

ANÁLISE COMPARATIVA DA EFICÁCIA DOS TESTES DA BUFO-REAÇÃO, DA HIPEREMIA OVARIANA E DO AUMENTO DE PESO DOS OVÁRIOS EM CAMUNDONGAS IMATURAS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA GESTAÇÃO EM ÉGUAS (*Equus caballus* L.) COBERTAS POR JUMENTOS (*Equus asinus* L.)

MARIA ALICE ROSTON DE MELLO
Pós-Graduada
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

OZIEL BIZUTTI
Professor Adjunto
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

FRANCISCO RAUL ABBOTT PERDIGÃO DE OLIVEIRA
Médico Veterinário
Instituto de Zootecnia da Secretaria de
Agricultura do Estado de São Paulo

JOSÉ FELIPE SOUZA LEÃO
Médico Veterinário
Instituto de Zootecnia da Secretaria de
Agricultura do Estado de São Paulo

MELLO, M.A.R.; BIZUTTI, O.; OLIVEIRA, F.R.A.P.; LEÃO, J.F.S. Análise comparativa da eficácia dos testes da bufo-reação, da hiperemia ovariana e do aumento de peso dos ovários em camundongas imaturas no diagnóstico precoce da gestação em éguas (*Equus caballus* L.) cobertas por jumentos (*Equus asinus* L.). *Rev.Fac.Med.vet.Zootec.Univ.S.Paulo*, 22(2): 135-40, 1985.

RESUMO: Foram descritos os resultados da análise comparativa de eficácia dos testes da bufo-reação, da hiperemia ovariana e do aumento de peso dos ovários em camundongas imaturas, no diagnóstico precoce da gestação em éguas cobertas por jumentos. Com o soro colhido de 34 éguas entre o 30^o e 114^o dia após o último salto, foram realizadas 94 bufo-reações, 102 testes de hiperemia ovariana e 55 testes de aumento de peso dos ovários em camundongas imaturas. Com os testes da bufo-reação foram obtidos resultados exclusivamente negativos. Das 94 provas realizadas, 13 foram concordantes com o estado clínico da fêmea (vazias) e 81 foram discordantes (reações falso-negativas). Das 102 provas de hiperemia ovariana realizadas, 21 foram concordantes (8 positivas e 13 negativas) e 81 discordantes (todas falso-negativas). Por outro lado, o teste do aumento de peso dos ovários foi o que mostrou o menor número de resultados discordantes: 8 resultados falso-negativos com amostras de soro colhidas nos 30^o; 31^o; 31^o; 31^o; 33^o; 89^o; 107^o e 110^o dias após a cobertura e 3 resultados falso-positivos, obtidos com amostras provenientes de uma mesma égua, retiradas nos dias 58^o; 74^o e

110^o após o último salto. A análise pelo método dos riscos relativos revelou que a capacidade do teste da bufo-reação em fornecer resultados concordantes é, com 95% de probabilidade, apenas 0,227 (no mínimo 0,117; no máximo 0,442) vezes a capacidade dos testes de aumento de peso dos ovários e hiperemia ovariana enquanto que a capacidade do teste de hiperemia ovariana é de 0,418 (no mínimo 0,234; no máximo 0,749) vezes a capacidade dos testes de aumento de peso dos ovários e bufo-reação em fornecer resultados concordantes com o estado clínico do animal. A análise pelo método dos riscos relativos revelou, ainda, que o teste do aumento de peso dos ovários é um parâmetro 19,06 (no mínimo 8,933; no máximo 40,636) vezes mais eficiente que os testes de hiperemia ovariana e bufo-reação para o diagnóstico precoce da prenhez na égua coberta por jumento.

UNITERMOS: Prenhez, diagnóstico⁺; teste da bufo-reação; Hiperemia ovariana; Teste do aumento de peso dos ovários; Cruzamentos⁺; Éguas; Jumentos

INTRODUÇÃO

COLE & HART⁸ encontraram uma gonadotrofina no soro de égua, em altas concentrações, durante certo período da prenhez. A atividade gonadotrófica do soro sanguíneo tinha início aproximadamente dentro do 37^o ao 42^o dia após a cobertura fértil, atingia o máximo entre o 43^o e o 80^o dia, para então diminuir gradualmente e desaparecer por volta do 180^o dia.

Os teores de gonadotrofina quer oriunda de égua, quer de jumenta, alteram-se por vários fatores, dentre eles quando a fêmea é submetida a cruzamentos interespecíficos. Este fenômeno foi demonstrado por vários autores que estudaram as taxas hormonais produzidas em diversos cruzamentos interespecíficos.

