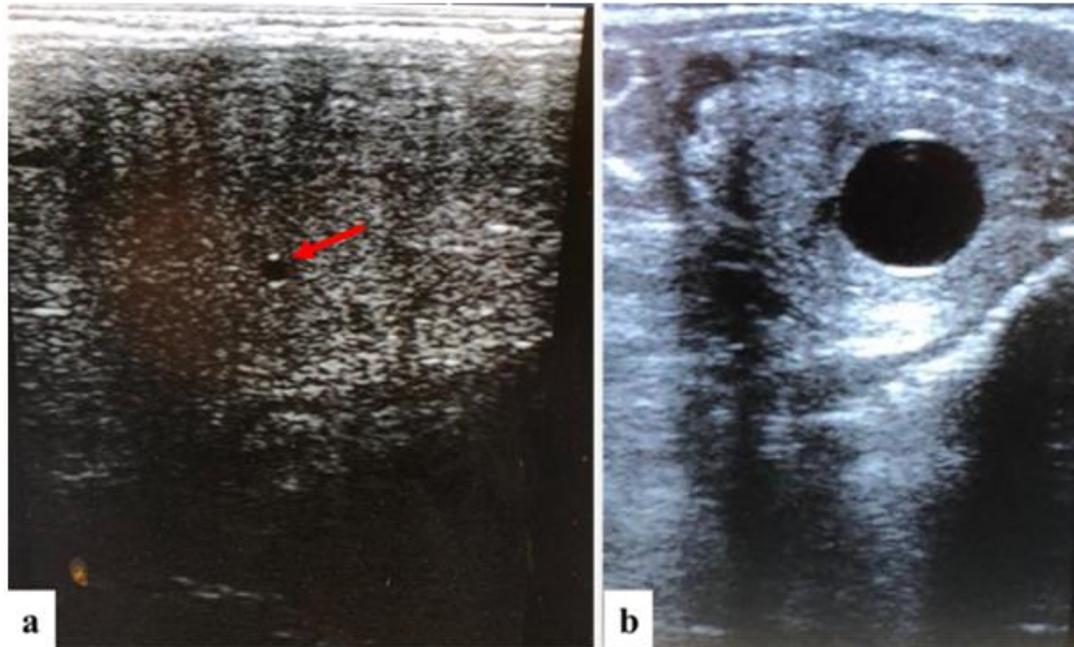
63 De modo geral, as GG são oriundas de múltiplas ovulações (MO)<sup>2</sup> (Figura 1), sendo  
64 rara a ocorrência de gêmeos monozigóticos em equinos<sup>3,4</sup>. Dessa forma, a identificação de  
65 MO é um ponto chave para o correto diagnóstico e intervenção na GG. As ovulações podem  
66 ocorrer de forma sincrônica ou assincrônica, em um único ovário ou em ovários diferentes<sup>5,6</sup>.  
67 Estudos sugerem que o oviduto é mais eficiente para capturar o ócito quando as ovulações  
68 ocorrem em ovários contralaterais em relação as ovulações em um único ovário<sup>7,8</sup>, no entanto,  
69 gestações GG também podem ser oriundas de ovulações unilaterais.



70

71 **Figura 1.** Avaliação ultrassonográfica de dois folículos pré ovulatórios (43mm e 35mm).

72 Davies Morel & Newcombe (2005)<sup>9</sup> demonstraram que 65.8% das MO em éguas PSI  
 73 ocorreram com intervalo mínimo de oito horas, enquanto 28.5% foram em mais de 24 horas.  
 74 A fertilidade do garanhão é um fator importante, tendo em vista que quanto maior a  
 75 durabilidade do sêmen no trato reprodutivo feminino, maiores as chances de GG. Ovulações  
 76 de diestro, a partir do 4º dia após a primeira ovulação, também podem ser fecundadas<sup>10</sup>, sendo  
 77 descrito a capacidade de fertilização até sete dias pós cobertura<sup>11</sup>. Em gestações oriundas de  
 78 ovulações assincrônicas, cuidados devem ser tomados durante o diagnóstico de gestação pois  
 79 existe grande diferença no tamanho das vesículas embrionárias, o que pode levar ao  
 80 diagnóstico equivocado de gestações simples (Figura 2). Além disso, caso apenas a segunda  
 81 ovulação for fertilizada, pode-se ter ainda um equivocado diagnóstico de gestação aos 16 dias  
 82 da primeira ovulação.



83

84 **Figura 2.** Avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de gestação em éguas. **a.** Vesícula  
85 embrionária dez dias após a ovulação. **b.** Vesícula embrionária treze dias após a ovulação.

86

### 87 3. Fatores que influenciam na incidência de gestação gemelar

#### 88 3.1. Raça

89 A raça afeta a incidência de MOs, sendo descrito uma variação de 2-43%, o que vai  
90 interferir diretamente na ocorrência de GG. Segundo Hafez *et al.* (2004)<sup>12</sup>, a ocorrência de  
91 ovulações duplas é elevada em raças pesadas. Na raça Brasileiro de Hipismo (BH), alguns  
92 estudos descrevem a taxa de MO em torno de 34%<sup>13</sup> e outros ao redor de 53%<sup>14</sup>. Em éguas  
93 PSI, são descritas taxas de MO de 15% a 35%<sup>15</sup>, na raça Polo Argentino 27,1%<sup>16</sup>, Quarto de  
94 Milha ao redor de 9% e Apaloosas 8%<sup>17</sup>. Para a raça Árabe, Ginther (1982)<sup>17</sup>, relata que a  
95 ocorrência de MO não é comum e Deskur (1985)<sup>18</sup> encontrou uma incidência de apenas 0,8%.  
96 Já em Pôneis miniatura, a incidência de MO e GG é praticamente nula<sup>19</sup>. No entanto, mesmo  
97 sabendo das variações, deve-se estar atendo para a ocorrência em qualquer raça, visto que  
98 todo indivíduo tem potencial para MO e GG.

99

### 100 **3.2. Status reprodutivo**

101 As éguas podem ser classificadas como primíparas, solteiras ou lactantes, o que  
102 interfere nas taxas de MO e GG. Éguas primíparas ou solteiras apresentam maiores taxas  
103 quando comparadas a éguas lactantes<sup>5</sup>. Em éguas PSI, Allen *et al.* (2007)<sup>20</sup> identificaram  
104 maior número de GG no 15º dia pós ovulação em éguas primíparas (14,4%) e solteiras  
105 (16,4%) quando comparado a éguas lactantes (8%), resultados compatíveis com a taxa de  
106 MO. Ainda não se compreende exatamente o mecanismo que reduz as taxas em éguas  
107 lactantes, mas sugere-se que seja devido ao efeito de feedback da amamentação no eixo  
108 hipotálamo-hipófise<sup>5</sup>. A hipótese é que a lactação altera os níveis de hormônio luteinizante  
109 (LH), tendo em vista que estudos recentes demonstram diferença nos níveis de LH em éguas  
110 no pós-parto<sup>21</sup>.

111

### 112 **3.3 Idade da égua**

113 É descrito que a taxa de MO aumenta de acordo com a idade da égua<sup>15,22,23</sup>. Davies  
114 Morel *et al.* (2005)<sup>24</sup> avaliou 3075 éguas de diferentes idades e observou que a taxa de MO foi  
115 maior em éguas mais velhas, no entanto, éguas que tiveram MO entre 6-8 anos obtiveram  
116 maiores taxas de GG, quando comparadas a éguas de até três anos ou com mais de 20 anos.  
117 Demonstrando que éguas mais velhas terão maiores taxas de MO, no entanto, alguns fatores  
118 maternos, ainda não completamente elucidados, reduzem a incidência de GG.

119

### 120 **3.4 Uso de indutores de ovulação**

121 A variabilidade de duração do cio da égua dificulta prever o momento da ovulação, o  
122 que impacta no uso de fármacos indutores de ovulação para reduzir o período de cio, definir o  
123 momento próximo a ovulação e aumentar a eficiência reprodutiva<sup>25</sup>. Os fármacos utilizados  
124 para indução da ovulação em equinos são análogos do hormônio liberador de gonadotrofinas

125 (GnRH) ou do LH, sendo respectivamente, deslorelina ou histrelina e gonadotrofina coriônica  
126 humana (hCG). Alguns estudos com o uso de hCG sobre a incidência de GG observaram  
127 maiores taxas aos 14 dias pós ovulação<sup>25,26</sup>. No entanto, Davies Morel e Newcombe (2015)<sup>9</sup>,  
128 não obtiveram os mesmos resultados em éguas tratadas com 750UI de hCG. A indução com  
129 2,1mg de acetato de deslorelina através de implante subcutâneo aumenta a incidência de  
130 gestações gemelares<sup>27</sup>, a indução com 750mg via intramuscular não influenciou na ocorrência  
131 de GG ou taxas de MO<sup>28</sup>. Tendo em vista que o uso de indutor na presença de mais de um  
132 folículo pré-ovulatório estimula a MO<sup>29,30</sup>, a indução da ovulação com dois folículos eleva a  
133 ocorrência de GG<sup>31</sup>.

134

### 135 **3.5. Sazonalidade**

136 Estudos descrevem que com a progressão da estação reprodutiva ocorre um aumento  
137 das taxas de MO e, conseqüentemente, no número de éguas concebendo gêmeos. Jeffcott &  
138 Whitwell (1973)<sup>1</sup> avaliaram 478 ciclos no hemisfério norte e observaram que as ovulações  
139 duplas aumentaram de 12% no mês de maio para 19% em junho e, ainda neste estudo, das  
140 éguas que conceberam gêmeos, 61,3% foram nestes meses. Outro estudo também no  
141 hemisfério norte com 1393 éguas observou maior taxa de dupla ovulação no mês de julho  
142 (58,3%), comparado com cerca de 15% nos demais meses, não interferindo na ocorrência de  
143 GG<sup>22</sup>. No hemisfério sul existem poucas descrições da incidência de MO e GG de acordo com  
144 os meses da temporada, Losinno *et al.* (2000)<sup>16</sup> demonstraram com a raça Polo Argentino que  
145 a ocorrência de MO se eleva ao passar dos meses da temporada em um programa de  
146 transferência de embriões na Argentina. A sazonalidade interfere na luminosidade, o que  
147 conseqüentemente afeta a liberação hormonal pelo eixo hipotálamo hipófise, dessa forma,  
148 acredita-se que influencia os níveis de LH.

149

### Considerações Finais

150  
151  
152  
153  
154  
155  
156  
157  
158  
159  
160  
161  
162  
163  
164  
165  
166  
167  
168  
169  
170  
171  
172  
173  
174

O principal fator de risco relacionado a gestação gemelar é a ocorrência de múltiplas ovulações. Características maternas irão aumentar a incidência de múltiplas ovulações, sendo mais frequente em éguas PSI, de Polo Argentino e BH quando comparadas a Árabes e Pôneis. Éguas solteiras terão maior incidência de múltiplas ovulações e gestações gemelares e éguas mais velhas possuem maiores taxas de múltiplas ovulações, mas não de gêmeos. O uso de indutores de ovulação afeta a taxa de ovulações duplas quando utilizados na presença de mais de um folículo pré ovulatório e as múltiplas ovulações são mais frequentes com a progressão da estação reprodutiva. O conhecimento desses fatores de risco é importante para a realização do diagnóstico adequado e intervenção imediata evitando prejuízos causados pelas gestações gemelares.

