



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES

RESPUESTA REPRODUCTIVA EN YEGUAS CRIOLLAS DEL ESTADO DE MICHOACÁN TRATADAS CON ACETATO DE DESLORELINA

TESIS

Como requisito para obtener el grado académico de:

Maestro en Producción Agropecuaria Opción Terminal: Pecuaria

Presenta:

M.V.Z. Jorge Barzilai Lara Castillo

DIRECTOR:

Dr. José Herrera Camacho

CO-DIRECTOR:

Dr. Alejandro Taylor Estrada Coates

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Jeannette Sofía Bayuelo Jiménez

Dr. Jorge Fonseca Madrigal

Dr. Benjamín Gómez Ramos

Morelia, Michoacán, Agosto de 2021

Dedicatoria

El presente trabajo representa en el autor un gran esfuerzo y dedicación, siendo resultado de muchas horas de trabajo, desvelos y esfuerzo físico y mental, dedico este logro a **mi madre** la Señora **Lic. Lidia Dina Castillo Peña**, quien me apoyo en cada momento con consejos, comida y con todas sus posibilidades aun acompañándome en las guardias nocturnas en las caballerizas, dándome su amor y comprensión incondicional, lamentablemente al momento de realizado este escrito ella ya no es capaz de estar junto a mi debido a su sensible partida, pero quiero expresar que gracias a ella todo se logró y seguiré avanzando hasta un día según nuestra fe inculcada por el ADJ NJG pueda verla de nuevo.

Quiero también dedicarle este logro a **mi Padre** el **Mvz. MC. Jorge Lara Navarro**, quien ha estado conmigo como apoyo incondicional hasta este momento alentándome a seguir esforzándome por lograr grandes proezas.

Agradecimientos

Deseo agradecer primeramente a **Dios** por ayudarme a seguir adelante ante tantas dificultades en el camino, dándome salud, fuerzas y la capacidad física e intelectual de lograr el cometido de esta maestría.

Por otro lado, es imposible no agradecer a mi excelente director de tesis el **Dr. José Herrera Camacho**, quien creyó en mi en primera instancia y ha estado de manera incondicional a mi lado ayudándome en cada paso de esta investigación y de mi vida personal, convirtiéndose así en más que un director en un muy preciado amigo, dueño de mi entera admiración.

Es importante agradecer a cada uno de los sinodales miembros de mi comité tutorial, más de algun@ le ha dedicado parte de su valioso tiempo, esforzándose en revisar con esmero con la intención de ayudarme, hacerme un bien e instruirme en mi formación como investigador, por lo cual estoy muy agradecido.

Quiero también agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología **CONACYT**, quienes apoyaron parcialmente a esta investigación aportando una beca mensual durante dos años completos, comprendidos en el periodo de tiempo transcurrido entre el **01/03/2019** al **01/03/2021** al autor **Mvz. Dipl. Jorge Barzilai Lara Castillo**, con un número del registro del becario **CVU: 958968**.

ÍNDICE

INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vi
Resumen.....	1
Abstract	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Anatomía del tracto reproductor de la yegua	5
2.2 Fisiología del tracto reproductor de la yegua	10
2.2.1 Generalidades de la yegua	10
2.2.2 Fotoperiodo	11
2.3. Fisiología del ciclo estral de la yegua.....	15
2.3.1 Foliculogénesis o Dinámica folicular	17
2.3.2 Ovulación	22
2.3.3 Factores que pueden afectar la ovulación.....	25
2.3.4 Formación de cuerpo lúteo (luteogénesis)	26
2.3.5 Regresión del cuerpo lúteo (Luteólisis).....	28
2.4 Fertilidad en la yegua	30
2.4.1 Folículos anovulatorios	31
2.4.2. Incidencia de HAF's.....	33
2.5. Tratamientos inductores de ovulación.....	34
2.5.1. Hormona Luteinizante recombinante	36
2.5.2. Hormona Gonadotropina Coriónica humana (hCG)	38
2.6. Nutrición en la reproducción	40
III. JUSTIFICACIÓN	42
3.1 Problema de investigación	43
3.2 Pregunta central de investigación	44
3.3 Hipótesis.....	44
IV. OBJETIVOS	45
4.1. Objetivo general.....	45
4.2. Objetivos específicos	45
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
5.1 Área de estudio	46