BIELANSKI et alii^{2,3}, utilizando a técnica da bufo-reação, não conseguiram detectar nenhuma atividade hormonal no soro de éguas cobertas por jumentos, entre o 12^o e o 130^o dia da gestação, embora as mesmas tivessem dado resultados positivos do 47^o ao 106^o dia da prenhez, quando cobertas por garanhão.

VITTOZ¹⁴ estudou, através da reação de Friedman, 30 éguas cobertas por jumento, 36 das quais (72%) estavam prenhes. A reação de Friedman foi realizada utilizando-se soro colhido do 57^o ao 72^o dia após o último salto. O resultado foi positivo em apenas 21 éguas, em média 65 dias após a última cobertura. Foi negativa nas outras 15 éguas que se revelaram realmente gestantes e deram cria na data prevista, o que exclui erro a respeito da data de cobertura. Assim sendo, a porcentagem de erro obtida foi de 42%. O autor conclui que o referido teste tem valor prático apenas nos casos de resultados positivos.

CALISTI & OLIVA⁶ encontraram respostas sempre negativas frente ao teste de Friedman, em cerca de 40 éguas servidas por jumentos entre 55 e 130 dias de gestação.

CLEGG et alii⁷, utilizando o método do aumento de peso dos ovários, determinaram a concentração do hormônio gonadotrófico sérico em éguas cobertas por jumento e por garanhão. No cruzamento interespecífico a concentra-

ção hormonal foi igual a aproximadamente 1/10 da obtida quando as éguas foram cruzadas com garanhão.

Os autores também encontraram pequenas quantidades de hormônio nos cálices endometriais de uma égua servida por jumento e sacrificada no 69º dia da gestação. Admitiram, pois, que o genótipo do feto tinha influído na atividade secretora dos cálices.

PIGONIOWA¹¹ observou que a época do aparecimento da gonadotrofina sérica em éguas cobertas por jumentos é a mesma que em éguas servidas por garanhão, ocorrendo o pico de concentração entre o 55º e o 60º dia na maioria das fêmeas estudadas. A época do desaparecimento do hormônio em éguas cobertas por jumento foi, em geral, a mesma que de éguas cobertas por garanhão: 110º e 111º dias de gestação.

Destaca, ainda, que a principal diferença entre as éguas cobertas por jumento e as cobertas por garanhão, foi a concentração da gonadotrofina no sangue, que foi muito mais baixa nas primeiras (2,5 a 20 UI/ml) do que nas últimas (56 a 112 UI/ml).

BIZUTTI⁷ estudou soro de 16 éguas cruzadas com jumento, colhido entre o 39º e 97º dia após o salto, realizando 34 bufo-reações e 34 testes de hiperemia ovariana em ratas imaturas, para um total de 20 diagnósticos.

Todas as provas da bufo-reação mostraram exclusivamente respostas negativas, 15 das quais discordantes (falso-negativas). Quanto ao teste da hiperemia ovariana, dos 20 diagnósticos, nas 16 éguas sob experiência, com as 34 provas, houve apenas um único resultado positivo, comprovado posteriormente pelo parto e 7 resultados falso-negativos de um total de 19, referentes a amostras de soro colhidas em duas variáveis da gestação dos 7 animais. Assim sendo, o autor obteve resultados concordantes em 56% dos casos com a bufo-reação e em 65% dos casos com o teste da hiperemia, provando a ineficiência de ambos os testes para o diagnóstico da gestação.

ALLEN¹ verificou que existe uma influência do genótipo do feto sobre a atividade secretora das "cups" endometriais, responsáveis pela produção da PMSG, isto porque nos diferentes tipos de cruzamentos por ele estudados, existe um nível de gonadotrofina em ordem crescente da seguinte maneira: égua coberta por jumento < jumenta coberta por jumento < égua coberta por garanhão < jumenta coberta por garanhão.

STEWART et alii¹² estudaram as relações entre as atividades FSH e LH nas gonadotrofinas produzidas por fêmeas submetidas a diferentes tipos de cruzamentos.

Na gonadotrofina produzida por égua cruzada com garanhão a razão FSH: LH foi próxima à unidade, enquanto que a mesma para a jumenta coberta por jumento foi de 0,2. A razão FSH: LH na gonadotrofina oriunda no caso de fetos híbridos estava entre estes 2 valores (ao redor de 0,6).