## Referências

- 176 1. JEFFCOTT, L.B., WHITWELL, K.E. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss  
177 in the Thoroughbred mare. **Journal of Comparative Pathology**, v.83, p.91-106,  
178 1973.
- 179 2. GINTHER, O.J. Maternal aspects of pregnancy. In: **Reproductive Biology of the**  
180 **Mare: Basic and Applied Aspects**, Ed: O.J. Ginther, Equiservices, Cross Plains,  
181 Wisconsin, p. 291-344, 1992.
- 182 3. MCCUE, P.M., THAYER, J., SQUIRES, E.L., BRINSKO, S.P., VANDERWALL,  
183 D.K. Twin pregnancies following transfer of single embryos in three mares: A case  
184 report. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.18, p.832-834, 1998.
- 185 4. GOVOARE, J., HOOGEWIJS, M., De SCHAUWER, C., ZEVEREN A.V., SMITS,  
186 K., CORNILLIE, P., KRUIF A.D. An Abortion of Monozygotic Twins in a  
187 Warmblood Mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p.852-854, 2009.
- 188 5. GINTHER, O.J. Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and  
189 embryo attachment in mares. **Theriogenology**, v.20, p.383-395, 1983.
- 190 6. MACPHERSON, M. L. & REIMER, J. M. Twin reduction in the mare: current  
191 options. **Animal Reproduction Science**, v.60, p.233-244, 2000.
- 192 7. GINTHER, OJ. Twin embryos in mares I: from ovulation to fixation. **Equine**  
193 **Veterinary Journal**, v.21, p.166-170, 1989.
- 194 8. SQUIRES, E.L., McCLAIN, M.G., GINTHER, O.J., McKINNON, A.O. Spontaneous  
195 multiple ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo  
196 collections. **Theriogenology**, v.28, p.609-613, 1987.
- 197 9. DAVIES MOREL, M. C., NEWCOMBE, J.R., REYNOLDS, N. Asynchronous  
198 ovulation in mares: seasonal variations in frequency. **Veterinary Record**, v.176, p.30,  
199 2015.
- 200 10. NEWCOMBE, J.R. The incidence of ovulation during the luteal phase from day 4 to  
201 day 20 in pregnant and non pregnant mares. **Journal of Equine Veterinary Science**.  
202 v.17, n.3, p. 120-122, 1997.
- 203 11. NEWCOMBE, J.R. Conception in a mare to a single mating 7 days before ovulation.  
204 **Equine Veterinary Education**, v.6, p.27-28, 1994.
- 205 12. HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, p.513,  
206 2004.
- 207 13. CAMARGO, C.E., WEISS, R.R., KOZICKIL, L.E., DUARTE, M.P., DUARTE,  
208 M.C.G., BERTOL, M.A.F., GAIEVSKI, R.F., BASTOS, G.M. Aspectos relacionados  
209 com a recuperação embrionária em éguas da raça Brasileiro de hipismo, utilizadas em  
210 programa comercial de transferência de embrião. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n.4,  
211 p.74-83, 2013.
- 212 14. CARMO M.T., TRINQUE, C.L.N., LIMA, M.M., MEDEIROS, A.S.L.,  
213 ALVARENGA, M.A. Estudo da incidência de múltiplas ovulações em éguas da raça  
214 Brasileiro de Hipismo e suas implicações em um programa de transferência de  
215 embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.26, p.252-4, 2002.
- 216 15. DAVIES MOREL, M.C., O'SULLIVAN, J.A.M. Ovulation rate and distribution in  
217 thoroughbred mare, as determined by ultrasonic scanning: the effect of age. **Animal**  
218 **Reproduction Science**, v.2119, p.1-12, 2001.
- 219 16. LOSINNO, L., AGUILAR, J., LISA, H. Impact of multiple ovulations in a  
220 commercial equine embryo transfer programme. **Havemeyer Foundation**  
221 **Monograph Series**, v.3, p.81-83, 2000.

- 222 17. GINTHER, O.J., DOUGLAS, R.H., LAWRENCE, J.R. Twinning in mares: A survey  
223 of veterinarians and analyses of theriogenology records. **Theriogenology**, v.18, p.333-  
224 347, 1982.
- 225 18. DESKUR, S. Twinning in Thoroughbred mares in Poland. **Theriogenology**, v.23,  
226 p.711-718, 1985.
- 227 19. GASTAL E.L., NEVES A.P., MATTOS R.C., PETRUCCI L.P.B., GASTAL, M.O.,  
228 GINTHER, O.J. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics  
229 during the oestrous cycle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p.376-  
230 385, 2008.
- 231 20. ALLEN, W.R., BROWN, L., WRIGHT, M., WILSHER, S. Reproductive efficiency  
232 of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. **Equine**  
233 **Veterinary Journal**, v.39, p.438-445, 2007.
- 234 21. PASTORELLO, M., GASTAL M. O., PIQUINI, G. K., GODOI, D.B., GASTAL, E.L.  
235 Ovarian dynamics and gonadotropins during selection of the dominant follicle in  
236 postpartum lactating versus non-postpartum cycling mares. **Reproduction, Fertility**  
237 **and Development**, v.32, p.191-191, 2019.
- 238 22. MORRIS L.H.A., ALLEN W.R. Reproductive efficiency of intensively managed  
239 Thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**, v.34, n.1, p.51-60,  
240 2002.
- 241 23. HENRY, M.R.J.M. *Some Special Aspects of the Physiopathology of Reproduction in*  
242 *Mares*. 1981. Tese (Doutorado) - Universidade de Ghent, Bélgica, 1981.
- 243 24. DAVIES MOREL, M.C.G., NEWCOMBE, J.R., SWINDLEHURST, J.C. The effect  
244 of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle  
245 diameter in the mare. **Theriogenology**. v.63, p.2482-2493, 2005.
- 246 25. PERKINS, N.R., GRIMMETT, J.B. Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred  
247 mares following administration of human chorionic gonadotropin (hCG). **The New**  
248 **Zealand Veterinary Journal**, v.49, p.94-100, 2001.
- 249 26. VERONESI, M.C., BATTOCCHIOA, M., FAUSTINIB, M., GANDINIC, M.,  
250 CAIROLI, F. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or  
251 ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. **Domestic Animal**  
252 **Endocrinology**, v.25, p.133-140, 2003.
- 253 27. MCKINNON, A.O. Reproductive efficiency of horses in Australia.  
254 [http://www.gvequine.com.au/breeding\\_efficiency.htm](http://www.gvequine.com.au/breeding_efficiency.htm). 2000.
- 255 28. WENDT, C. G., SANTOS, I.P.O., MOUSQUER, M.A., TORRES, A.J., CURCIO,  
256 B.R., NOGUEIRA, C.E.W. Gestação Gemelar em éguas da Raça Crioula-Dados  
257 Preliminares. In: II Congresso REPROLAB de Reprodução Equina, 2019, Porto  
258 Alegre. **Anais do II Congresso Reprolab de Reprodução Equina**, p. 95-95, 2019.
- 259 29. WOODS, G., GINTHER, O. Induction of multiple ovulations during the ovulatory  
260 season in mares. **Theriogenology**, v.20, p.347-55, 1983.
- 261 30. NAGAO, J.F. NEVES NETO, J.R., PAPA, F.O., ALVARENGA, M.A.A, FREITAS-  
262 DELL'AQUA, C.P., DELL'AQUA, J.A. Induction of double ovulation in mares using  
263 deslorelin acetate. **Animal Reproduction Science**, v.136, p.69-73, 2012.
- 264 31. CUERVO-ARANGO J., NEWCOMBE JR. Repeatability of preovulatory follicular  
265 diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how  
266 they are influenced by ovulation inductors. **Theriogenology**, v.69, p.681-687, 2008.

## **2.2 Artigo 2**

### **Gestação gemelar em éguas, parte II: diagnóstico e intervenção**

Camila Gervini Wendt, Bruna da Rosa Curcio, Bruna dos Santos Suñé  
Moraes, Isadora Paz Oliveira dos Santos, Tatiane Leite Almeida, Carlos  
Eduardo Wayne Nogueira

Aceito para publicação na Revista Brasileira De Medicina Equina  
(ISSN 1809-2063)

## Gestação gemelar em éguas, parte II: diagnóstico e intervenção

Camila Gervini Wendt<sup>1</sup>, Bruna da Rosa Curcio<sup>1\*</sup>, Bruna dos Santos Suñé Moraes<sup>1</sup>,  
Isadora Paz Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Tatiane Leite Almeida<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Wayne  
Nogueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas RS, Brasil.

### Resumo

Gestações gêmeares em equinos resultam em perdas embrionárias, aborto no terço final ou nascimento de potros debilitados. O objetivo desta revisão é discutir os métodos de diagnóstico e intervenção da gestação gemelar. O diagnóstico deve ser realizado na fase de migração embrionária, entre 12 e 15 dias. A ruptura de uma das vesículas é o método mais eficaz promovendo perdas similares as de uma gestação simples. Caso não seja possível intervir nesta fase, pode-se realizar o acompanhamento até cerca de 30 dias para observar a redução natural. Não ocorrendo a redução, existem técnicas de maior risco que podem ser realizadas, dentre elas: aspiração transvaginal, manipulação craniana do feto, deslocamento craniocervical ou injeção de intracardíaca-pulmonar. A eficiência da manipulação está relacionada a capacidade técnica do profissional e método utilizado, sempre buscando preservar a integridade da égua gestante.

**Palavras-chave:** Equinos; gêmeos; esmagamento; ultrassonografia; embrião.

## **Twin pregnancies in mares, part II: diagnosis and management**

25

26

### **Abstract**

27 Twin pregnancies in horses result in embryonic losses, abortion in the final third or birth of  
28 debilitated foals. The aim of this review is to discuss the diagnosis and intervention methods  
29 of twin pregnancy. The diagnosis should be made in the embryonic migration phase, between  
30 12 and 15 days. Rupture of one of the vesicles is the most effective method promoting losses  
31 similar to those of a single pregnancy. If it is not possible to manipulate at this stage,  
32 observations can be done for up to 30 days to observe the natural reduction. If there is no  
33 reduction, there are higher risk techniques that can be performed, including transvaginal  
34 aspiration, cranial manipulation of the fetus, craniocervical dislocation or intracardiac-  
35 pulmonary injection. The efficiency of manipulation is related to the professional's technical  
36 capacity and method, always seeking to preserve the integrity of the pregnant mare.

37 **Keywords:** Horses; twins; crush; ultrasound; embryos.