5.2 Animales.....	47
5.3 Tratamientos hormonales.....	47
5.4 Revisión ovárica.....	48
5.5 Análisis estadístico.....	50
VI. RESULTADOS.....	51
VII. DISCUSIÓN.....	55
VIII. Conclusión.....	63
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	64

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Escala de condición corporal del caballo (Henneke, 1984).	41
Tabla 2. Grados de edema uterino en la yegua (Samper, 1997).	49
Tabla 3. Relación entre el reporte de ciclos naturales y de hormona.	54

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema endocrino del ciclo estral de la yegua. (Cortés-Vidauri <i>et al.</i> , 2018).	13
Figura 2. Anatomía del folículo dominante o de Graaf (Fortoul-Van der Goes, 2017).	20
Figura 3. Proceso de síntesis de progesterona (Cortés-Vidauri <i>et al.</i> , 2018).	28
Figura 4. Estructura química de la hormona acetato de deslorelina.	37
Figura 5. Estructura química de la hormona gonadotropina coriónica humana.	38
Figura 6. Mapa de la localidad de santa clara Tocumbo Michoacán (INEGI, 2009).	46
Figura 7. Incidencia (%) de folículos anovulatorios persistentes (HAF's) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($X^2=3.83$). La letral sobre la barra indica diferencia significativa entre tratamientos.	51
Figura 8. Crecimiento folicular por día (mm) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p>0.05$).	52
Figura 9. Diámetro (mm) folicular a la ovulación en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p>0.05$).	52
Figura 10. Tiempo a la ovulación (h) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p<0.01$).	53

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del acetato de deslorelina sobre la respuesta reproductiva en yeguas criollas en el Estado de Michoacán. Se utilizaron 10 yeguas criollas con un total de 77 ciclos observados, con una edad entre 3 y 11 años, un peso vivo entre 350 y 450 kilogramos, una condición corporal de 4 a 6 puntos (1= emaciada y 9= obesa), ninguna estaba amamantando y sin historial de problemas reproductivos previos. Las yeguas fueron alimentadas con una misma dieta considerando el 8% del peso vivo de la hembra y una relación 20% de concentrado y 80% de forraje. Las hembras se distribuyeron de manera aleatoria en dos grupos: Grupo control (GC n=5) que recibió la aplicación, por vía intramuscular (im) de 1 ml de agua destilada como placebo y el grupo experimental (Gdes; n= 5) que recibió la aplicación, i.m., de 1.5 mg de la hormona clorhidrato de deslorelina. Antes de iniciar el procedimiento experimental, las yeguas se sometieron a una revisión ecográfica para conocer su estado reproductivo, ovárico y uterino. Todas las hembras se trataron con una dosis de 5 ml de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$ Lutalyse, Zoetis NZ) para sincronizar el ciclo estral mediante la lisis del cuerpo lúteo, e iniciar el desarrollo de la fase folicular en un mismo tiempo y obtener condiciones ováricas homogéneas. Una vez que las hembras presentaron un folículo de 35 mm de diámetro se trataron con el placebo o el acetato de deslorelina y la actividad ovárica se monitoriaba a intervalos de 24 h, para determinar la incidencia de folículos hemorrágicos anovulatorios (HA's), tasa de ovulación, crecimiento foliclar por día, diámetro folicular a la ovulación, tiempo a la ovulación después de la aplicación de la hormona y la tasa de ovulación y fertilidad general. La incidencia de folículos anovulatorios fue superior ($X^2= 3.83$) en el GC con respecto al Gdes (25.58% vs. 5.8%, respectivamente). La tasa de ovulación, por el contrario, fue superior ($X^2= 4.76$) en el Gdes respecto GC (94.11% vs 74.41%, respectivamente). En este mismo sentido, el tiempo transcurrido (horas) desde la aplicación de la hormona con presencia de folículos ≥ 35 mm de diámetro hasta su ovulación, fue de 39.45 ± 2.95 h para el Gdes, mientras que para el GC fue de 89.47 ± 3.62 h ($p < 0.01$). Por otra parte, el crecimiento folicular por día (mm) y el diámetro foliclar a la ovulación no fueron afectados ($p > 0.05$) por la administración del acetato de deslorelina. En conclusión, la administración de la hormona acetato de deslorelina mejoró la respuesta reproductiva en yeguas criollas del estado de Michoacán, al reducir la incidencia de HAF's, incrementar la tasa de ovulación y reducir el tiempo a la ovulación.

