

RAÇA SORRAIA

PRIMEIRO NASCIMENTO MUNDIAL POR TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA

Nas últimas décadas temos assistido a um enorme incremento de novas tecnologias reprodutivas na produção equina, sendo a transferência de embriões (TE) um procedimento que se tem tornado cada vez mais comum nesta espécie.

PAULA AZEVEDO¹ANTÓNIO VICENTE^{1,3}NUNO MARQUES¹FILIPE RIBEIRO²MIGUEL
BLIEBERNICKT²

Esta técnica envolve a recolha de um embrião de uma égua dadora e transferência para uma égua receptora, com ovulação sincronizada e de preferência com uma boa aptidão materna, que levará a gestação a termo (Allen, 2005). A TE tem sido utilizada para a produção de múltiplos poldros por ano, de éguas reprodutivamente saudáveis, de éguas que sejam idosas e não consigam levar uma gestação a termo e de éguas em competição sem que necessitem interromper, por longos períodos de tempo, a sua actividade desportiva (Carvalho, 2012). Pode ainda ser utilizada para aumentar a descendência de éguas que possuam alto valor genético e para obter poldros de reprodutoras subférteis. Em algumas raças/espécies equídeas em vias de extinção, como é o caso da raça Sorraia ou do burro de Miranda, esta técnica poderia ser bastante vantajosa, conseguindo protegê-las da sua extinção, potenciando a sua conservação. Por último, esta técnica é ainda útil na avaliação

da fertilidade de garanhões e de vários procedimentos seminais, tais como refrigeração e congelação, dando resultados ao fim de 7 dias pós-ovulação, dia da recolha do embrião na fêmea dadora (McKinnon & Squires, 2007).

Uns dos principais factores restritivos para o uso da TE em Portugal são a baixa produtividade, os custos inerentes ao processo e, em especial, o custo de manutenção das éguas receptoras. A TE tem sido combinada com a inseminação artificial com sémen congelado ou a inseminação com doses seminais de baixa concentração. A utilização destas tecnologias faz com que sejam necessários mais estudos para aperfeiçoar a técnica, investindo na pesquisa, no sentido de desenvolver outros métodos como a criopreservação de embriões e o desenvolvimento de protocolos eficazes de superovulação em éguas (Pinto et al., 2017). Poderá, assim, ser possível aumentar a eficiência reprodutiva de um programa de TE, uma vez que estes dois factores são, actualmente, os grandes entraves

na expansão desta tecnologia.

A dificuldade de um programa de TE está na organização e coordenação dos componentes que afectam o sucesso da taxa de gestação, como o manejo da égua dadora, a qualidade da égua receptora e sua sincronização e ainda a equipa técnica responsável pela transferência (Panzani, et.al., 2017).

1. Importância da preservação da raça Sorraia

O cavalo Sorraia, animal de pequeno porte, com características primitivas, muito particulares e únicas no mundo, apresenta-se como uma importante raça equina autóctone portuguesa. O nome de Sorraia deve-se ao facto destes animais terem sido avistados pela primeira vez, pelo Dr. Ruy Andrade, no vale dos rios Sor e Raia, que constituem um dos principais afluentes do rio Tejo - o Sorraia.

Julga-se que este equídeo é um reminiscente ancestral selvagem do cavalo ibérico da região quente e meridional, existindo na Península Ibérica desde o Paleolítico Médio. Este animal, de tipo primitivo, devido à sua grande capacidade de resistência e adaptação ao local onde

¹Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Santarém (paula.azevedo@esa.ipsantarem.pt)

²Embriovet, Prestação de Serviços Veterinários Lda

³Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais (SPREGA)

se desenvolveu, nem sempre nas melhores condições meteorológicas e alimentares, foi o único que conseguiu subsistir, daí podendo-se concluir que será o mais antigo, autóctone e melhor adaptado ao local onde foi encontrado (<http://www.aicsorraia.fc.ul.pt/>).