38

## **Embarazos gemelares en yeguas, parte II: diagnóstico y manejo**

39

40

### **Resumen**

41 Los embarazos gemelares en yeguas resultan en pérdidas embrionarias, aborto involuntario en  
42 el tercio final o nacimiento de potros debilitados. El objetivo de esta revisión es analizar el  
43 diagnóstico y los métodos de intervención del embarazo gemelar. El diagnóstico debe hacerse  
44 en la fase de migración embrionaria, entre 12 y 15 días. La ruptura de una de las vesículas es  
45 el método más efectivo que promueve pérdidas similares a las de un embarazo simple. Si no  
46 es posible intervenir en esta etapa, se puede hacer un seguimiento de hasta 30 días para  
47 observar la reducción natural. Si no hay reducción, se pueden realizar técnicas de mayor  
48 riesgo, que incluyen la aspiración transvaginal, la manipulación craneal del feto, la

49 dislocación craneocervical o la inyección intracardiaco-pulmonar. La eficiencia del manejo  
50 está relacionada con la capacidad técnica y el método del profesional, siempre buscando  
51 preservar la integridad de la yegua preñada.

52 **Palabras-clave:** Caballos; gemelos; aplastar; ultrasonido; embriones.

53

54

## 1. Introdução

55 A placenta equina é classificada como epiteliocorial microcotiledonária difusa, o que  
56 implica na necessidade de estar em contato com toda superfície do endométrio para a  
57 adequada nutrição e oxigenação do feto. A espécie equina é monogestacional, e quando  
58 ocorre a gestação gemelar (GG), a porção placentária que está em contato entre os fetos não  
59 possui vilosidades ou contato com o endométrio, impossibilitando a nutrição adequada de  
60 ambos<sup>1</sup>. Dessa forma, a maioria das GG resulta em perdas embrionárias, aborto em fase final  
61 de gestação ou nascimento de potros debilitados com alta taxa de mortalidade neonatal, seja  
62 por restrição de crescimento ou síndrome de asfixia no parto<sup>2</sup>. As perdas gestacionais ou  
63 alterações no parto podem causar danos que irão prejudicar as taxas de concepção da égua em  
64 um próximo acasalamento ou até mesmo inviabilizá-la como reprodutora.

65 Os métodos de diagnóstico e estratégias para manejar a GG variam de acordo com o  
66 tempo de gestação e é responsabilidade do veterinário conhecer os fatores de risco, realizar o  
67 diagnóstico e instituir o manejo adequado para prevenir o aborto ou parto de ambos fetos  
68 debilitados. Visto a importância da GG, esta revisão objetiva discutir os principais métodos de  
69 diagnóstico e intervenção no manejo da GG em éguas.

70

## 2. Diagnóstico da gestação gemelar

71 A utilização da ultrassonografia transretal de 5MHz permite realizar o diagnóstico  
72 gestacional a partir do 9º dia pós ovulação. Durante o diagnóstico de gestação é importante  
73 que se faça a varredura completa de ambos os cornos uterinos e corpo, avaliando também a

74 presença e número de corpos lúteos nos ovários. O exame ginecológico previamente a  
75 cobertura é fundamental para identificar fatores que influenciam na ocorrência da GG ou que  
76 dificultam o diagnóstico precoce, como múltiplas ovulações (MO) e cistos endometriais,  
77 respectivamente. Em sendo a ocorrência de GG diretamente relacionada a taxa de MO, é  
78 importante o monitoramento do número de ovulações para maiores cuidados no diagnóstico  
79 precoce<sup>2</sup>.

80 A manipulação da gestação gemelar entre 13-16 dias pós ovulação apresenta melhor  
81 eficácia<sup>3</sup>, sendo importante a identificação da GG ainda nesta fase de migração embrionária.  
82 Na ocorrência de ovulações assincrônicas ou de diestro é possível não visualizar as duas  
83 vesículas aos 14 dias da primeira ovulação, sendo recomendado examinar novamente essas  
84 éguas com intervalo de dois dias e repetir aos 18 e 30 dias de gestação. O diagnóstico ao redor  
85 dos 18-19 dias pode gerar fator de confundimento caso as vesículas estejam fixadas  
86 simultaneamente<sup>2</sup>, sendo difícil a diferenciação das mesmas (Figura 1).

87

88

89

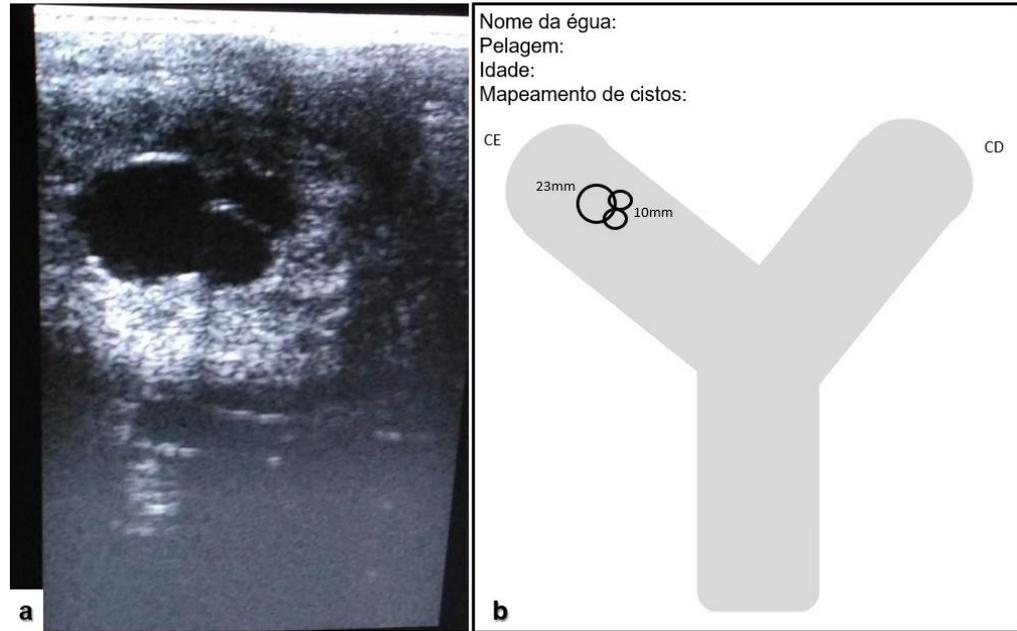
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
101  
102



103 **Figura 1.** Imagem ultrassonográfica de duas vesículas embrionárias fixadas  
104 concomitantemente a um cisto endometrial (\*) 18 dias após a ovulação. A seta indica o septo  
105 entre as vesículas embrionárias.

106

107 Os cistos endometriais podem ser muito similares a vesículas embrionárias na fase  
108 inicial de gestação (Figura 2a), por isso é recomendado o mapeamento (Figura 2b) dessas  
109 estruturas antes da realização do diagnóstico. Este deve ser realizado preferencialmente no  
110 diestro, pois edema exacerbado ou fluido intrauterino podem prejudicar a visualização dos  
111 cistos. Para auxiliar na diferenciação de cistos e vesículas embrionárias, pode-se ainda realizar  
112 o mapeamento diário nos exames para diagnóstico, identificando o tamanho e local das  
113 estruturas, os embriões irão crescer e podem se movimentar<sup>4</sup>, diferentemente dos cistos.



114

115 **Figura 2. a.** Imagem ultrassonográfica de cistos endometriais no corno uterino de égua PSI.

116 **b.** Diagrama esquemático para mapeamento dos cistos durante exame ginecológico.

117

118 O acompanhamento da gestação na fase inicial é importante para identificar GG tendo  
 119 em vista que a partir do 70º dia de gestação, o diagnóstico por ultrassonografia transretal  
 120 torna-se difícil devido ao aumento de líquido alantoideano e a expansão do corno gravídico  
 121 para o abdômen<sup>5</sup>. A partir dessa fase, recomenda-se o uso de ultrassonografia transabdominal  
 122 com uma probe de 3,5MHz, para identificar dois batimentos cardíacos<sup>2</sup>, muitas vezes este  
 123 exame pode resultar em falha na detecção devido a intensa movimentação e tamanho dos  
 124 fetos. Em casos avançados de falha no diagnóstico por ultrassonografia, a identificação da GG  
 125 ocorre devido a presença de sinais de sofrimento fetal, como desenvolvimento precoce da  
 126 glândula mamária, lactação precoce, ou até mesmo com o aparecimento do aborto de ambos  
 127 os fetos<sup>1</sup>. Portanto, com as dificuldades de reconhecimento da GG em fases avançadas,  
 128 recomenda-se o exame completo e sistemático do útero e ovários, com equipamentos de  
 129 qualidade, adequada contenção do animal em ambiente tranquilo na fase inicial da gestação<sup>2</sup>.

130

### 3. Manipulação da gestação gemelar

131

132

133

134

135

136

137

138

139

A GG em equinos é complexa e deve ser abordada com cautela frente aos proprietários e leigos. De modo geral, essas gestações irão resultar no aborto, complicações no parto ou nascimento de fetos debilitados, o que pode levar a danos irreparáveis para o trato reprodutivo da égua ou até mesmo risco de vida para ambos. Dessa forma, por mais que as intervenções impliquem em reduzir uma das gestações, é de responsabilidade do veterinário diagnosticar e esclarecer aos proprietários os riscos da GG, demonstrando que, mesmo cursando com a interrupção de uma das gestações, a manipulação adequada irá priorizar a integridade e o bem estar da égua.

140

141

142

143

144

145

146

Antes do advento da ultrassonografia, alguns veterinários optavam por não utilizar o cio com dois folículos pré ovulatórios o que não era eficiente, tendo em vista que grande parte das éguas que ovulam dois folículos tendem a repetir nos próximos ciclos. O uso de agentes luteolíticos (como  $PGF_{2\alpha}$ ) para interromper as GG pode ser implementado, porém é prejudicial em raças com ano hípico e não indicado para gestações após 35 dias, devido a presença dos cálices endometriais que produzem eCG e impedem a égua de retornar ao cio na mesma temporada<sup>2</sup>.

147

148

149

150

151

152

153

154

155

Os principais métodos utilizados para intervir na GG são: a ruptura manual da vesícula, redução natural com restrição alimentar, aspiração da vesícula embrionária, injeção intracardíaca fetal e deslocamento craniocervical do feto. A escolha do método utilizado depende da fase gestacional, local de fixação das vesículas, importância da gestação, custo da cobertura e época da temporada reprodutiva. É dever do médico veterinário responsável esclarecer aos proprietários o risco das GG e de cada procedimento a ser implementado, visando sempre preservar a vida e bem-estar da égua gestante.