BIZUTTI⁵, utilizando o método do aumento de peso dos ovários para a determinação da concentração de gonadotrofina presente no soro de éguas cobertas por garanhão, jumentas cobertas por jumentos e éguas cobertas por ju-

mentos, sugere que este método permite o diagnóstico precoce da gestação em fêmeas submetidas aos 3 tipos de cruzamento, considerando-o particularmente indicado para o caso da égua coberta por jumento.

MATERIAL E MÉTODOS

Com amostras de soro obtidas entre 30º e 114º dias do acasalamento de 34 éguas cobertas por jumento, foram realizadas: 94 bufo-reações, 102 testes de hiperemia ovariana e 55 testes de aumento de peso dos ovários em camundongas imaturas.

As provas foram desenvolvidas segundo as técnicas preconizadas em TABARELLI NETO et alii¹³, BIZUTTI^{4,5}.

As contra provas dos resultados obtidos foram efetuadas pelo parto ou sua ausência, pela volta do estro e pelo aborto.

– ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A comparação dos pesos dos ovários dos animais experimentais com os pesos dos ovários dos animais controles foi realizada utilizando-se o teste t para a comparação de duas médias (COSTA NETO⁹).

A análise dos resultados obtidos com os diferentes métodos de diagnóstico foi realizada segundo dois procedimentos: empregando-se o teste do qui-quadrado para tabelas multidimensionais, para a verificação do grau de associação entre as variáveis: teste empregado, resultado obtido e defecho; e o método dos riscos relativos para a comparação da eficiência dos métodos em questão (EVERITT¹⁰).

RESULTADOS

Os resultados dos testes de bufo-reação, hiperemia ovariana e aumento de peso dos ovários em camundongas imaturas, realizados com soros provenientes das 34 éguas cobertas por jumentos, encontram-se na Tab. 1.

A bufo-reação apresentou resultados sempre negativos, 81 dos quais discordantes. Com a prova de hiperemia ovariana foram obtidas apenas 21 respostas concordantes com o estado clínico do animal.

O teste do aumento de peso dos ovários foi o que mostrou um menor número de resultados discordantes: 8 resultados falso-negativos com amostras colhidas nos 30º; 31º; 31º; 31º; 33º; 89º; 107º e 110º dias de gestação e 3 resultados falso-positivos com amostras provenientes de uma mesma égua, retiradas nos 58º; 74º e 110º dias após o último salto.

A Tab. 2 mostra resultados da análise dos dados da Tab. 1 pelo método do qui-quadrado para tabelas multidimensionais.

A Tab. 3 mostra os resultados da análise pelo método dos riscos relativos dos dados contidos na Tab. 1.

TABELA 1 – Resultados obtidos com os testes de bufo-reação, hiperemia ovariana e aumento de peso dos ovários, efetuados em soro de 34 éguas cobertas por jumento, São Paulo, 1982.

Teste	Desfecho	Concordante		Discordante		Total
	Resultado	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	
Bufo-reação		0	13	0	81	94
Hiperemia ovariana		8	13	0	81	102
Aumento de peso dos ovários		43	1	3	8	55
Total		51	27	3	170	251

TABELA 2 – Resultados da análise dos dados da Tabela 1 pelo método do qui-quadrado para tabelas multidimensionais, São Paulo, 1982.

TESTES DE “ASSOCIAÇÃO GERAL”

Existe associação significativa entre as variáveis estudadas (TESTE EMPREGADO – bufo-reação, hiperemia ovariana ou aumento de peso dos ovários –, RESULTADO – positivo ou negativo –, e DESFECHO – concordante ou discordante –) ao nível de 5%. (X^2 calc. = 522,92; X^2 7: 5% = 14,07).

TESTES DE “ASSOCIAÇÃO PARCIAL”

A associação entre o DESFECHO e o TESTE EMPREGADO é dependente do RESULTADO OBTIDO ao nível de 5%. (X^2 calc. = 173,74; X^2 5: 5% = 11,07).

A associação entre o RESULTADO OBTIDO e o TESTE EMPREGADO é dependente do DESFECHO ao nível de 5%. (X^2 calc. = 26,67; X^2 5: 5% = 11,07).

A associação entre o DESFECHO e o RESULTADO OBTIDO é dependente do TESTE EMPREGADO ao nível de 5%. (X^2 calc. = 163,61; X^2 5: 5% = 11,07).