Palabras clave: HAF's, ovulación, yeguas, criollas, deslorelina.

Abstract

The objective of the present study was to evaluate the effect of deslorelin acetate hormone on the reproductive response in creole mares in the State of Michoacán. A total of 77 cycles were observed. 10 creole mares were used, aged between 3 and 11 years, weight between 350 and 450 kilograms and a body condition of 4 to 6 points (1 = emaciated and 9 = obese), none were breastfeeding and without previous reproductive problems. The mares were fed the same diet, considering 8% of mares weight, with a relation of 80% concentrate and 20% fodder. Mares were randomly distributed into two groups: Control group (CG n = 5) which received the application, intramuscularly (im) of 1 ml of distilled water as placebo and the experimental group (DG; n = 5) which received the application, im, of 1.5 mg deslorelin hydrochloride hormone. Before starting the experimental procedure, the mares were examined with ultrasound examination to determine their reproductive tract, ovarian and uterine status. All females were treated with a 5 ml dose of prostaglandin (PGF2 α Lutalyse, Zoetis NZ), to synchronize the estrous cycle by lysis of the corpus luteum, and initiate the follicular development at the same time and obtain homogeneous ovarian conditions. Once mares presented a 35 mm diameter follicle, they were treated with placebo or deslorelin acetate and ovarian activity was monitored at 24-hour intervals to determine the incidence of anovulatory hemorrhagic follicles (HAF's), ovulation rate, follicle growth per day, follicular diameter at ovulation, ovulation time after hormone application, and overall ovulation and fertility rate. The incidence of anovulatory follicles was higher ($X^2 = 3.83$) in the CG compared to the DG (25.58% vs 5.8%, respectively). The ovulation rate was higher ($X^2 = 4.76$) in the DG compared to the CG (94.11% vs 74.41%, respectively). In respect, time elapsed (hours) from hormone application with ≥ 35 mm follicles diameter until their ovulation, was 39.45 ± 2.95 h for the DG, while CG was 89.47 ± 3.62 h ($p < 0.01$). In other way, the follicular growth per day (mm) and follicle diameter at ovulation were not affected ($p > 0.05$) by the administration of deslorelin acetate. In conclusion, the administration of deslorelin acetate hormone improved the reproductive response in creole mares from the state of Michoacán, by reducing the incidence of HAF's increasing the ovulation rate and reducing the time to ovulation.

Key words: HAF's, ovulation, creole mares, deslorelin acetate.

I. INTRODUCCIÓN

La especie equina cumple con múltiples propósitos zootécnicos en todo el mundo, desde transporte, labranza de la tierra, entretenimiento, equinoterapia, deportes. Además, se le utiliza como una alternativa en la alimentación humana (Fabregas, 2012).

El caballo tiene influencia profunda en la vida humana, especialmente en México. La constitución del caballo como servicio al hombre se vincula desde tiempos inmemoriales, con la evolución económica y social de los pueblos. En un principio, el caballo valía por la facilidad de la obtención de comida, vestido y combustible, pero esto no fue por mucho tiempo, ya que asumió un papel de mayor importancia al servir como medio de transporte, comunicación y, sobre todo, de conquista (Fabregas, 2012).