### 3.1 Redução na fase de migração embrionária

156

157

158

159

160

161

162

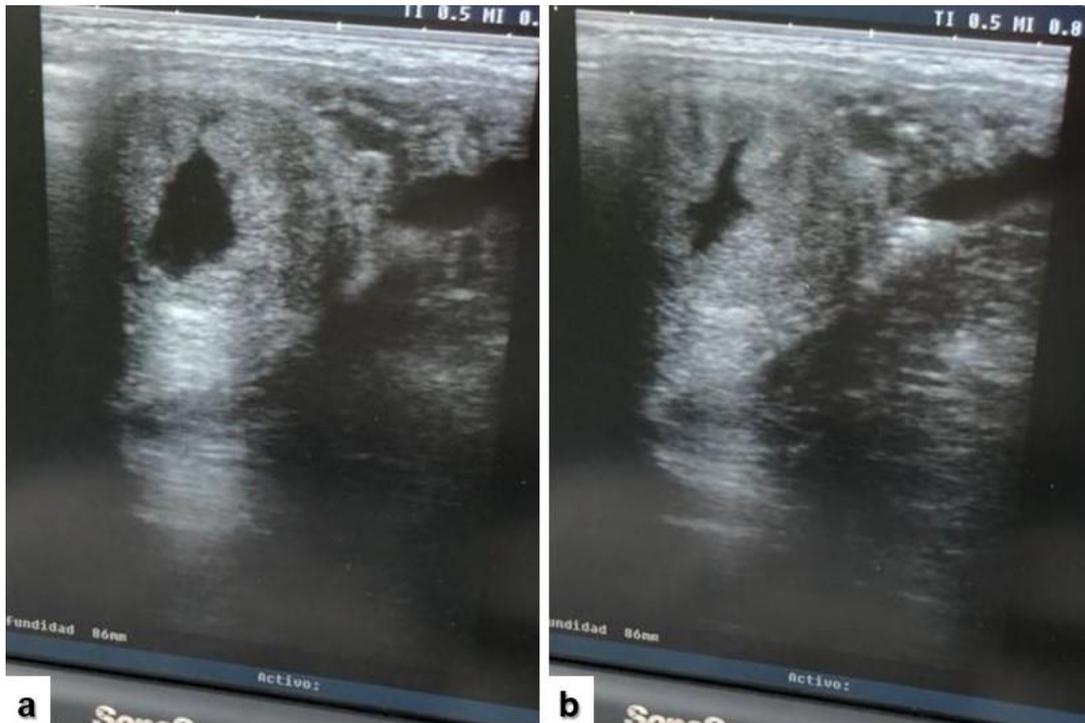
163

164

165

166

A ruptura manual ou esmagamento da vesícula embrionária tem bons resultados se realizada ainda na fase de migração (Figura 3). Esta técnica foi inicialmente descrita por Ginther (1983)<sup>6</sup> e consiste no diagnóstico da GG entre 12 e 15 dias pós ovulação e na compressão manual de uma das vesículas com o auxílio da ultrassonografia transretal. É importante que as vesículas estejam suficientemente separadas para que a manipulação não cause danos na vesícula remanescente. Caso ambas vesículas estiverem migrando juntas, pode-se realizar a manipulação cuidadosa de uma delas tentando separar ou aguardar cerca de uma hora e realizar novamente a avaliação. Esta técnica pode ser aplicada com a compressão de dois dedos na ponta do corno uterino<sup>6</sup> ou com a pressão da probe na vesícula utilizando a pelve para estabilizar o útero<sup>2</sup>.



167

168

169

170

171

**Figura 3.** Imagem ultrassonográfica do útero imediatamente após o esmagamento de uma vesícula embrionária com 15 dias pós ovulação, nota-se a característica de disseminação do líquido oriundo da vesícula manipulada.

172 A manipulação de uma das vesículas vai promover a liberação de PGF2 $\alpha$  a partir de 90  
173 minutos<sup>7</sup>, no entanto, este aumento não influencia os níveis séricos de progesterona, não  
174 sendo necessário a suplementação com progestágenos ou uso de antiinflamatórios não  
175 esteroidais após a manipulação. Mckinnon (2007)<sup>2</sup> diagnosticou 245 gestações gemelares em  
176 1716 éguas PSI, sendo instituído o manejo de esmagamento de uma das vesículas, destas 245  
177 apenas 4% (n=10) perderam ambas dez dias após a manipulação. Outro estudo de Pascoe *et*  
178 *al.* (1987)<sup>7</sup> com 100 éguas PSI demonstrou 96% de sobrevivência após o esmagamento de  
179 uma das vesículas embrionárias, sendo demonstrado a eficiência desta técnica já que as taxas  
180 de perdas após a manipulação são similares as de uma única gestação. O sucesso dessa técnica  
181 depende da experiência do veterinário, mas, de modo geral, a posição dos embriões no útero  
182 influencia a eficácia<sup>7,9</sup>.

183

184

### 3.2 Redução após a fixação até 30 dias

185 Quando o reconhecimento da GG ocorre após a fixação embrionária, entre 17 e 30  
186 dias, pode-se optar por realizar a compressão manual ou aguardar a possível redução natural.  
187 A fixação pode ocorrer de forma bilateral ou unilateral, sendo a ocorrência independente da  
188 sincronia das ovulações<sup>3</sup>. Devido à grande eficiência da redução de uma das vesículas  
189 embrionárias de forma natural, quando ocorre a fixação unilateral normalmente não é  
190 realizada nenhuma intervenção. Em situações de fixação bilateral, é recomendado realizar a  
191 manipulação imediata através do esmagamento de uma das vesículas até os 30 dias de  
192 gestação<sup>10</sup>.

193 Previamente a fixação embrionária é improvável que ocorra a redução natural de uma  
194 das vesículas<sup>11</sup>, no entanto, dependendo do local de fixação, a redução natural pode ocorrer de  
195 forma eficiente. Vesículas de tamanhos similares (diferença até 3mm), têm a chance de  
196 fixação em um mesmo corno gravídico de 62%. Enquanto que em embriões com maior

197 disparidade (>4mm) a incidência de fixação em um mesmo corno é maior, ao redor de 85%.  
198 Quando as vesículas têm mesmo tamanho e estão fixadas em um mesmo corno, em 73%  
199 ocorrerá redução em uma única gestação, enquanto que, com tamanhos diferentes, essas taxas  
200 passam para ao redor de 100%<sup>12</sup>. No entanto, essa redução deve ocorrer até cerca de 40 dias  
201 de gestação, em casos da permanência das duas vesículas embrionárias, é recomendado a  
202 interrupção pois frequentemente resultará em aborto de ambos os fetos. Em situações de  
203 redução natural de uma das vesículas embrionárias, a outra tende a seguir o desenvolvimento  
204 e progredir para o nascimento de um potro saudável. A restrição alimentar de concentrado tem  
205 sido recomendada para acelerar a redução natural, promovendo taxas manutenção de uma das  
206 vesículas similares a gestações únicas.

207 Após os 30 dias de gestação, a chance de obter um potro viável com a manipulação  
208 das gestações bilaterais reduz significativamente. Roberts (1982)<sup>13</sup> avaliou 181 casos de GG  
209 onde no esmagamento de uma das vesículas antes dos 31 dias obteve 70% de eficácia na  
210 manutenção da gestação, enquanto que após o 31º dia reduziu para apenas 23% o nascimento  
211 de potros viáveis. A reduzida eficiência da manipulação da GG nesta fase é devido a  
212 quantidade de líquido alantoideano oriundo da ruptura da vesícula, que reduz a viabilidade do  
213 embrião remanescente. Além disso, o esmagamento de uma das vesículas após os 30 dias de  
214 gestação muitas vezes é ineficiente mesmo com a aplicação intensa de pressão manual.

215

216

### 3.3 Manipulação após 30 dias de gestação

217 Os procedimentos após 30 dias são mais complexos e de maior risco para manutenção  
218 da gestação, no entanto, deve-se conscientizar os proprietários da necessidade de intervenção  
219 para a integridade e bem estar da égua gestante<sup>2</sup>. O método de aspiração transvaginal dos  
220 fluidos fetais pode ser realizado com a sonda para aspiração folicular em gestações com  
221 fixação unilateral ou bilateral. A primeira descrição foi realizada por Pascoe (1979)<sup>14</sup>, onde

222 todas as éguas submetidas à aspiração de uma das vesículas aos 42 dias pós ovulação não  
223 mantiveram a gestação. Posteriormente outros estudos obtiveram diferentes resultados, com  
224 cerca de 43% das éguas mantendo uma gestação após a aspiração, melhor eficiência quando a  
225 fixação era bilateral (75% vs. 33%) e obtiveram maiores taxas de prenhez quando realizado  
226 antes dos 25 dias de gestação<sup>15</sup>. Outros autores concluíram que esta técnica é eficiente quando  
227 realizada antes dos 36 dias de gestação principalmente nos casos de fixação unilateral<sup>16</sup>. No  
228 entanto, a aplicação da aspiração é eficaz na mesma fase onde pode ocorrer a redução natural  
229 da GG, sendo mais prudente monitorar a gestação e interromper caso não ocorra a redução  
230 natural.

231 Entre 60 e 100 dias de gestação, as chances de ocorrer a redução da GG para um único  
232 feto são mínimas e as intervenções limitadas, sendo de risco para a égua gestante. Para  
233 manipular a GG nesta fase se tem basicamente três opções, manipulação craniana do feto,  
234 deslocamento craniocervical ou injeção de cloreto de potássio (KCl) ou penicilina  
235 intracardíaca-pulmonar. Todas essas técnicas devem ser implementadas no feto de menor  
236 tamanho e com a égua devidamente contida e sedada.

237 A manipulação craniana do feto é efetuada com a probe transretal realizando  
238 movimentos repetitivos de trauma na região cefálica, sendo o dano suficiente para causar a  
239 morte fetal espera-se cerca de 50% de eficácia<sup>17</sup>. O deslocamento craniocervical é uma  
240 técnica mais recente e que demanda grande habilidade. Para esta, inicialmente deve-se utilizar  
241 drogas que promovam o relaxamento uterino, anestesia epidural e sedação da égua, com o  
242 dedo indicador e o polegar envolvendo a região cervical do feto escolhido realiza-se  
243 movimentos repetitivos laterais para danificar os ligamentos craniocefálicos e,  
244 posteriormente, a pressão da cabeça contra o tórax fetal, promovendo o deslocamento  
245 cervical. Quando efetiva, é possível encontrar o polegar e dedo indicador entre a cabeça e  
246 tórax fetal<sup>18</sup>.

247 A injeção de KCl ou penicilina intracardíaca-pulmonar deve ser realizada guiada por  
248 uma probe convexa, utilizando uma agulha profunda que ultrapassa a pele, abdômen e parede  
249 uterina. A partir disso, a agulha é identificada no ultrassom e posicionada no coração ou  
250 pulmão do feto. A morte fetal deve ser confirmada um dia após a realização dessa técnica e  
251 aos poucos ocorrerá a mumificação do feto<sup>19</sup>. Com o uso das técnicas tardias para  
252 manipulação da GG pode ainda ocorrer o nascimento de um potro debilitado e de menor  
253 estatura, pois irá ocorrer a restrição de crescimento intrauterino<sup>20</sup>.

254

255

### **Considerações Finais**

256 A intervenção objetiva melhores resultados de manutenção da gestação preservando a  
257 integridade da égua gestante. A eficiência da manipulação das gestações gemelares está  
258 relacionada a capacidade técnica do profissional e método utilizado. O diagnóstico da  
259 gestação gemelar deve ser realizado o mais precoce possível, entre 12 e 15 dias pós ovulação,  
260 para que se possa realizar a intervenção ainda na fase de migração embrionária.