O Sorraia é, sem dúvida, uma das raças europeias que apresenta mais caracteres primitivos **[Fig.1]**.

A sua rara pelagem apresenta-se maioritariamente com as colorações pardo cinzento (rato) ou ainda pardo amarelo (baio-pardo), com crinas bicolores. Apresenta as extremidades dos membros (cabos) mais escuras, lista de mulo e lista crucial e ainda zebrares nos membros, como frequentemente assinaladas nas pinturas paleolíticas. A todas estas características ainda acresce o facto de as orelhas, orladas de pelos mais escuros, apresentarem uma zona apical mais clara, típica de animais selvagens com características gregárias, para facilitar a localização mútua (Oom et al., 2004).

Importa referir a importância da sua preservação, sendo uma das raças menos numerosas e em maior perigo de extinção em todo o mundo, não ultrapassando os 300 indivíduos, sendo o número de éguas reprodutoras cerca de 150 animais. Um problema relevante e que se tem vindo a acentuar neste cavalo primitivo é o aumento da consanguinidade média da população e a perda da variabilidade genética, fruto de uma população de reduzidíssimo número e ainda, de possíveis incorrecções no manejo dos acasalamentos dos animais (Oom & Luís, 2001). Nos últimos anos temos, no entanto, assistido a uma boa gestão da sua reduzida variabilidade genética, com manutenção dos níveis de consanguinidade.

2. A Técnica de Transferência Embriônica

Esta biotecnologia reprodutiva envolve algumas etapas fundamentais: i) Selecção e manejo das éguas dadora e receptora; ii) Sincronização do estro e indução da ovulação; iii) Beneficiação da dadora e recolha do embrião; iv) Avaliação e manipulação do embrião; v) Transferência do embrião; vi) Controlo da receptora após transferência.

2.1 Selecção e manejo da égua dadora

A candidata ideal para égua dadora de um programa de transferência de embriões, é uma fêmea com idade compreendida entre os 3 e 10 anos, em boa condição de saúde e que não apresente qualquer problema a nível



Fig. 1 Exemplar da raça Sorraia

reprodutivo. Para realizar uma transferência é necessário considerar, em primeiro lugar, o valor genético da descendência das éguas dadoras, assim como a sua morfologia e a sua inserção no padrão da raça. A história reprodutiva e a fertilidade são factores de extrema importância que vão influenciar bastante o manejo destas éguas (McKinnon & Squires, 2007).

A elevada percentagem de éguas idosas presentes em programas de TE constitui um problema, pois estas têm uma eficiência reprodutiva mais baixa do que éguas jovens. As falhas reprodutivas, normalmente observadas, estão associadas a alterações no processo de ovulação e maturação dos óócitos e/ou endometrite crónica (Panzani, et al., 2017).

O manejo consiste em acompanhar o comportamento reprodutivo da égua, utilizando a palpação e a ecografia transrectal para monitorizar a actividade folicular e ovulação, e caso seja necessário, utilização de hormonas exógenas para sincronização do estro e indução da ovulação.

2.2 Selecção e manejo da égua receptora

De todos os factores que afectam o sucesso de um programa de TE, o mais importante é provavelmente a selecção apropriada e o manejo da égua receptora. Os critérios de selecção

que deverão ser considerados são a sua idade, ser de fácil manejo, ter um bom desenvolvimento mamário e boa conformação da genitália externa. A sua idade deverá situar-se entre os 3 e 10 anos, sendo preferível que já tenham parido uma ou duas vezes. Além disso, devem exibir ciclos reprodutivos normais e não terem quaisquer anomalias ováricas ou uterinas. No momento da transferência, é importante que pelo menos duas receptoras estejam disponíveis para cada dadora, permitindo assim, escolher a que apresenta melhores condições reprodutivas para receber o embrião. Estas éguas devem ser alimentadas de modo a manter uma boa condição corporal e não serem sujeitas a situações de stress (McKinnon & Squires, 2007).