El caballo, constituye un símbolo de poder, grandeza, conquista, belleza y atletismo. En nuestro país representa la identidad del deporte nacional y forma parte de su legado en la historia; sin embargo, la yegua puede presentar problemas reproductivos recurrentes como fallas en la ovulación, baja tasa de gestación, ciclos estrales anormales, incremento en la incidencia de abortos, incremento en el intervalo generacional, que afecta su eficiencia reproductiva; no obstante, las estadísticas de estos problemas son escasas, debido a que cuando estos se presentan se atienden de manera inmediata sin que haya un reporte del caso clínico. En Michoacán, la información respecto a los problemas reproductivos que

se atienden en yeguas es escasa, por ello en el presente estudio, se evaluó la incidencia de folículos hemorrágicos anovulatorios (HAF's), una falla ovárica que afecta la disponibilidad de óvulos para la fertilización; así como el efecto de una hormona exógena, análoga a la GnRH, sobre la eficiencia reproductiva en yeguas criollas en el estado de Michoacán.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Anatomía del tracto reproductor de la yegua

La comprensión estructural, anatómica y morfológica de la especie es crucial para el investigador, ya que de ello depende la capacidad para dilucidar alguna anomalía y/o incorrecto funcionamiento y, posteriormente implementar una posible solución al problema.

Ovarios

Los ovarios o gónadas de la yegua tienen forma de judía, son normalmente mayores en animales jóvenes que en adultos; un ovario, a menudo es más grande que otro. Éstos tienen alrededor de 7-8 cm de largo y 3 a 4 de ancho; el peso es de unos 70 a 80 gramos (Sisson y Grossman, 2002).

Cada ovario presenta, dos bordes y dos extremidades. Las superficies se denominan medial y lateral, ambas son lisas y redondeadas. La inserción o borde mesovárico es convexa. Está incluida en una parte del ligamento ancho denominado mesovario; los vasos y nervios llegan hasta la glándula por este borde. El borde libre (*margo liber*) está marcado por una escotadura que conduce a una depresión estrecha denominada fosa de ovulación. La extremidad tubal (cranial), redondeada, se relaciona con el extremo fimbriado de la trompa uterina (oviducto) (Morel, 2015). Los ovarios están citados en la región sublumbar y, normalmente, son ventrales a las vértebras lumbares L4 y L5. Estos se encuentran en contacto con la pared lumbar del abdomen. La distancia media, desde el ovario al orificio vulvar, es de 50 a 55 centímetros en una yegua de tamaño medio (Morel, 2015).

Oviducto

Son conductos que actúan como conductos excretores de los ovarios. Éstos transportan los ovocitos de las glándulas reproductoras al útero, pero sin tener continuidad directa con las gónadas. Son dos tubos elásticos de fibras redondas de músculo de 20 a 30 centímetros de largos. El oviducto es muy pequeño en su extremidad uterina de 2 a 3 milímetros de diámetro, pero hacia la extremidad ovárica se ensancha considerablemente de 4 a 8 milímetros. Cada oviducto está incluido en un pliegue peritoneal, derivado de la capa lateral del ligamento ancho denominado mesosalpinx. Se divide en tres porciones: (I) infundíbulo en su porción ovárica que esta ensanchada a manera de embudo, (II) ámpula en su región medial sitio donde se lleva a cabo la fecundación o unión de gametos (esperma y ovulo) e (III) istmo en su porción uterina lugar se los espermatozoides mientras el ovulo desciende al ámpula (Sisson y Grossman, 2002).

Útero

Es un órgano muscular hueco que se continúa con las trompas uterinas cranealmente y se abre en la vagina caudalmente. El útero está situado en la cavidad abdominal, pero se prolonga en una corta distancia dentro de la cavidad pelviana por dos pliegues de peritoneo llamados ligamentos anchos. Este lo constituyen dos cuernos, el cuerpo y el cuello. Los cuernos del útero están situados totalmente en el abdomen; son cilíndricos cuando están moderadamente distendidos y tienen unos 25 centímetros de longitud. El borde dorsal (*margo mesometrus*) es ligeramente cóncavo y está unido a la región sublumbar por el

ligamento ancho, el borde ventral (*margo liber*) es convexo y libre. La pared del útero está formada por tres capas. La capa serosa (*perimetrium*). La capa muscular (*miometrium*), esencialmente formada de dos estratos, un externo de fibras musculares oblicuas y circulares. La capa mucosa (*endometrium*) asienta directamente sobre la capa muscular y es de color rojo pardusco y está cubierta por una capa simple de células columnares altas que contienen numerosas glándulas uterinas, tubulares, ramificadas, éstas no se encuentran en el cuello uterino o cérvix (Morel, 2015).