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

## Referências

- 273 1. JEFFCOTT, L.B., WHITWELL, K.E. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss  
274 in the Thoroughbred mare. **Journal of Comparative Pathology**, v.83, p.91-106,  
275 1973.
- 276 2. MCKINNON, A.O. Twin reduction techniques. In: **Current Therapy in Equine**  
277 **Reproduction**, Ed: J.C. Samper, J.F. Pycock and A.O. McKinnon, Saunders, St.  
278 Louis. p.357-373, 2007.
- 279 3. GINTHER, O.J. Twin embryos in mares I: from ovulation to fixation. **Equine**  
280 **Veterinary Journal**, v.21, p.166–170, 1989.
- 281 4. GINTHER, O.J. Equine Pregnancy: Physical Interactions Between the Uterus and  
282 Conceptus. **Equine PP**, 1998.
- 283 5. GINTHER, O.J., GRIFFIN, P.G. Natural outcome and ultrasonic identification of  
284 equine fetal twins. **Theriogenology**, v.41, p.1193-1199, 1994.
- 285 6. GINTHER, O.J. Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and  
286 embryo attachment in mares. **Theriogenology**. v.20, p.383-395, 1983.
- 287 7. PASCOE, D.R., et al. Management of twin conceptuses by manual embryonic  
288 reduction: Comparison of two techniques and three hormone treatments. **American**  
289 **Journal of Veterinary Research**. v.48, p.1594-1599, 1987.
- 290 8. SHEERIN, P.C., HOWARD, C.E., LEBLANC, M.M., STROMBERG, A. J. Effects of  
291 operator, treatment and mare age on the live foal rate of mares after manual twin  
292 reduction. **Animal Reproduction Science**. v. 121, p.312–313, 2010.
- 293 9. SCHNOBIRCH, M.R., RIDDLE, W.T., STROMBERG, A.J., LEBLANC, M.M.  
294 Factors affecting live foal rates of Thoroughbred mares that undergo manual twin  
295 elimination. **Equine Veterinary Journal**. v.45, p.676–680, 2013.
- 296 10. HODDER, D.J., LIU, I.K.M., BALL, B.A. Current methods for the diagnosis and  
297 management of twin pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Education**. v.20, n.9,  
298 p.493-502, 2008.
- 299 11. GINTHER, O.J. Post-fixation embryo reduction in unilateral and bilateral twins in  
300 mares. **Theriogenology**. v.22, p.213-223, 1984.
- 301 12. GINTHER, O. J. Equine Pregnancy: Physical Interactions Between the Uterus and  
302 Conceptus. In: Proceedings of **The American Association of Equine Practitioners**  
303 **Annual Congress** v.44, p.73–104, 1998.
- 304 13. ROBERTS, C.J. Termination of twin gestation by blastocyst crush in the broodmare.  
305 **Journal of Reproduction and Fertility**. S32, p.447-449, 1982.
- 306 14. PASCOE, R.R. A possible new treatment for twin pregnancy in the mare. **Equine**  
307 **Veterinary Journal**. 11, 64-65, 1979.
- 308 15. BRACHER, V. PARLEVLIT, J.M., PIETERSE, M.C., VOS, P.L., WIEMER P.,  
309 TAVERNE, M.A., COLENBRANDER B. Transvaginal ultrasound-guided twin  
310 reduction in the mare. **Veterinary Records**. v.133, p.478-479, 1993.
- 311 16. MACPHERSON, M.L., REIMER, J.M. Twin reduction in the mare: current options.  
312 **Animal Reproduction. Science**. v.60-61, p.233-244, 2000.
- 313 17. MCKINNON, A.O., RANTANEN, N.W. Twins. In: **Equine Diagnostic**  
314 **Ultrasonography**, Eds: N.W. Rantanen and A.O. McKinnon, Williams and Wilkins,  
315 Baltimore. p.141-156, 1998.
- 316 18. WOLFSDORF, K.E., RODGERSON, D. HOLDER, R. How to manually reduce  
317 twins between 60 and 120 days gestation using craniocervical dislocation. **Proc. Am.**  
318 **Ass. equine Practnrs**. v.51, p.284-287, 2005.

- 319 19. MCKINNON, A. O. Management of twins. In **Equine Reproduction**. 2nd Edn. Eds  
320 A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala and D. D. Varner. Wiley-Blackwell. p.  
321 2099–2117, 2011
- 322 20. BALL, B. A., SCHLAFER, D. H., CARD, C. E. & YEAGER, A. E. Partial re-  
323 establishment of villous placentation after reduction of an equine co-twin by fetal  
324 cardiac puncture. **Equine Veterinary Journal**. v.25, p.336–338, 1993.

## **2.3 Artigo 3**

### **Risk factors for the incidence of multiple ovulations and twins in Criollo mares**

Camila Gervini Wendt<sup>1</sup>, Bruna da Rosa Curcio<sup>1\*</sup>, Fabio Pascotti Bruhn, Bruna dos Santos Suñé Moraes<sup>1</sup>, Isadora Paz Oliveira Santos<sup>1</sup>, Felipe Pires Hartwig<sup>2</sup>, Carlos Eduardo Wayne Nogueira<sup>1</sup>

Submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1 **Risk factors for the incidence of multiple ovulations and twins in Criollo**  
2 **mares**

3 **Fatores de risco para a incidência de múltiplas ovulações e gestações**  
4 **gemelares em éguas Crioulas**

5 Camila Gervini Wendt<sup>1</sup>, Bruna da Rosa Curcio<sup>1\*</sup>, Fabio Pascotti Bruhn<sup>2</sup>, Bruna  
6 dos Santos Suñé Moraes<sup>1</sup>, Isadora Paz Oliveira Santos<sup>1</sup>, Felipe Pires Hartwig<sup>3</sup>,  
7 Carlos Eduardo Wayne Nogueira<sup>1</sup>

8 <sup>1</sup>Departamento de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas,  
9 Pelotas, RS, Brazil. <sup>2</sup>Departamento de Veterinária Preventiva Faculdade de  
10 Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

11 <sup>3</sup>Hartwig Fertilidade Equina, Capão do Leão, RS Brazil.

12  
13 \*Correspondent author: curciobruna@hotmail.com

14 Co-correspondent author: camilagerviniw@gmail.com

15 Hospital de Clínicas Veterinária, Avenida Eliseu Maciel – Jardim América,  
16 Capão do Leão, RS 96010-610 Brazil

17 **Abstract**

18 Twin pregnancies cause losses to the equine industry and the incidence depends on different  
19 factors. Few studies describe the reproductive performance in Criollo mares. The aim of this  
20 study was to evaluate the incidence of multiple ovulations and twin pregnancies in Criollo  
21 mares, correlating with risk factors. Retrospective data about incidence of multiple ovulations  
22 and twins was analyzed in 814 mares in the southern of Brazil. The frequency according to  
23 reproductive status, age of the mare, use of hormones to induce ovulation and with  
24 environmental factors were analyzed as well. The incidence of twins and multiple ovulations  
25 in Criollo mares were, respectively, 3.44% and 7.8%. Single mares had more 2.37 times more  
26 chances to have twin pregnancies when compared to lactating mares (5.3% vs 2.23%) and  
27 1.92 times more multiple ovulations (10.9% vs 5.68%). Primiparous mares had 2.54 more  
28 chances to have twin pregnancies when compared to multiparous (7.1% vs 2.7%). Other risk  
29 factors didn't affect the incidence of twins. Even with low rates, this data shows the  
30 importance of ultrasound evaluation to pregnancy diagnosis in Criollo mares to avoid  
31 economic losses by twin pregnancies.

32 **Key words:** reproduction; twin; ovulation; equine; gestation.

## 33           **1. Introduction**

34           Horses are monotocus species and twin pregnancies are often disastrous financially.  
35           Mares carry only one pregnancy per gestation and rarely are able to support more than one  
36           pregnancy to term (Ginther, 1982). Twin pregnancies cause abortion in the end of gestation or  
37           delivery of debilitated neonate, besides that, the birth of two fetus can lead to irreparable  
38           damage to the dam (Smith, 2003). Equine twin pregnancies are almost exclusively dizygotic,  
39           a product of multiple ovulations (MO), except in rare cases of monozygotic twins (McCue et  
40           al., 1998).

41           Incidence of MO and twins could be affected by many characteristics, such as:  
42           reproductive status of the mare (Ginther, 1983), seasonality (Merkt & Jochle, 1993) and use  
43           of hormones to induce ovulation (Perkins & Grimmet, 2001). The MO and twins more  
44           frequent in barren or primiparous mares, when compared to lactating mares (Allen et al,  
45           2007). The seasonality may affect at least in two different ways, as the breeding season  
46           progress and, in the increases of MO (Merkt & Jochle, 1993; Jeffcott & Whitwell, 1973).  
47           There are controversial studies about the use of hormones. Being that, some studies show this  
48           practical use of induction of ovulation with hormones would increases the occurrence of MO  
49           and twins (Perkins & Grimmet, 2001; Veronesi et al., 2003). While, some studies show that it  
50           does not influence (Davies Morel & Newcombe, 2007).

51           The Criollo horse is composed by rustic and hardy animals which were developmental  
52           by natural breeding in the field since the 19th century. This breed had more than 570 thousand  
53           animals registered in Brazil (ABCCC, 2017), now is important market share in the economic  
54           and cultural aspects in Brazil. The Criollo horses show median stature ranging from 1.38m to  
55           1.50m, are mainly used to work with cattle and competitions, being fully adapted to South  
56           America. Nowadays, the Criollo mares and stallions are selected to breeding not based on  
57           reproductive or hardy characteristics, but on athletic performance, beauty or pedigree. This  
58           could lead to reduce in natural reproductive performance and fertility.

59           With the increased investments in Criollo breed, in 2012 the Brazilian Association of  
60           Criollo Horse Breeders (ABCCC) allowed to use biotechnologies in reproductive  
61           management, including insemination with fresh, cooled and frozen semen and embryo  
62           transfer. Reproductive characteristics as number of cycles for pregnancy, incidence of MO  
63           and incidence of twin pregnancies is very described in other horse breeds (Morris & Allen,  
64           2002; Davies Morel, 2005). However, in Criollos we have only a few studies about  
65           reproductive efficiency (Marino et al., 2010; Durant et al., 2010) and the incidence of twins

66 and MO is not completely elucidated. The overall goal of this study was to evaluate the  
67 incidence of MO and twin pregnancies in Criollo mares. The specific aspects evaluated were  
68 the correlation of occurrence of twins and MO with reproductive status, age of the mare, use  
69 of hormones to induce ovulation and with environmental factors.

## 70 **2. Material and methods**

71 All the procedures carried out in the present study were approved by the Ethical Committee  
72 on Animal Experimental of the Federal University of Pelotas under protocol 6619/2016.