TABELA 3 — Resultados da análise pelo método dos riscos relativos dos resultados contidos na Tabela 2, São Paulo, 1982.

Teste	Eficiência relativa	Intervalo de confiança para $\alpha = 0,05$
Bufo-reação	0,227	0,117 — 0,442
Hiperemia ovariana	0,418	0,234 — 0,749
Aumento de peso dos ovários	19,06	8,933 — 40,636

DISCUSSÃO

Os dados disponíveis na literatura, referentes ao emprego de métodos laboratoriais no diagnóstico precoce da gestação da égua coberta por jumento, são escassos e a maioria indicando a ineficiência da metodologia empregada (VITTOZ¹⁴; CALISTI & OLIVA⁶; BIZUTTI⁴).

Por outro lado, os soros testados eram provenientes de éguas cobertas por jumento, onde as taxas séricas de gonadotrofina são baixas (BIELANSKY^{2,3}; CLEGG et alii⁷; PIGONIOWA¹¹; ALLEN¹; BIZUTTI⁵).

Os resultados totalmente negativos, conseguidos com a bufo-reação e apresentados na Tab. 1, confirmam os achados de BIELANSKY et alii^{2,3} e BIZUTTI^{4,5}, embora os testes tenham sido realizados em períodos onde os níveis de gonadotrofina são elevados.

O grande número de resultados discordantes (81 em 102 provas executadas) obtido com o teste da hiperemia ovariana (Tab. 1) contra apenas 8 resultados concordantes, todos negativos, concordam com os dados apresentados por BIZUTTI⁴.

Ainda a observação da Tab. 1 sugere a maior sensibilidade do teste do aumento de peso dos ovários. Com este método foram obtidos apenas 11 resultados discordantes do estado clínico do animal, com as 55 provas realizadas.

A sensibilidade do método do aumento de peso dos ovários já havia sido ressaltada anteriormente por CLEGG et alii⁷ e por BIZUTTI⁵ que, empregando esta metodologia, conseguiram demonstrar concentrações pequenas de gonadotrofina no soro de éguas cobertas por jumento.

Uma análise formal dos dados da Tab. 1 foi realizada empregando-se o método do qui-quadrado para tabelas multidimensionais, a fim de verificar a existência de dependência entre as variáveis nela apresentadas (teste empregado, resultado e desfecho) e risco relativo para a comparação da

eficiência dos diversos testes.

O teste do qui-quadrado (Tab. 2) revelou uma forte associação geral entre os dados da Tab. 1 e também a existência da associação parcial em todos os níveis estudados.

A seguir, procurou-se estudar com mais detalhes a relação do teste empregado e a capacidade em prover resultados concordantes com a condição clínica da fêmea, uma vez que as demais relações apresentam um menor interesse e exigiriam outro esquema experimental.

A análise pelo método dos riscos relativos, cujos resultados encontram-se sumariados na Tab. 3, revelou que a capacidade do teste da bufo-reação em apresentar resultados concordantes é, com 95% de probabilidade, apenas 0,227 (no mínimo 0,117; no máximo 0,442) vezes a capacidade dos testes de aumento de peso dos ovários e hiperemia ovariana, enquanto que a capacidade do teste da hiperemia ovariana é de 0,418 (no mínimo 0,234; no máximo 0,749) vezes a capacidade do teste do aumento de peso dos ovários e da bufo-reação em fornecer resultados concordantes com o estado clínico do animal.

Estes resultados indicam a ineficiência de ambos os testes como provas no diagnóstico precoce de gestação de éguas servidas por jumentos, o que confirma plenamente os resultados obtidos por BIZUTTI⁴.

A análise pelo método dos riscos relativos (Tab. 3) revelou, ainda, que o teste do aumento de peso dos ovários é um parâmetro 19,06 (no mínimo 8,933; no máximo 40,636) vezes mais eficiente do que os testes de hiperemia ovariana e bufo-reação para o diagnóstico da prenhez na égua coberta por jumento.

Estes resultados vêm confirmar a sugestão apresentada por BIZUTTI⁵ de que o método do aumento de peso dos ovários permite o diagnóstico precoce de gestação em equinos, sendo particularmente indicado no caso da égua servida por jumento.

Dos resultados falso-negativos obtidos com o emprego deste teste, 5 foram conseguidos com amostras de soro colhidas por volta do 31^o dia de gestação, período no qual não é ainda possível a detecção de gonadotrofina no soro e 2 em soros colhidos tardiamente, após o 100^o dia, período em que os níveis da gonadotrofina sérica se encontram em declínio.

