

POTENCIAL DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA PARA LA CONSERVACIÓN DEL CABALLO DE RAZA HISPANO-ÁRABE

POTENTIAL OF EMBRYOS TRANSFER AS A TOOL FOR THE CONSERVATION OF THE SPANISH-ARAB HORSE BREED

Vallecillo, A.¹, C.C. Pérez-Marín², O. Henríquez¹, J.V. Delgado¹ y A. Cabello³

¹Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. España. E-mail: ge2vahea@uco.es

²Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. 14014 Córdoba. España.

³Delegación de Turismo y Desarrollo Rural. Diputación de Córdoba. Ctra. Madrid-Cádiz, Km. 395. 14014 Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Yeguas. Donantes. Gestación. Lavados.

ADDITIONAL KEYWORDS

Female. Donor. Gestations. Flushing.

RESUMEN

La raza equina Hispano-Árabe esta registrada en el catálogo oficial de razas de España como raza en peligro de extinción en la categoría de protección especial. Se plantea como estrategia de conservación el uso de la técnica de transferencia embrionaria, como herramienta en el aprovechamiento genético no sólo del macho sino también de las hembras. Para dicho ensayo se seleccionaron un total de 8 yeguas y 1 macho de raza Hispano-Árabe cedidas por la Unión Española de Ganaderos de Pura Raza Hispano-Árabe. Entre las yeguas donantes que fueron mantenidas en este programa de transferencia embrionaria se obtuvo un porcentaje de recogida de embriones del 100%. De este modo, la tasa de gestación a los 25 días fue 66,7%, mientras que a los 50 días sólo alcanzó el 33,7%.

SUMMARY

The Spanish-Arab horse breed is registred in

the Spanish catalogue of breeds as an endangered breed into the special protection category. A strategy of conservation based on the embryos transferring is presented here with the intention of the use so this tool to utilize male and female genetic potentiality. For this assay a total purebreed animals of 8 females and 1 male were selected, all of them submitted by the Spanish Union of Pure Breed Spanish-Arab Breeders. The percentage of embryonic collection was of 100% of the donor females. The rate of gestations at 25 days after transference was 66.7% and at 50 days was 33.7%.

INTRODUCCIÓN

Desde 1974 en que Oguri y Tsutsumi (1974) obtuvieron el primer potro nacido por transferencia de embriones, esta técnica ha sufrido un lento avance motivado entre otras ra-

zonas por la negativa de numerosas asociaciones ecuestres a la inscripción de productos nacidos por transferencia embrionaria. Por otro lado, razones técnicas como la mala respuesta del ovario a los tratamientos de superovulación debido a su estructura y baja sensibilidad a las gonadotropinas exógenas han complicado la utilización y difusión de la citada técnica de reproducción asistida. Más recientemente, la demanda de dicha técnica por criadores de caballo de polo (Pashen, 1993), así como la autorización para inscribir un número ilimitado de potros por cada madre en la raza Quarter (Hudson y McCue, 2004), sin olvidar las mejoras técnicas en cuanto a la sincronización de celos, superovulación, flushing y transferencia de los embriones obtenidos han hecho que la transferencia embrionaria se sitúe nuevamente en el punto de mira de ganaderos de élite (Alvarenga *et al.*, 2001; Jasko, 2002). Sin embargo, no sólo puede o debe utilizarse en este tipo de animales con aptitudes morfológicas o funcionales admirables, sino que debe utilizarse como herramienta en yeguas con ciertos problemas de fertilidad y para reducir la transmisión de ciertas enfermedades al controlar exhaustivamente a los reproductores o incluso mediante lavado de los embriones. La transferencia embrionaria además de lo expuesto puede servir en aquellas razas que se encuentran en peligro de extinción o amenazadas para conseguir una mayor variabilidad genética de la población, basando dicho objetivo en explotar no solo los recursos genéticos del macho (algo que se hace mediante inseminación artificial), sino incrementando la producción reproductiva de la

hembra, obteniendo varias crías por año, algo imposible en condiciones naturales de cría.

En este sentido, se realiza un ensayo con caballos de la raza autóctona española Hispano-Árabe, clasificada según el vigente catálogo de razas de ganado de España como de protección especial, (Orden APA/661/2006), con objeto de evaluar las posibilidades de la citada técnica para conseguir un mayor progreso dentro del plan de conservación y sondear la respuesta de los ganaderos ante esta técnica, poco usada en España.

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia se realizó en las instalaciones del Centro Pecuario de la Excma. Diputación de Córdoba (España). Se inició en el mes de marzo de 2006, justo cuando las yeguas se encuentran en la estación reproductiva en Andalucía. Se seleccionaron un total de 8 yeguas de raza Hispano-Árabe para actuar como donantes de embriones, cedidas por la Unión Española de Ganaderos de Pura Raza Hispano-Árabe y cuya edad media era de 5 años.