### 73 2.1 Database

74 Records from veterinarians' visits were analyzed. Retrospective data were obtained  
75 from four veterinarians about breeding seasons between the years of 2015 and 2018 in nine  
76 farms and in the south of Brazil. During this four years, 873 Criollo mares were bred to 104  
77 stallions, all animals were registered on Brazilian Association of Criollo Horse Breeders  
78 (Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos - ABCCC). From 873 mares, we  
79 found 814 gestations (93.25%) and only the pregnant mares were used in this study. Data  
80 about mare's age, parity and reproductive status were obtained from farm records and  
81 reproductive data was computed by veterinary records. Individual mares were excluded if any  
82 specific records were incomplete. Factors analyzed included mares age, foaling status and  
83 parity, use of hormones to induce ovulation, type of cover, month of breeding, number of  
84 ovulations and pregnancy diagnosis (twins x singleton). The effects of stallion was analyzed  
85 as well.

### 86 2.1 Groups

87 The mares were grouped according to age (Winter et al., 2007) in young mares (2-7  
88 yo; n=327), adult mares (8-14 yo; n=327) and old mares (15-27 yo; n=160). According to the  
89 reproductive status and parity the mares were classified, respectively, as single (not foaled  
90 during the season; n=321) or lactating (foaled during the season; n=493) and primiparous  
91 (n=141) or multiparous (n=673). The mares were evaluated by transrectal palpating and  
92 ultrasound every two days by the same veterinarian. When the mare had characteristics as pre  
93 ovulatory follicle and edema compatible with pre ovulatory period, some of them received  
94 hormones for ovulation. According to the hormone that each mare received they were divided  
95 in four groups: (1) did not use hormone (n=216); (2) analogs of gonadotrophin-releasing  
96 hormone (GnrH; deslorelin acetate 750µg -Sincrorrelin®- or histrelin 250 µg -Strelin®-)  
97 (n=362); (3) Human Chorionic Gonadotrophin (hCG), 1500 UI, (Chorulon®) (n=127); and

98 (4) Association of GnRH and hCG (n=109). The stallion used for breeding determine which  
99 kind of cover was applied, being some of them bred by natural cover (n=48), artificial  
100 insemination (AI) with fresh (n=413), cooled (n=312) or frozen semen (n=41). The mares  
101 were checked for ovulation 48 hours after breeding, except the mares from frozen semen  
102 group that were inseminated by deep insemination immediately after ovulation, analyzing if  
103 the ovulations were unilateral or bilateral. Between 14-16 days after ovulation the mares were  
104 checked for pregnancy diagnosis and classified as twin pregnancy or single. The effect of the  
105 month of breeding in incidence of MO and twin pregnancy was analyzed as well.

### 106 2.3 Statistics

107 Data were analyzed using the software Statistix 10. It was performance frequency  
108 distribution and Chi-Square procedures to determine any effects due to mares age, parity,  
109 reproductive status, month of breeding, breeding method affect the incidence of double  
110 ovulations and twin pregnancies. Fisher exact test was used to identify each difference  
111 between the factors and the risk/prevalence ratio (relative risk) of each factor was calculate by  
112 OpenEpi. The effect of stallion, year of breeding and farm were analyzed as well by Chi-  
113 Square.

### 114 3. Results

115 The incidence of twin pregnancies was 3.44% (28/814) and the incidence of MO was  
116 7.8% (63/814) being 73.02% (46/63) from bilateral ovaries and 26.98% (17/63) unilateral.  
117 MO increased in 54.83 the risk of twin pregnancies (RR 54.83; IC 95%: 21.59, 139.3), which  
118 happened with bilateral (57.1%; 16/28), unilateral (25%; 7/28) or single ovulation (17.9%;  
119 5/28). The results of the incidence of MO according to the reproductive status and parity are  
120 show on Table 1.

121

122

123

124

125

126

127 **Table 1.** Effect of reproductive status and mare's parity on the incidence of twin pregnancies  
 128 and multiple ovulations.

Factors	Twin pregnancies				Multiple ovulation				
	% mares	P value	RR	IC 95%	% mares	P value	RR	IC 95%	
<b>Reproductive status</b>									
Single	5.3% (17/321)	0.019	2.374	1.127, 5.001	10.9% (35/321)	0.006	1.92	1.192, 3.092	
Lactating	2.23% (11/493)				5.68% (28/493)				
<b>Parity</b>									
Primiparous	7.1% (10/141)	0.013	2.542	1.198, 5.396	11.35% (16/141)	0.078	-	-	
Multiparous	2.7% (18/673)				6.99% (47/673)				

129

130 Different from other breeds, the Criollo breeder associations do not define the  
 131 beginning or ending of breeding season. So, the effect of the year season in incidence MO or  
 132 twin pregnancies was analyzed as well. No difference was observed ( $p>0.05$ ) in the  
 133 occurrence of twins or MO according to the season. The use of hormones to induce ovulation  
 134 did not affect the incidence of twins ( $p=0.61$ ) or MO ( $p=0.76$ ) as well as the mares age (Table  
 135 2).

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146 **Table 2.** Incidence of twin pregnancies and multiple ovulation in Criollo mares according to  
 147 the mare's age, season of the year and use of hormones to induce ovulation.

Factors	Twin pregnancies	Multiple ovulation
<b>Mare's Age (years)</b>		
2-7	3.37% (11/327)	6.42% (21/327)
8-14	4.28% (14/327)	9.79% (32/327)
15-27	1.87% (3/160)	6.25% (10/160)
<b>Season</b>		
Winter	2.85% (1/35)	8.57% (3/32)
Spring	3.25% (19/584)	7.71% (45/584)
Summer	4.14% (8/193)	7.77% (15/193)
Autumn	0% (0/2)	0% (0/2)
<b>Use of hormones</b>		
No hormones	4.63% (10/216)	8.8% (19/216)
GnrH	3.31% (12/362)	6.91% (25/362)
hCG	3.14% (4/127)	10.23% (13/127)
GnrH + hCG	1.83% (2/109)	5.51 (6/109)

148

149 Twin pregnancies occurred in 6.25% (3/48) from natural cover, 3.87% (16/413) AI  
 150 with fresh semen, 2.24% (7/312) AI with cooled semen and 4.88% (2/41) with frozen semen.  
 151 Even the type of cover or the stallion did not affect the occurrence of twins ( $p>0.05$ ). The year  
 152 of breeding season has no influence on occurrence of MO or twins ( $p>0.05$ ), by the way, the  
 153 incidence of twins was different according to the farm ( $p=0.003$ ).

#### 154 **4. Discussion**

155 By the authors knowledge, this is the first paper to describe the incidence of twins and  
 156 MO in Criollo mares. Wherever, the Criollo mares showed low incidence of MO and twin  
 157 pregnancy when compared with other horse breeds. While, Thoroughbred horses are known  
 158 to have between 15-35% MO (Davies Morel & O'Sullivan, 2001), Brasileiro de Hipismo  
 159 around 34% to 53% (Camargo et al, 2013; Carmo et al, 2002), Quarter horses and apaloosas  
 160 around 9% and 8% (Ginther, 1982). Besides that, in miniature ponies the incidence of MO

161 and twins is almost absent (Gastal et al, 2008).. The incidence of twins was 3.44% and MO  
162 7.8%, which is probably related to breed characteristics, as stature and genetic features.

163 MO increased in 54.83 the risk of having twin pregnancies, as expected. Higher twin  
164 conception rate resulted from bilateral (57.1%; 16/28) compared to unilateral (25%; 7/28)  
165 MO. This data consists with the suggestion by Ginther (1989) and Squires et al (1987) which  
166 believe that the oviduct is more efficient in capturing the ovum when ovulations occur on  
167 separate ovaries versus the same ovary. By the way, five mares (17.86%; 5/28) had twin  
168 pregnancies without identifying MO. A majority of twin embryos are associated with  
169 ovulation of multiple follicles and result in dizygotic twins (Ginther, 1987). Monozygotic  
170 twins develop from a single fertilized oocyte are rare in horses (McCue et al., 1998; Govaere  
171 et at., 2009). In this study the MO were identified 48 hours after breeding. Our hypothesis is  
172 that these cases of twins without MO could be a result of a misdiagnosis asynchronous  
173 ovulations (Davies Morel et al, 2015), considering that the sperm could survive in the mare's  
174 genital tract for more that seven days (Newcombe, 1994).

175 The reproductive status affects the incidence of MO and twins (Ginther, 1983). In this  
176 study, single mares had 1.92 more chances to have MO and 2.37 more chances to have twin  
177 pregnancies when compared to lactating mares. The cause of reduced number of MO and twin  
178 pregnancy in lactating mares is not completely elucidate, but is suggested that the act of  
179 nursing affect the reproductive function (Ginther, 1979). The lactating stage plays a  
180 significant role in the thyroid and lipid profile in Thoroughbred mares (Fazio et al., 2016) and  
181 these hormones are vital for the normal reproductive function of humans and animals.  
182 Multiple interactions with other hormones and growth factors, such as prolactin, insulin-like  
183 growth factors and by influencing the release of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) in  
184 the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (Silva et al., 2018). By the way, recent studies  
185 demonstrate that post-partum mares had low levels of LH when compared to barren mares  
186 (Pastorello et al., 2019). Unfortunately, this study approach did not allow to evaluate  
187 hormonal profiles, but our hypothesis is that lactating mares have different hormonal profiles  
188 which affect the follicular dynamics.

189 In this study, primiparous mares had 2.54 more chances to have twin pregnancies  
190 when compared to multiparous mares. About the incidence of MO, no statistic difference was  
191 observed ( $p=0.07$ ), probably because the limited number of primiparous mares ( $n=141$ )  
192 compared to multiparous ( $n=673$ ). Other studies did not find difference between the  
193 occurrence of MO or twins in maiden mares compared to barren mares (Ginther, 1983; Morris

194 and Allen, 2002). All the maiden mares were single, which could overlap the influence of  
195 lactation.

196 The mare's age is an important factor affecting MO or twin pregnancies (Davies  
197 Morel & O'sullivan, 2001; Morris & Allen, 2002). Davies Morel et al (2005) analyzing 3075  
198 Thoroughbred mares observed higher incidence of MO in older mares, but twin pregnancies  
199 were more frequent in mares between 6-8 years old (yo), when compared to >3yo or <20yo.  
200 This data suggest that MO are higher according to the age but some maternal factors reduce  
201 the incidence of twins. However, in Criollo mares the age did not influence the incidence of  
202 MO or twin pregnancies, maybe because the incidence is reduced in all categories, when  
203 compared to Thoroughbred mares.

204 Seasonality is described to affect the occurrence of twins and MO in Thoroughbred  
205 mares as well (Morris & Allen, 2002; Merkt & Jochle, 1999). Jeffcott & Whitwell (1993)  
206 analyzing 478 mares observed that 61.3% of twin pregnancies occurred in May and June  
207 (which would be similar to November and December in south hemisphere). In Criollo mares  
208 the beginning and ending of breeding season is not defined by the breeder association, so the  
209 mares can be breeding every time of the year. In this study, no difference was observed in the  
210 incidence of MO or twins according to the seasonality or month of ovulation ( $p>0.05$ ). We  
211 observed different incidence of twins and MO according to the farm ( $p=0.003$ ). The  
212 environment and nutrition can affect the reproductive performance, unfortunately, in this  
213 study was not possible to analyze how differences between the farms and how it would affect  
214 the incidence of twin pregnancies or MO.