Cérvix

También llamado cuello uterino es la parte caudal estrechada que se une con la vagina tiene 5 a 7.5 centímetros de longitud y 3.5 a 4 de diámetro. Parte de éste (*portio vaginalis*) se proyecta dentro de la cavidad de la vagina y, por lo tanto, no es visible externamente, pero puede palpado a través de la pared vaginal. Se constituye principalmente de tejido conectivo, musculo y anillos cartilagosos (Sisson y Grossman, 2002).

Vagina

La vagina es el canal que se extiende horizontalmente a través de la cavidad pelviana desde el cuello uterino hasta la vulva; es tubular y tiene unos 20 a 30 cm de longitud, distendida alcanza de 10 a 12 centímetros de diámetro. La vagina está relacionada dorsalmente con el recto y ventralmente con la vejiga y uretra y, lateralmente con la pared pelviana. La vagina está compuesta de capa muscular y

mucosa. La capa muscular se compone a su vez, de fibras longitudinales y circulares; está cubierta externamente por una adventicia fibrosa y hay una gran cantidad de tejido conectivo intermuscular. La capa mucosa es muy elástica y cubierta con epitelio estratificado, pero no escamoso y carece de glándulas (Morel, 2015).

vaginal

El vestíbulo vaginal es la parte terminal del tracto genital, se continúa cranealmente con la vagina y externamente, en el borde pudendo (hendidura vulvar), de 5 a 7 centímetros ventral al ano. Su longitud es de 10 a 12 centímetros, medido desde el orificio uretral externo a la comisura ventral. Este está abrazado por el músculo vestibuloconstrictor, craneal al constrictor de la vulva, el cual tiene glándulas vestibulares mayores y menores (Morel, 2015).

Vulva

El orificio externo, la vulva (*rima pudendis*), tiene forma de una hendidura vertical de 12.5 a 15 centímetros de altura y bordeada por los labios (*labia pudendi*) redondos y prominentes que se unen dorsalmente a 5 centímetros del ano para formar la comisura dorsal y ventralmente para formar la comisura ventral a 5 centímetros caudal al arco isquial. Los labios están cubiertos por una piel lisa, pigmentada y delgada muy vascularizada y que posee glándulas sebáceas y sudoríparas, bajo la piel hay un músculo estriado que es el constrictor de la vulva, fusionado dorsalmente al esfínter del ano (Sisson y Grossman, 2002).

Clítoris

Este órgano es el homólogo del pene y está formado de unas partes muy similares a excepción de la uretra y su musculo. El cuerpo tiene 5 centímetros de largo y su diámetro aproximado a 0.7 centímetros. El clítoris está inserto en el arco isquial por dos pilares. El glande es redondeado y termina en un extremo libre que ocupa la fosa del clítoris en la comisura ventral de la vulva (Sisson y Grossman, 2002).

2.2 Fisiología del tracto reproductor de la yegua

2.2.1 Generalidades de la yegua

Desde el punto de vista fisiológico, la yegua es una hembra poliéstrica estacional. Esto significa que ésta solo presentará actividad ovárica y ciclará para reproducirse, entre los meses de enero y agosto. No obstante, podría durar todo el año de acuerdo con la ubicación geográfica (Suárez *et al.*, 2017).