Obteve-se também um resultado falso-negativo com 89 dias de gestação.

Quanto aos resultados falso-positivos, como todos foram obtidos a partir de amostras de soro provenientes de uma mesma égua, nos 58^o, 74^o e 110^o dias após o último salto, o mais provável é que tenha ocorrido um aborto não registrado.

A ineficiência dos testes de hiperemia ovariana e bufo-reação na detecção precoce da prenhez em éguas portadoras de fetos híbridos poderia relacionar-se a: diferença na concentração e diferença na estrutura e composição da gonadotrofina produzida nestas condições em relação àquela produzida pela égua coberta por garanhão.

Quanto ao primeiro fator, BIELANSKY et alii^{2,3}; PIGONOWA¹¹; CLEGG et alii⁷; ALLEN¹; BIZUTTI⁵ já comprovaram que as taxas de gonadotrofina são inferiores àquelas encontradas no soro de éguas cobertas por garanhão.

Este poderia ser o motivo pelo qual os testes da bufo-reação e hiperemia ovariana mostram-se eficientes para o diagnóstico precoce da gestação na égua coberta por garanhão e ineficientes no caso da égua servida por jumento. Na égua servida por jumento, os valores da taxa hormonal atingiram valores aquém do limiar para promover a liberação de espermatozoides no sapo e alterações no aspecto dos ovários de camunhoas imaturas.

Entretanto, BIZUTTI⁵ obteve bufo-reação negativa mesmo injetando sapos com soros contendo altas concentrações de gonadotrofina de égua coberta por jumento.

Isto indica que talvez a concentração do hormônio não seja o fator limitante, mas sim a diferença na razão FSH:LH existente na gonadotrofina produzida pela égua nestas condições (STEWART et alii¹²).

A existência de diferença na composição das gonadotrofinas produzidas pela égua, quando cruzada com machos de espécies diferentes, não pode deixar de ser levada em consideração no que diz respeito à eficiência de métodos biológicos como meio de detecção precoce da gestação, visto que nestas provas os resultados dependem mais de uma resposta LH ou mais de uma resposta FSH.

CLEGG et alii⁷ e BIZUTTI⁵ sugeriram o método do aumento de peso dos ovários para o diagnóstico da gestação na égua servida por jumento, devido à sensibilidade do método, o que possivelmente seria devido à existência de uma razão FSH:LH inferior à unidade na gonadotrofina produzida pela égua coberta por jumento, embora essa razão não seja tão baixa como naquela produzida pela jumenta coberta por jumento (STEWART et alii¹²).

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos através do método dos riscos relativos, com 95% de probabilidade, pode-se concluir:

- a capacidade do teste da bufo-reação em apresentar resultados concordantes com o estado clínico do animal é apenas 0,227 (no mínimo 0,117; no máximo 0,442) vezes a capacidade dos métodos de aumento de peso dos ovários e hiperemia ovariana;
- a capacidade do teste da hiperemia ovariana em apresentar resultados concordantes com o estado clínico do animal é apenas de 0,418 (no mínimo 0,234; no máximo 0,749) vezes a capacidade dos testes de aumento de peso dos ovários e bufo-reação;
- a capacidade do teste do aumento de peso dos ovários em apresentar resultados concordantes com o estado clínico do animal é 19,06 (no mínimo 8,933; no máximo 40,636) vezes a capacidade dos testes de hiperemia ovariana e bufo-reação.

MELLO, M.A.R.; BIZUTTI, O.; OLIVEIRA, F.R.A.P.; LEÃO, J.F.S. Comparative analysis among efficiency of the male toad test, the ovarian hyperemia test and the augmentation of ovaries weight test in immature mice to precocious diagnosis of pregnancy in mares bred to a jack. *Rev.Fac.Med.vet.Zootec. Univ.S.Paulo*, 22(2):135-40, 1985.