SELECCIÓN DE YEGUAS, SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN

Las yeguas fueron seleccionadas de acuerdo a un historial reproductivo normal. Las exploraciones mediante palpación rectal y ecografía no revelaron defectos que pudieran afectar el éxito del programa.

Todas las yeguas, independientemente de su actividad ovárica y de su ciclo estral, fueron sometidas a un

programa de sincronización para que donantes y receptoras estuvieran en un marco hormonal adecuado en el momento de la recolección y transferencia embrionaria.

Las yeguas donantes fueron tratadas con Altrenogest (Regumate, Esteve, España) durante 8 días a dosis de 0,044 mg/kg, igual que las receptoras, aunque en estas el tratamiento se inició un día después. A ambos grupos se administró Prostaglandina PGF₂ α , 1ml, (Estrumate® Schering Plough), el día después de acabar la administración de progesterona se realizaron estudios ecográficos para ver cómo se encontraban los ovarios. En ese momento fueron retiradas del estudio 2 yeguas que no respondieron al tratamiento. Se realizaron ecografías ováricas cada dos días para evaluar el desarrollo folicular. Las yeguas donantes fueron inseminadas dependiendo del desarrollo folicular, y a partir de aparecer signos de celo se realizaron controles cada 6 h para realizar IA lo más próximo posible al momento de la ovulación. Se utilizó semen refrigerado procedente de un semental Hispano-Árabe. En el día 8 posterior al tratamiento progestánico, fue administrada HCG (Veterin-Corion®, 1500 UI iv) a todas las yeguas donantes. Se obtuvo una respuesta ovulatoria adecuada por parte de 4 yeguas, ya que las otras dos vieron retrasadas sus ovulaciones y tuvieron que retirarse del programa.

Las yeguas receptoras fueron tratadas con HCG (Veterin-Corion®, 1500 UI iv) también 8 días después de acabar el tratamiento con progestágenos y también se realizó un seguimiento ecográfico cada dos días, primero y cada 6 h, una vez detectado el celo,

para conocer su estado en el momento de la transferencia embrionaria. En este caso, sólo 3 yeguas fueron mantenidas como receptoras ya que el resto no ovularon en el momento adecuado.

LAVADO UTERINO (FLUSHING)

Las yeguas donantes fueron sometidas a lavado uterino los días 8 y 9 tras la I.A. Para ello se utilizaron sondas de silicona, con un diámetro interno de 8mm (Bivaro® - IMV®), que, después de lavar la zona perineal, eran introducidas vía trans-vaginal hasta el cuerpo del útero, donde eran fijadas mediante un balón hinchable (50 ml de aire). Se realizaba lavado del útero utilizando para ello 4 litros de líquido de lavado (Euro Flush IMV®). El líquido era filtrado posteriormente en el laboratorio en filtros de 0,75 μ (Embryo-Filter IMV®) y observado bajo lupa estereoscópica (15x). Cuando los embriones fueron encontrados fueron lavados 10 veces con medios especiales (Embryo Holding medium, 0,1 M, IMV®). A continuación eran cargados en pajuelas de 0,5 ml, dejando dos burbujas de aire y medio de mantenimiento lateralmente. Seguidamente los embriones fueron transferidos vía transcervical empleando un catéter con funda desechable y salidas laterales. El embrión era depositado en el cuerpo del útero, aproximadamente a 10-15 cm de la entrada cervical.

DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

La gestación se confirmó el día 14 (día 6-7 postransferencia) mediante ecografía uterina. Se consideró positiva cuando se apreció una vesícula embrionaria anecogénica, redondeada, con papilas hiperecogénicas en los

polos. El día 25 se volvió a confirmar la gestación, valorando en este momento el aspecto de la vesícula y el latido cardíaco. Finalmente a los 50 días realizamos una nueva confirmación de la gestación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre las yeguas donantes que fueron mantenidas en este programa de transferencia embrionaria se obtuvo un porcentaje de recogida de embriones del 100%. De los embriones recogidos, 1 tenía 8 días y 3 se obtuvieron a los 9 días tras la IA.

La calidad de todos los embriones fue buena, lo que los hacía transferibles. Se observó que todos ellos presentaban una fase de blastocisto expandido, siendo diferentes los tamaños dependiendo de su fase de desarrollo.