Existen diferencias en el ciclo reproductivo o estral entre la yegua y las hembras de las demás especies. La duración de los ciclos en la yegua es muy variable, al igual que la duración del estro y los niveles endocrinos. Algunas veces, ovula en forma independiente respecto a los demás factores (sin formación de edema endometrial, cérvix cerrado, etc.). En otras ocasiones, puede mostrar signos de celo sin llegar a ovular; o bien, puede ocurrir un celo silencioso con ovulación, lo que en reproducción animal se conoce como estros anovulatorios. La yegua, por tanto, en una de las especies animales domésticas que presentan un difícil manejo reproductivo (Davies-Morel, 2006; Galina y Valencia, 2009).

La yegua tiene ciclos estrales que duran alrededor de 21 días y cada ciclo estral consta de dos fases, la fase folicular y la fase lútea (Satué y Gardón, 2013). Durante la fase folicular (5 a 7 días), la yegua es sexualmente receptiva al garañón. En esta fase la hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH que es secretada en el hipotálamo (parte del encéfalo de la yegua), estimula a la adenohipófisis a secretar a dos hormonas, el folículo estimulante (FSH) y a la Luteinizante (LH). Estas dos

hormonas promueven la dinámica folicular en el ovario, la mayoría de las yeguas ovulan en un plazo de 48 horas al final del estro.

La fase lútea tiene una duración de 14 a 17 días y en esta fase, la hormona presente es la progesterona, misma que es liberada por el cuerpo lúteo resultado de la ovulación. Durante el período de anestro, la mayoría de las yeguas no muestran receptividad sexual y no desarrollan folículos que ovulen (Satué y Gardón, 2013).

2.2.2 Fotoperiodo

El fotoperiodo se define como la cantidad de horas que un animal se encuentra expuesto a la luz solar y que regula los diversos procesos fisiológicos, entre ellos los reproductivos (Saltiel *et al.*, 1982). Este se presenta en un lapso de 24 horas y da origen al llamado ciclo circadiano y que refiere a los cambios en las variables biológicas de un organismo durante un periodo de tiempo.

El ciclo circadiano está regulado por el reloj biológico central, que se localiza en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo, las neuronas de los núcleos supraquiasmáticos reciben estímulos regulados por la cantidad de horas luz recibidas (fotoperiodo) a través de la retina, de esta manera los genes codifican proteínas para todo el organismo en un periodo de 24 horas (Lincoln, 1984). Este proceso inicia por la interacción de células especializadas de la retina, que detectan la luminosidad natural del día y envían el estímulo a la glándula pineal. Durante el día, el complejo neuronal de los núcleos supraquiasmáticos bloquea la producción

de melatonina, mientras que durante la noche estimulan la producción de dicha hormona (Lincoln, 1984; Salazar-Ortiz *et al.*, 2011).

Estudios previos (Bergfelt *et al.*, 2001), mencionaron que, en las yeguas, la producción de melatonina provoca un bloqueo del hipotálamo inhibiendo la producción del factor liberador de gonadotropinas (Figura 1) especialmente durante el otoño y el invierno, mientras que durante la estación de primavera y verano, donde se incrementan las horas luz, la producción de melatonina disminuye permitiendo la producción de GnRH; por esta razón la especie equina se considera una especie con estacionalidad reproductiva.

Por otra parte, desde el punto de vista conductual de la actividad reproductiva en la especie equina, es posible observar dos periodos considerados de transición; el cambio entre invierno – primavera y otoño – invierno, estos periodos delimitan el inicio y el termino de la estación reproductiva en la yegua (Donadeu y Ginther, 2002). La estación de otoño constituye el puente entre la etapa reproductiva y el inicio del anestro o la ausencia temporal y estacional de estro o calor (Ginther *et al.*, 2003), lo que se conoce como la etapa de anestro estacional, durante esta etapa los folículos ováricos son incapaces de ovular, es decir, sufren atresia y en consecuencia tampoco tiene lugar el conjunto de secreciones hormonales responsables de la conducta sexual en la hembra, limitando de manera natural su capacidad reproductiva (Guillaume *et al.*, 1995).