SUMMARY: The following test was carried out with the blood serum samples drawn of 34 mares (between 30 and 114 days after the date of the last breeding): 94 male toad tests, 102 ovarian hyperemia tests and 55 augmentation of ovaries weight tests using immature mouse. Only negative results were obtained with the male toad tests; thus of 94 tests, 13 were in agreement with the clinical state of the animal (not pregnant) and 81 were not in agreement (false-negative reactions). Concerning the 102 ovarian hyperemia tests the results were: 21 in agreement (8 positives and 13 negatives) and 81 not in agreement (false-negative reactions) with the animals state. Finally of the 55 augmentation of ovaries weight tests a smaller number of false results was obtained: 8 false-negative results with blood serum samples obtained respectively in the 30th, 31st, 31st, 31st, 33rd, 89th, 107th days following the last breeding and 3 false-positive results with blood serum samples obtained in the 58th, 74th and 110th days after the last breeding; all samples belonged to the same mare. The statistical analysis of the results (Relative Risks Method) demonstrated that the capacity of the male toad test in providing results in agreement is, with 95% of probability hardly 0.227 (minimum 0.117 and maximum 0.442) times the capacity of the ovarian hyperemia and the augmentation of ovaries weight tests, while the capacity of the ovarian hyperemia test is 0.418 (minimum 0.234 and maximum 0.749) times the capacity of the augmentation of ovaries weight and the male toad tests in supply results in agreement with the clinical state of the animal. Finally, the augmentation of ovaries weight test is a parameter, 19.06 (minimum 8.933 maximum 40.636) times more efficient than the ovarian hyperemia and the male toad tests, for precocious diagnosis of pregnancy in the mare bred to a jack.

UNITERMS: Pregnancy diagnosis⁺; Male toad test; Ovarian hyperemia; Augmentation of ovaries weight; Breeding⁺; Mares; Jacks

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALLEN, W.R. Factors influencing pregnant mare serum gonadotrophin production. *Nature*, London, 223:64-6, 1969.
- 2- BIELANSKY, W.; EWY, Z.; PIGONIOWA, H. Differences in endocrine secretion of mares pregnant with stallion or jack. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 3:37-9, 1955.
- 3- BIELANSKY, W.; EWY, Z.; PIGONIOWA, H. Differences in the level of gonadotrophins in the serum of pregnant mares. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ANIMAL REPRODUCTION, 3., Cambridge, 1956. Papers Sect. 1 p. 110-7 apud *Anim. Breed. Abstr.*, 24:332, 1956.
- 4- BIZUTTI, O. Emprego da bufo-reação e da hiperemia ovariana no diagnóstico da prenhez na jumenta e na égua coberta por jumento. São Paulo, 1967. /Tese de mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária da USP/.
- 5- BIZUTTI, O. Contribuição ao estudo comparativo das características biológicas da gonadotrofina da égua (*Equus caballus* L.), da jumenta (*Equus asinus* L.) e da égua quando coberta por jumento. São Paulo, 1978. /Tese de livre docência, Instituto de Ciências Biomédicas da USP/.
- 6- CALISTI, V. & OLIVA, O. La reazione di Friedman nella cavalla e nell'asina gravide per accoppiamento interespecifico. *Clin. Vet.*, Milano, 80:65-9, 1957.
- 7- CLEGG, M.T.; COLE, H.H.; HOWARD, C.B.; PIGON, H. The influence of foetal genotype on equine gonadotrophin secretion. *J. Endocrinol.*, 25: 245-8, 1962.
- 8- COLE, H.H. & HART, G.H. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Amer. J. Physiol.*, 93:57-68, 1930.
- 9- COSTA NETO, P.L.O. Estatística. São Paulo, Edgard Blucher, 1977.
- 10- EVERITT, B.S. Analysis of contingency tables. New York, John Wiley, 1977.
- 11- PIGONIOWA, H. Investigations on the secretion of gonadotrophic hormones in pregnant mares. *Med. Wet.*, 18:361-3, 1962 apud *Anim. Breed. Abstr.*, 31:314, 1963.
- 12- STEWART, F.; ALLEN, W.R.; MOOR, R.M. Influence of foetal genotype on Follicle Stimulating Hormone: luteinizing hormone ratio of pregnant mare serum gonadotrophin. *J. Endocrinol.*, 73:419-25, 1977.
- 13- TABARELLI NETO, J.F.; REINER, U.R.; LIMA, F.S.P.; BIZUTTI, O. Bufo-reação no diagnóstico precoce da prenhez na égua Puro Sangue Inglês - Resultados do seu emprego durante quinze estações de monta. *Rev. Fac. Méd. vet.*, São Paulo, 7:43-62, 1963-64.
- 14- VITTOZ, J. Diagnostic de la gestation chez les juments. Valeur de la réaction de Friedman et de la réaction du Cuboni. *Rec. Med. Vet.*, 131: 1111-2, 1955.

Recebido para publicação em: 10/10/84
Aprovado para publicação em: 22/05/85