215 The effect of hormones to induce ovulation in MO and twin pregnancies is not  
216 completely clear. Some studies show that the use of hCG increase the occurrence of MO and  
217 twins (Perkins & Grimmett, 2001; Veronesi et al., 2003), however, others do not observe  
218 difference between treated and untreated mares (Davies Morel e Newcombe, 2007). In Criollo  
219 mares, we did not observe influence of use of hormones (yes or no) or comparing the groups  
220 of different treatment ( $p>0.18$ ). The stallion and type of breeding can influence in occurrence  
221 of twins, especially in cases of asynchronous ovulations (Squires et al., 1987). In this study  
222 the type of cover did not influenced the occurrence of twins, probably because all the methods  
223 had similar semen fertility.

224

225

## 226 5. Conclusion

227 The incidence of twin pregnancies is 3.44% and MO is 7.8% of Criollo mares, being  
228 more frequent in single and primiparous mares. The age of the mare, use of hormones to  
229 induce ovulation, type of cover or month of breeding did not affect the incidence of twins or  
230 MO. Even with low rates, this data shows the importance of ultrasound evaluation to  
231 pregnancy diagnosis in Criollo mares to avoid economic losses by twin pregnancies.

232

## 233 Acknowledgements

234 Our thanks to Dr. Aníbal Torres, Dr. Bruno Trevisan and Dr. Gabriel Flório to providing data  
235 about their breeding seasons.

## 236 Funding Sources

237 Our thanks to CAPES, CNPq and ABCCC for founding sources.

## 238 Competing Interest

239 None.

## 240 References

- 241 ALLEN, W.R. et al. Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred  
242 mares and stallions in England. **Equine Veterinary Journal**. v.39, p.438-445, 2007.
- 243 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos, 2019.  
244 Pelotas: História da Raça Crioula, 2019. Disponível em:  
245 <http://www.cavalocrioulo.org.br/studbook/historia> (Acesso online 5 de setembro 2019).
- 246 CAMARGO, C.E., WEISS, R.R., KOZICKIL, L.E., DUARTE, M.P., DUARTE, M.C.G.,  
247 BERTOL, M.A.F., GAIEVSKI, R.F., BASTOS, G.M. Aspectos relacionados com a  
248 recuperação embrionária em éguas da raça Brasileiro de hipismo, utilizadas em programa  
249 comercial de transferência de embrião. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n.4, p.74-83, 2013.
- 250 CARMO M.T., et al. Estudo da incidência de múltiplas ovulações em éguas da raça Brasileiro  
251 de Hipismo e suas implicações em um programa de transferência de embriões. **Revista**  
252 **Brasileira de Reprodução Animal**. v.26, p.252-4, 2002.
- 253 DAVIES MOREL M.C.G., O'SULLIVAN J.A.M. Ovulation rate and distribution in  
254 thoroughbred mare, as determined by ultrasonic scanning: the effect of age. **Animal**  
255 **Reproduction Science**. v.2119, p.1-12, 2001.

- 256 DAVIES MOREL, M. C.; NEWCOMBE, J.R.; REYNOLDS, N. Asynchronous ovulation in  
257 mares: seasonal variations in frequency. **Veterinary Record**, v.176, p.30, 2015.
- 258 DAVIES MOREL, M.C.G., NEWCOMBE, J.R. The efficacy of different hCG dose rates and  
259 the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy,  
260 multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. **Animal Reproduction  
261 Science** In Press, 2007.
- 262 DAVIES MOREL, M.C.G., NEWCOMBE, J.R., SWINDLEHURST, J.C. The effect of age  
263 on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the  
264 mare. **Theriogenology**. v.63, p.2482-2493, 2005.
- 265 DURANT, U.A., MARINO, F.C., LÖF H.C., AGUIAR, P.R.L., MALSCHITZKY, E.  
266 Desempenho reprodutivo de éguas crioulas submetidas a controle reprodutivo em diferentes  
267 sistemas de manejo. **Veterinária em Foco**. v.8, n.1, p.63-69, 2010.
- 268 FAZIO, E., MEDICA, P., CRAVANA, C., BRUSCHETTA, G., FERLAZZO A. Seasonal  
269 thyroid and lipid profiles in Thoroughbred pregnant and nonpregnant mares (*Equus caballus*).  
270 **Theriogenology**, v.85, 2016.
- 271 GASTAL B.L. et al. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during  
272 the oestrous cycle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p.376–385, 2008.
- 273 GINTHER O J: Relationships among number of days between multiple ovulations, number of  
274 embryos, and type of fixation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.7, p.82-88,  
275 1987.
- 276 GINTHER, O.J. Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and  
277 embryo attachment in mares. **Theriogenology**. v.20, p.383-395, 1983.
- 278 GINTHER, O. J. Reproductive Biology of the Mare. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin,  
279 1979, p. 135-137, 144-145, 227-228, 242- 245, 377.
- 280 GINTHER, O.J.; DOUGLAS, R.H.; LAWRENCE, J.R. Twinning in mares: A survey of  
281 veterinarians and analyses of theriogenology records. **Theriogenology**, v.18, p.333-347,  
282 1982.
- 283 GINTHER, O.J. Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and  
284 embryo attachment in mares. **Theriogenology**, v.20, p.383-395, 1983.
- 285 GOVOARE, J., HOOGEWJSL, M., DE SCHAUWER, C., VAN ZEVEREN, A., SMITS, K.,  
286 COMILLIE, P., KRUIF, A. An Abortion of Monozygotic Twins in a Warmblood Mare.  
287 **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p.852–854, 2009.

- 288 JEFFCOTT, L.B., WHITWELL, K.E. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the  
289 Thoroughbred mare. **Journal of Comparative Pathology**. v.83, p.91-106, 1973.
- 290 MARINO, F.C., DURANT, U.A., AGUIAR, P.R.L., MALSCHITZKY, E. Desempenho  
291 reprodutivo de éguas crioulas submetidas a controle reprodutivo ou monta a campo.  
292 **Veterinária em Foco**. v.8, n.1, p.54-62, 2010.
- 293 MCCUE, P.M., et al. Twin pregnancies following transfer of single embryos in three mares:  
294 A case report. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.18, p.832-834, 1998.
- 295 MERKT, H., JOCHLE, W. More twin pregnancies as season progresses. **Journal of Equine  
296 Veterinary Science**. v.19, p.536-539, 1999.
- 297 MORRIS L.H.A., ALLEN W.R. Reproductive efficiency of intensively managed  
298 Thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**. v.34, n.1, p.51-60, 2002.
- 299 PERKINS, N.R., GRIMMETT, J.B. Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares  
300 following administration of human chorionic gonadotropin (hCG). **The New Zealand  
301 Veterinary Journal**, v.49, p.94-100, 2001.
- 302 NEWCOMBE, J.R. Conception in a mare to a single mating 7 days before ovulation. **Equine  
303 Veterinary Education**, v.6, p.27-28, 1994.
- 304 PASTORELLO, M., GASTAL M. O., PIQUINI, G. K., GODOI, D.B., GASTAL, E.L. A  
305 Ovarian dynamics and gonadotropins during selection of the dominant follicle in postpartum  
306 lactating versus non-postpartum cycling mares. **Reproduction, Fertility and Development**,  
307 v.32, p.191-191, 2019.
- 308 SILVA, J.F., OCARINO N.M., SERAKIDES, R. Thyroid hormones and female reproduction.  
309 **Biology of Reproduction**, p.907-921, 2018.
- 310 SMITH, K.C., BLUNDEN A.S., WHITWELL K.E., DUNN, K.A., WALES, A.D. A survey  
311 of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. **Equine  
312 Veterinary Journal**, v.35, p.496-501, 2003.
- 313 SQUIRES, E.L. McCLAIN, M.G. GINTHER, O.J. McKINNON, A.O. Spontaneous multiple  
314 ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo collections.  
315 **Theriogenology**, v.28, p.609-613, 1987.
- 316 VERONESI, M.C. et al. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or  
317 ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. **Domestic Animal Endocrinology**,  
318 v.25, p.133-140, 2003.

- 319 WINTHER, G.H.Z., SILVA, C.A.M. Gestational length and first postpartum ovulation of  
320 Criollo mares on a stud farm in Southern Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science.**  
321 v.27, n.12, p.531–534, 2007.

### **3 Considerações Finais**

De modo geral, as GG em equinos serão oriundas de MOs. É fundamental conhecer alguns fatores maternos que influenciam na incidência de MOs, tendo em vista que pode variar de 2-43%. Éguas solteiras possuem maior incidência de GG quando comparadas com éguas lactantes e o uso de indutores pode influenciar a ocorrência de MO na presença de mais de um folículo pré-ovulatório.

É importante conhecer os fatores de risco para as GG para realizar o diagnóstico adequado ainda na fase de migração embrionária. Isso porque, nesta fase é possível realizar o esmagamento de uma das vesículas e obter resultados de manutenção da gestação similares a gestações simples. Caso o diagnóstico não seja realizado nesta fase, existem alguns métodos de intervenção mais complexos que são de maior risco para a gestação e para a égua, mas podem ser realizados por profissionais capacitados.

A incidência de GG em éguas Crioulas foi de 3.44%, sendo mais frequente em éguas solteiras e primíparas. Mesmo apresentando reduzida incidência quando comparada a outras raças, este estudo demonstra a importância do diagnóstico de gestação ainda na fase de migração embrionária (entre 12 e 15 dias) para evitar perdas econômicas oriundas das GG em éguas Crioulas.

Através deste estudo foi possível realizar uma revisão embasada sobre a importância das GG e demonstrar algumas características reprodutivas ainda não elucidadas na raça Crioula. A necessidade de conhecimento e compreensão destas é cada vez mais relevante, tendo em vista a valorização do cavalo Crioulo e intensificação do uso de biotécnicas reprodutivas na raça.

Durante o mestrado foi possível evoluir tanto na produção de textos científicos e quanto na rotina com medicina de equinos. A Universidade Federal de Pelotas e o grupo ClinEq tiveram grande importância na minha formação, seja durante a graduação ou mestrado, oportunizando aprendizados em diversas áreas que permitem meu crescimento pessoal e profissional. Os professores e colegas durante esta etapa foram grandes incentivadores e fundamentais para minhas escolhas.

## Referências

ALLEN, W.R., BROWN, L., WRIGHT, M., WILSHER, S. Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. **Equine Veterinary Journal**, v.39, p.438-445, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos, 2019. Pelotas: História da Raça Crioula, 2019. Disponível em: <http://www.cavalocrioulo.org.br/studbook/historia> (Acesso online 5 de setembro 2019).

BALL, B. A., SCHLAFER, D. H., CARD, C. E. & YEAGER, A. E. Partial re- establishment of villous placentation after reduction of an equine co-twin by fetal cardiac puncture. **Equine Veterinary Journal**. v.25, p.336–338, 1993.