La disminución de la melatonina, que ocurre de manera normal en primavera y verano (Figura 1), permite la reactivación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, y como respuesta la yegua manifiesta comportamiento estral de manera continua hasta lograr gestarse (Collins *et al.*, 2007).

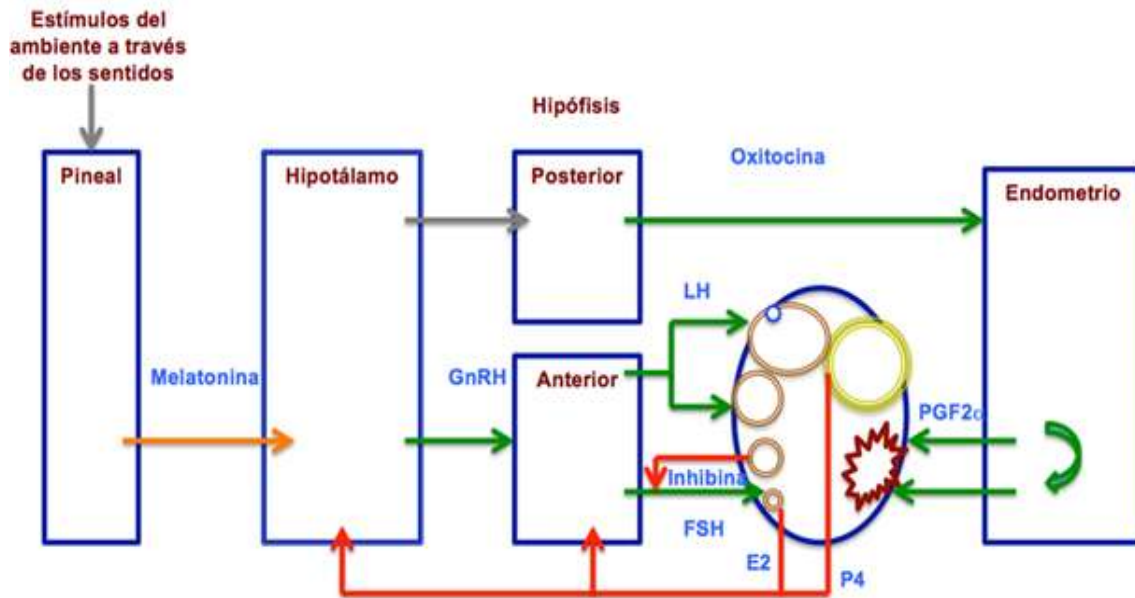


Figura 1. Esquema endocrino del ciclo estral de la yegua. (Cortés-Vidauri *et al.*, 2018).

La ubicación geográfica de las yeguas tiene un efecto directo sobre la estacionalidad reproductiva (Gentry *et al.*, 2002). López-Pérez *et al.* (2010), demostraron que las yeguas que se mantuvieron en los hemisferios norte y sur, así como aquellas que fueron mantenidas alrededor del Trópico de Cáncer, presentaron una estacionalidad reproductiva marcada en comparación a las yeguas de regiones cercanas al Ecuador (Quintero *et al.*, 1995; Escobar, 1997; Gentry *et al.*, 2002).

Algunos estudios realizados en México reportaron que la variación máxima en la longitud del fotoperiodo a lo largo del año es de dos horas (Saltiel *et al.*, 1982). Al respecto, López-Pérez *et al.* (2010), señalaron que las yeguas criollas ubicadas en la latitud 19 N, presentan un periodo anovulatorio de duración variable que ocurrió entre noviembre y mayo; por lo tanto, según nuestra posición geográfica las yeguas deben presentar un patrón de estacionalidad similar al descrito en latitudes en las que la variación de longitud de horas luz en el año es mayor (Ginter, 1974) y se incluyen dentro del grupo de hembras con una reproducción estacional regida por el fotoperiodo.