3.3 Sincronização do estro e indução da ovulação

A sincronização dadora-receptora tem uma enorme influência nos resultados de um programa de transferência de embriões. A receptora deve ovular um dia antes da dadora (+1) ou até três dias depois (-3). Quando existe um grande número de receptoras, uma dadora pode ser combinada com uma receptora que tenha ovulado espontaneamente, sem recorrer à utilização de hormonas para sincronizar os seus ciclos. No entanto, quando tal não é possível, a

sincronização tem que ser feita recorrendo a hormonoterapia. As hormonas mais utilizadas são a prostaglandina F2 α , gonadotrofina coriônica humana (hCG), análogo de GnRH e oxitocina [McKinnon & Squires, 2007; Jacob et al., 2012].

2.3 Beneficiação da dadora e recolha do embrião

A dadora é beneficiada de acordo com o protocolo eleito e o óócyto é fertilizado no oviduto. O embrião é transportado para o útero entre os dias 5 e 6 pós-ovulação, encontrando-se na fase de mórula compactada, pronto para o desenvolvimento inicial de blastocisto. Após entrar no lúmen uterino, o seu tamanho aumenta atingindo o estádio de blastocisto expandido. Desta forma, os embriões são recolhidos no dia 6, 7 ou 8, sendo o dia 0 o que corresponde à ovulação [Panzani, et. al., 2009]. A recolha de embriões é realizada por via transcervical não cirúrgica em sistema fechado [Fig. 2].

2.4 Avaliação e manipulação do embrião

Após a lavagem uterina, o líquido retido no filtro [Fig. 3] é vertido para uma placa de Petri [Fig. 4] para ser observado à lupa (ampliação de 10x), identificar e avaliar a qualidade do embrião, de acordo com uma escala, sendo classificado de excelente a mau [Fig. 5]. Posteriormente é removido para outra placa, com vários poços, contendo um meio de lavagem próprio para embriões com antibióticos, onde se procede à sua lavagem, [Fig. 6] (Hinrichs, & Choi, [2005]).

2.5 Transferência do embrião

A transferência pode ser realizada pelo método



Fig. 3 Filtro para recolha de embrião



Fig. 5 Observação do embrião colhido à fêmea Sorraia Fiona



Fig. 4 Placa de Petri para observação à lupa

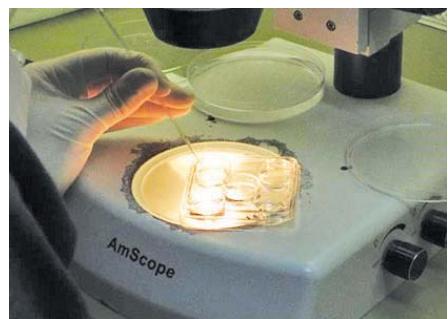


Fig. 6 Placa destinada à lavagem do embrião

cirúrgico e não cirúrgico transcervical, sendo esta a metodologia mais utilizada pois é menos invasiva e mais rápida, uma vez que consiste em depositar o embrião no lúmen uterino, após a sua introdução numa palheta esterilizada de 0,25 ou 0,5 ml, consoante o tamanho do mesmo [Fig. 7]. A palheta é preenchida com 3 colunas de líquido, separadas por espaços com ar, encontrando-se o embrião na segunda coluna de líquido [Carvalho, 2012].

Posteriormente a palheta é colocada no interior de uma sonda [Fig. 8], que por sua vez é acoplada a um pistolet, permitindo depositar o embrião no útero da égua receptora.

2.6 Controlo da receptora após transferência

O diagnóstico de gestação nas receptoras poderá ser realizado ao 5.º dia após a transferência, que corresponderá ao 12.º-13.º dia após ovulação da dadora. Caso seja positivo, deverá

ser confirmado ao 17.º-18.º dia, de novo ao 25.º dia para verificação do batimento cardíaco e finalmente por volta dos 45 dias, quando o conceito já é considerado um feto, para verificar a ausência de morte embrionária [Claudia, 2016].