BRACHER, V. PARLEVLIET, J.M., PIETERSE, M.C., VOS, P.L., WIEMER P., TAVERNE, M.A., COLENBRANDER B. Transvaginal ultrasound-guided twin reduction in the mare. **Veterinary Records**. v.133, p.478-479, 1993.

CAMARGO, C.E., WEISS, R.R., KOZICKIL, L.E., DUARTE, M.P., DUARTE, M.C.G., BERTOL, M.A.F., GAIEVSKI, R.F., BASTOS, G.M. Aspectos relacionados com a recuperação embrionária em éguas da raça Brasileiro de hipismo, utilizadas em programa comercial de transferência de embrião. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n.4, p.74-83, 2013.

CARMO M.T., et al. Estudo da incidência de múltiplas ovulações em éguas da raça Brasileiro de Hipismo e suas implicações em um programa de transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.26, p.252-4, 2002.

COMILLIE, P., KRUIF, A. An Abortion of Monozygotic Twins in a Warmblood Mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p.852–854, 2009.

CUERVO-ARANGO J., NEWCOMBE JR. Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. **Theriogenology**, v.69, p.681-687, 2008.

DAVIES MOREL, M. C.; NEWCOMBE, J.R.; REYNOLDS, N. Asynchronous ovulation in mares: seasonal variations in frequency. **Veterinary Record**, v.176, p.30, 2015.

DESKUR, S. Twinning in Thoroughbred mares in Poland. **Theriogenology**, v.23, p.711-718, 1985.

DAVIES MOREL, M.C.G., NEWCOMBE, J.R., SWINDLEHURST, J.C. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. **Theriogenology**. v.63, p.2482-2493, 2005.

DAVIES MOREL, M.C.G., NEWCOMBE, J.R. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. **Animal Reproduction Science** In Press, 2007.

DAVIES MOREL M.C.G., O’SULLIVAN J.A.M. Ovulation rate and distribution in thoroughbred mare, as determined by ultrasonic scanning: the effect of age. **Animal Reproduction Science**. v.2119, p.1–12, 2001.

DURANT, U.A., MARINO, F.C., LÖF H.C., AGUIAR, P.R.L., MALSCHITZKY, E. Desempenho reprodutivo de éguas crioulas submetidas a controle reprodutivo em diferentes sistemas de manejo. **Veterinária em Foco**. v.8, n.1, p.63-69, 2010.

FAZIO, E., MEDICA, P., CRAVANA, C., BRUSCHETTA, G., FERLAZZO A. Seasonal thyroid and lipid profiles in Thoroughbred pregnant and nonpregnant mares (*Equus caballus*). **Theriogenology**, v.85, 2016.

GASTAL B.L. et al. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during the oestrous cycle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p.376–385, 2008.  
GINTHER, O.J. Maternal aspects of pregnancy. In: **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**, Ed: O.J. Ginther, Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, p. 291-344, 1992.

GINTHER, O.J. Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and embryo attachment in mares. **Theriogenology**, v.20, p.383-395, 1983.

GINTHER, O. J. Equine Pregnancy: Physical Interactions Between the Uterus and Conceptus. In: Proceedings of **The American Association of Equine Practitioners Annual Congress** v.44, p.73–104, 1998.

GINTHER, O.J., DOUGLAS, R.H., LAWRENCE, J.R. Twinning in mares: A survey of veterinarians and analyses of theriogenology records. **Theriogenology**, v.18, p.333-347, 1982.

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

GINTHER, O.J. Post-fixation embryo reduction in unilateral and bilateral twins in mares. **Theriogenology**. v.22, p.213-223, 1984.

GINTHER, O. J. Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos, and type of fixation in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.7, p.82-88, 1987.

GINTHER, O. J. Reproductive Biology of the Mare. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, 1979, p. 135-137, 144-145, 227-228, 242- 245, 377.

GINTHER, OJ. Twin embryos in mares I: from ovulation to fixation. **Equine Veterinary Journal**, v.21, p.166–170, 1989.

GOVOARE, J., HOOGEWJSL, M., DE SCHAUWER, C., VAN ZEVEREN, A., SMITS, K., HODDER, D.J., LIU, I.K.M., BALL, B.A. Current methods for the diagnosis and management of twin pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Education**. v.20, n.9, p.493-502, 2008.

HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, p.513, 2004.

HENRY, M.R.J.M. *Some Special Aspects of the Physiopathology of Reproduction in Mares*. 1981. Tese (Doutorado) - Universidade de Ghent, Bélgica, 1981.

JEFFCOTT, L.B., WHITWELL, K.E. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. **Journal of Comparative Pathology**. v.83, p.91-106, 1973.

LOSINNO, L., AGUILAR, J., LISA, H. Impact of multiple ovulations in a commercial equine embryo transfer programme. **Havemeyer Foundation Monograph Series**, v.3, p.81-83, 2000.

MACPHERSON, M.L., REIMER, J.M. Twin reduction in the mare: current options. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.233-244, 2000.

MARINO, F.C., DURANT, U.A., AGUIAR, P.R.L., MALSCHITZKY, E. Desempenho reprodutivo de éguas crioulas submetidas a controle reprodutivo ou monta a campo. **Veterinária em Foco**. v.8, n.1, p.54-62, 2010.

MERKT, H., JOCHLE, W. More twin pregnancies as season progresses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.19, p.536-539, 1999.

MCCUE, P.M., et al. Twin pregnancies following transfer of single embryos in three mares: A case report. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.18, p.832-834, 1998.

MCKINNON, A. O. Management of twins. In **Equine Reproduction**. 2nd Edn. Eds A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala and D. D. Varner. Wiley-Blackwell. p. 2099–2117, 2011.

MCKINNON, A.O., RANTANEN, N.W. Twins. In: **Equine Diagnostic Ultrasonography**, Eds: N.W. Rantanen and A.O. McKinnon, Williams and Wilkins, Baltimore. p.141-156, 1998.

MCKINNON, A.O. Twin reduction techniques. In: **Current Therapy in Equine Reproduction**, Ed: J.C. Samper, J.F. Pycock and A.O. McKinnon, Saunders, St. Louis. p.357-373, 2007.

MCKINNON, A.O. Reproductive efficiency of horses in Australia.  
[http://www.gvequine.com.au/breeding\\_efficiency.htm](http://www.gvequine.com.au/breeding_efficiency.htm). 2000.

MORRIS L.H.A., ALLEN W.R. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**. v.34, n.1, p.51-60, 2002.

NAGAO, J.F. NEVES NETO, J.R., PAPA, F.O., ALVARENGA, M.A.A, FREITAS-DELL'AQUA, C.P., DELL'AQUA, J.A. Induction of double ovulation in mares using deslorelin acetate. **Animal Reproduction Science**, v.136, p.69-73, 2012.

NEWCOMBE, J.R. Conception in a mare to a single mating 7 days before ovulation. **Equine Veterinary Education**, v.6, p.27-28, 1994.

NEWCOMBE, J.R. The incidence of ovulation during the luteal phase from day 4 to day 20 in pregnant and non pregnant mares. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.17, n.3, p. 120-122, 1997.

PASCOE, D.R., et al. Management of twin conceptuses by manual embryonic reduction: Comparison of two techniques and three hormone treatments. **American Journal of Veterinary Research**. v.48, p.1594-1599, 1987.

PASTORELLO, M., GASTAL M. O., PIQUINI, G. K., GODOI, D.B., GASTAL, E.L. AOvarian dynamics and gonadotropins during selection of the dominant follicle in postpartum lactating versus non-postpartum cycling mares. **Reproduction, Fertility and Development**, v.32, p.191-191, 2019.

PERKINS, N.R., GRIMMETT, J.B. Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares following administration of human chorionic gonadotropin (hCG). **The New Zealand Veterinary Journal**, v.49, p.94-100, 2001.

ROBERTS, C.J. Termination of twin gestation by blastocyst crush in the broodmare. **Journal of Reproduction and Fertility**. S32, p.447-449, 1982.

SCHNOBIRCH, M.R., RIDDLE, W.T., STROMBERG, A.J., LEBLANC, M.M. Factors affecting live foal rates of Thoroughbred mares that undergo manual twin elimination. **Equine Veterinary Journal**. v.45, p.676–680, 2013.

SHEERIN, P.C., HOWARD, C.E., LEBLANC, M.M., STROMBERG, A. J. Effects of operator, treatment and mare age on the live foal rate of mares after manual twin reduction. **Animal Reproduction Science**. v. 121, p.312–313, 2010.

SILVA, J.F., OCARINO N.M., SERAKIDES, R. Thyroid hormones and female reproduction. **Biology of Reproduction**, p.907-921, 2018.

SMITH, K.C., BLUNDEN A.S., WHITWELL K.E., DUNN, K.A., WALES, A.D. A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. **Equine Veterinary Journal**, v.35, p.496-501, 2003.

SQUIRES, E.L. McCLAIN, M.G. GINTHER, O.J. McKINNON, A.O. Spontaneous multiple ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo collections. **Theriogenology**, v.28, p.609-613, 1987.

VERONESI, M.C. et al. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. **Domestic Animal Endocrinology**, v.25, p.133-140, 2003.

WENDT, C. G., SANTOS, I.P.O., MOUSQUER, M.A., TORRES, A.J., CURCIO, B.R., NOGUEIRA, C.E.W. Gestação Gemelar em éguas da Raça Crioula-Dados Preliminares. In: II Congresso REPROLAB de Reprodução Equina, 2019, Porto Alegre. **Anais do II Congresso Reprolab de Reprodução Equina**, p. 95-95, 2019.

WINTHER, G.H.Z., SILVA, C.A.M. Gestational length and first postpartum ovulation of Criollo mares on a stud farm in Southern Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.27, n.12, p.531–534, 2007.

WOLFSDORF, K.E., RODGERSON, D. HOLDER, R. How to manually reduce twins between 60 and 120 days gestation using craniocervical dislocation. **Proc. Am. Ass. equine Practnrs**. v.51, p.284-287, 2005.

WOODS, G., GINTHER, O. Induction of multiple ovulations during the ovulatory season in

## **Anexos**



Pelotas, 10 de dezembro de 2015

**De:** M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

*Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEE A)*

**Para:** Prof. Carlos Eduardo Wayne Nogueira

*Departamento de Clínicas Veterinárias – Faculdade de Veterinária*

Senhor Professor:

A *CEE A* analisou o projeto intitulado: “**Acompanhamento gestacional, obstétrico e neonatal na raça Crioula**”, processo nº23110.008245/2015-28, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, pois está de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

**Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEE A.**

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao *COBALTO* para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEE A 8245-2015**).

Vigência do Projeto: 01/02/2016 a 31/12/2020

Espécie/Linhagem: Equina/Crioula

Nº de animais: 694

Idade: 347 de 10-15 anos e 347 de 0-2 anos

Sexo: Machos e Fêmeas

Origem: Propriedades produtoras de Cavalos Crioulos da região Sul do Brasil

**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**

*Presidente da CEE A*

Assinatura do Professor Responsável: \_\_\_\_\_

Ciente em: 10/12/2015