Sólo se transfirieron 3 ya que, como se ha comentado, hubo dificultad tanto por el número de receptoras que exige un programa de transferencia como por las dificultades ovulatorias que tuvieron. De las yeguas a las que se transfirieron embriones, dos quedaron gestantes, lo que fue confirmado cuando el embrión contaba ya con 14 días. En ambos casos se observaron las vesículas anecogénicas, con un tamaño de 1,3 y 1,5 cm. El día 25 se repitió la ecografía, observando el embrión y latido cardíaco, aunque una de las yeguas mostraba una vesícula de mayor tamaño, algo irregular en sus bordes. El diagnóstico a los 50 días reveló la reabsorción de una de los embriones.

De este modo, la tasa de gestación a los 25 días fue 66,7%, mientras que a los 50 días sólo alcanzó el 33,7%.

A la vista de los resultados obtenidos podemos afirmar que la transferencia embrionaria es una técnica de reproducción asistida que puede ser utilizada con éxito en programa de conservación de razas equinas en peligro de extinción o amenazadas, permitiendo difundir el potencial genético de la madre, algo que de manera natural o mediante los sistemas más tradicionales de mejora (inseminación artificial) no es posible aprovechar.

La técnica utilizada se ha mostrado muy fácil de desarrollar, sobre todo a nivel de campo, lo que puede favorecer aun más la difusión de la técnica.

Respecto a los resultados, se puede afirmar que es indispensable realizar una selección meticulosa y exhaustiva de las yeguas donantes y receptoras si se quiere alcanzar resultados interesantes. En este mismo sentido, los controles durante la fase de celo e inseminación en ambos grupos de yeguas deben ser concienzudos, si es posible cada 6 horas con objeto de tener bien caracterizado el ciclo de las yeguas. Si no es así, cualquier intento por desarrollar esta técnica en équidos va a llevar a los técnicos y propietarios a un gran desaliento, incredulidad en la técnica y abandono de la misma. Por ello, se considera interesante la creación de grupos de especialistas que puedan difundir las ventajas y posibilidades de la transferencia embrionaria desde la obtención de buenos resultados.

En esta experiencia, la tasa de recogida embrionaria fue excelente, debido posiblemente al esmero con que se seleccionaron a las donantes y al seguimiento ecográfico a que fueron sometidas durante el periodo de celo,

aproximando al máximo la inseminación al momento de ovulación. Por otro lado, los lavados uterinos se han realizado con sondas de un calibre de 8 mm, consiguiendo una gran corriente y turbulencia a nivel uterino, lo que facilitaba la recuperación embrionaria. Las yeguas donantes y receptoras se encontraban sincronizadas, teniendo en cuenta que Hinrichs y Choi, (2005), indican que no hay diferencias cuando la asincronía es de -1 hasta +3 días.

Respecto a la tasa de gestación, los resultados han sido también buenos, aunque uno de los embriones no se pudo transferir por falta de yegua receptora. Al igual que en el caso anterior, las yeguas receptoras fueron elegidas después de muchas evaluaciones, lo que permitió contar con las máximas garantías en el momento de la transferencia.

A partir de esta experiencia se plantea la posibilidad de incorporar nuevas

mejoras en la técnica de sincronización de celo, con objeto de no perder tantos animales durante el periodo de preparación. La transferencia embrionaria abre nuevas expectativas para la conservación del caballo de raza Hispano-Árabe, así como para otras razas.

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo y la atención mostrada al Doctor Guy Delhomme, jefe de productos equinos de los Laboratorios Francés IMV®.

Al Centro de Fomento Pecuario, de la Excma. Diputación de Córdoba. España.

De manera especial se agradece la disposición siempre mostrada, en especial en este caso, a los representantes en España de laboratorios IMV®: HUMECO y SAYPER S. Coop. And.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarenga, M.A., P.M. McCue, J. Bruemmer, J.R. Neves Neto and E.L. Squires. 2001. Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily. *Theriogenology*, 56: 879-887.
- Hinrichs, K. and Y.H. Choi. 2005. Assisted reproductive techniques in the horse. *Clin Tech. Equine Pract.*, 4: 217-218.
- Hudson, J.J. and P.M. McCue. 2004. How to increase embryo recovery rates and transfer succeed. Proc 50th Ann Conv AAEP, Denver, CO. pp. 406-408.
- Jasko, D.J. 2002. Comparison of pregnancy rates following non-surgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. In: Evans M.J. (edit) Equine Reproduction VIII. *Theriogenology*, 58: 713-716.
- Oguri, N. and Y. Tsutsumi. 1974. Non-surgical egg transfer in mares. *J. Reprod. Fertil.*, 41: 313-320.
- Pashen, R.L., F.A. Lascombres and M.D. Darrow. 1993. The application of embryo transfer to polo ponies in Argentina. *Equine Vet. J.*, 15: 119-121.