3. A transferência de embrião na raça Sorraia

A transferência embrionária nesta raça, realizada em 2016, com a fundamental colaboração da Embriovet, Prestação de Serviços Veterinários Lda foi a primeira a ser executada a nível mundial. Uma das aplicações importantes desta biotecnologia, como referimos anteriormente, é o seu contributo para a preservação de raças ameaçadas de extinção onde se inclui o cavalo Sorraia.



Fig. 2 Recolha de embrião por via transcervical não cirúrgica em sistema fechado



Fig. 7 Palhetas destinadas à colocação do embrião.

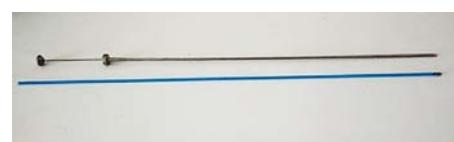


Fig. 8 Sonda descartável e pistolet.



Fig. 9 Égua dadora Sorraia, Fiona, com poldro nascido em 2016



Fig. 10 Índia, égua receptora

3.1 Caracterização das éguas dadora e receptora

A égua dadora da raça Sorraia é uma fêmea com 6 anos, de nome Fiona [Fig. 9], cujo criador é a Escola Superior Agrária de Santarém e que até 2016 já tinha produzido três descendentes. Os partos foram sempre normais bem como a sua actividade cíclica pós-parto.

A receptora é uma fêmea Lusitana, de nome Índia, com 3 anos de idade em 2016 [Fig. 10], cedida por um criador particular e que à data nunca tinha parido. Égua com um temperamento calmo, boa condição corporal e que apresentava ciclos éstricos normais. A avaliação realizada ao seu trato reprodutivo por palpação transrectal e ecografia, não evidenciou qualquer anomalia.

3.2 Beneficiação da égua dadora e recolha de embrião

A égua dadora foi beneficiada num ciclo éstrico

normal, sem recurso a hormonoterapia, em Julho de 2016, por cobrição natural, à mão. O garanhão da mesma raça com 13 anos de idade, de nome Xearas, apresentava boa qualidade seminal avaliada através de um espermograma. Os saltos foram realizados com intervalos de 36 horas, tendo a égua sido coberta três vezes. Após o último salto foi realizada ecografia, tendo-se observado a presença de um corpo lúteo com cerca de dois dias. Ao 7.º dia após a ovulação, foi efectuada lavagem uterina para recolha do embrião. Este foi sujeito aos procedimentos técnicos já descritos anteriormente e transferido para a égua receptora.

3.3 Maneio da égua receptora

Nesta fêmea foi induzido o cio com recurso à administração de prostaglandina F2α. Posteriormente foi monitorizada através de palpação transrectal e ecografia tendo sido induzida a ovulação com admi-



Fig.11 Diagnóstico de gestação positivo de 10 dias



Fig.12 Diagnóstico de gestação positivo de 14 dias



Fig.13 Diagnóstico de gestação positivo com cerca de 53 dias

Nº 1
Red Cell®



o SUPLEMENTO
DE ALTO RENDIMENTO
MAIS RECOMENDADO POR
VETERINÁRIOS E TREINADORES
EM TODO O MUNDO



Novo RED CELL®
Pellets 425g
Concentrado (x2), mais fácil
e por apenas 19,26€

1 Escova
SLEEK 'N EASY
GRÁTIS*



VetNova

PT Norte - Madeira: 933 088 599

PT Centro - Algarve: 938 116 105

PT Lisboa - Alentejo - Acores: 933 831 252

vetnova@vetnova.net

www.vetnova.net



Fig. 14 Égua Lusitana Índia com a poldra Sorraia e a sua progenitora, Fiona

nistração de hCG (1500UI), para se conseguir a sincronização entre dadora e receptora, um dos factores determinantes no sucesso da transferência embrionária. A receptora no dia em que foi efectuada a transferência, encontrava-se no 4.º dia pós-ovulação (D4).

Ao 10.º e ao 14.º dia após a ovulação da dadora, foram realizadas ecografias para diagnóstico de gestação à fêmea receptora, cujos resultados foram positivos (Fig. 11 e Fig.12).

Por volta do dia 50 foi realizada nova ecografia que confirmou a não ocorrência de morte embrionária (Fig. 13).

A gestação decorreu normalmente e no dia 8 de Junho de 2017 a égua Lusitana Índia pariu uma poldra de raça Sorraia (Fig. 14).

Foi um acontecimento marcante e emocionante para todos os envolvidos, relevante para a raça Sorraia, com um contributo importante para a sua divulgação e preservação. ■

Faleceu Manuel Heleno

O criador e colaborador da EQUITAÇÃO deixou-nos em Setembro vítima de doença prolongada. Fundador de diversas associações como a Associação Portuguesa do Cavalo Árabe, a Associação Portuguesa do Cavalo Anglo-árabe e a Associação Portuguesa do Cavalo Luso-árabe, esteve na génesis do Stud Book do Puro Sangue Árabe.

À família enlutada a EQUITAÇÃO endereça as sinceras condolências, lamentando a perda deste amigo que dedicou a vida ao cavalo.



Bibliografia:

- Allen, W.R. (2005). The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reprod. Domest. Anim.*, 40 (4), 310-29.
- Carvalho, A.L. (2012) - Fatores que influenciam o sucesso de um programa de transferência de embriões equinos. Dissertação de mestrado em medicina veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, 60 pp.
- Claudia, K. (2016) - Maternal Recognition of Pregnancy in the Context of Equine Embryo Transfer. *Journal of Equine Veterinary Science*, 41, 22-28.
- Hinrichs, K., Choi, Y.-H. (2005). Assisted reproductive techniques in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4, 210-218.
- Jacob, J.C.F., Haag, K.T., Santos, G.O., Oliveira, J.P., Gastal, M.O. & Gastal, E.L. (2012). Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a commercial equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 77, 1159-1166.
- McKinnon, A.O., Squires, E.L. (2007). Embryo Transfer and Related Technologies. In J.C. Samper (Ed) & J.F. Pycock & A.O. McKinnon, *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri, USA: Saunders Elsevier, 319-333.
- Omm, M.M., Luís, C. (2001) – Gestão genética de uma população fragmentada: O Cavalo do Sorraia. 6ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Ecologia, 1-3 Novembro, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Oom, M. M., Andrade, J. L. e Costa-Ferreira, J. (2004) – Stud Book da Raça Sorraia. Associação Internacional de Criadores de Raça Sorraia. Lisboa.
- Panzani, D., Crisci, A., Rota, A., Camillo, F. (2009). Effect of day of transfer and treatment administration on the recipient on pregnancy rates after equine embryo transfer. *Veterinary Research Communication*, 33 (1), 113-116.
- Panzani, D., Vannozzi, I., Marmorini, P., Rota, A., Camillo, F. (2017) - Factors Affecting Recipients Pregnancy, Pregnancy Loss, and Foaling Rates in a Commercial Equine Embryo Transfer Program. *Journal of Equine Veterinary Science*, 37, 17-23.
- Pinto, M.R., Miragaya, M.H., Burns, P., Douglas, R., Neild, D.M. (2017) - Strategies for Increasing Reproductive Efficiency in a Commercial Embryo Transfer Program With High Performance Donor Mares Under Training. *Journal of Equine Veterinary Science*, 54, 93-97.
- <http://www.aicsorraia.fc.ul.pt/> - Associação Internacional de Criadores do Cavalo Ibérico do Tipo Primitivo – Sorraia (consulta efectuada a 12 de Julho de 2017).