2.3. Fisiología del ciclo estral de la yegua

La pubertad se define como la etapa en la cual la potrancia tiene su primera ovulación, la cual ocurre entre los 12 y 24 meses de edad (Cortés-Vidauri *et al.*, 2018). No obstante, en las yeguas trotonas rusas híbridas, la ovulación se alcanza entre los 10 y 11 meses (Warren *et al.*, 1977). Una vez que la potrancia alcanza la pubertad, se desarrollan los caracteres sexuales secundarios y la capacidad reproductiva para mostrar el celo (*estrus*) según un ciclo rítmico. El ciclo estral es el intervalo, entre días que transcurren, entre uno y otro estro o periodo de receptividad sexual (Ginter, 1974). En general, se considera que la edad ideal para que una yegua quede gestante es a los 3 años, para que el primer parto suceda en el cuarto año de edad. En general, la etapa reproductiva ocurre entre los 3 y los 15 años de edad (Warren *et al.*, 1977).

Algunos factores externos como el fotoperiodo y la temperatura ambiente pueden afectar la pubertad (Saltiel *et al.*, 1982). En este sentido, la exposición a la luz artificial durante el invierno retrasa el apareamiento de la pubertad, mientras que, fotoperiodos largos la estimulan (Saltiel *et al.*, 1982), al inhibir o permitir la secreción de melatonina que afecta positiva o negativamente la funcionalidad del eje hipotálamo hipófisis gónadas, responsable del comportamiento reproductivo en la yegua. En México, el fotoperiodo es un factor que se ha relacionado con un retraso en la edad a la que se alcanza la pubertad (López-Pérez *et al.*, 2010).

Por otra parte, la temperatura ambiente elevada, influenciada por calentamiento global también puede influir en la pubertad de la yegua y su ovulación durante la etapa reproductiva (Guerin y Wang, 1994), al provocar un desequilibrio en la homeostasis el organismo, provocando que la hembra fisiológicamente enfoque su energía en la activación de mecanismo termorreguladores, lo que inhibe la actividad reproductiva.

El ciclo estral en la yegua comprende dos fases: la fase folicular, en la cual se manifiesta la receptividad sexual o estro y la fase lútea, donde la receptividad sexual esta disminuida, a este periodo se le conoce como diestro. El estro tiene una duración de 3-9 días y sobre la superficie del ovario se encuentran folículos en diferentes etapas de crecimiento (foliculogénesis), así como una secreción constante de 17β -estradiol, hormona esteroide femenina, en concentraciones >200 pg/ml. Los estrógenos son responsables de la receptividad sexual en la hembra, además de favorecer el rompimiento folicular u ovulación y el transporte de gametos (óvulo y espermatozoide) hacia la zona de fertilización (Ginther *et al.*, 1993; 2008).

Adicionalmente, se ha observado que, durante el estro, la yegua muestra cambios de comportamiento; busca al garañón, realiza desplazamiento lateral de la cola, orina frecuentemente en pequeñas cantidades, con eversión del clítoris y secreción mucosa. Adicionalmente, la yegua baja la cabeza, relaja los músculos faciales, inclina la pelvis y separa los cuartos traseros para permitir la introducción del pene en el momento de la cópula (Crowell-Davis, 2007).

El diestro, por su parte, comienza después de la ovulación y comienza con la formación estructural y funcional del cuerpo lúteo que se caracteriza con una producción creciente de progesterona (P_4). La duración del diestro oscila entre 12 y 16 días, adicionalmente tiene lugar una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo para reducir la secreción de GnRH y LH por efecto de la hormona progesterona secretada en el cuerpo lúteo, permitiendo el desarrollo folicular, pero evitando una nueva ovulación a la mitad del ciclo estral.

En síntesis, el intervalo entre ovulaciones o ciclo estral se presenta el crecimiento folicular con producción de estradiol, ovulación, formación del cuerpo lúteo y, finalmente regresión lútea (Irvine y Alexander, 1993; Cortés-Vidauri *et al.*, 2018).

2.3.1 Foliculogénesis o Dinámica folicular

Un folículo es una estructura celular que, por acción hormonal, se desarrolla sobre la superficie del ovario, una vez que la hembra alcanza la pubertad y que el eje hipotálamo hipófisis gónadas alcanza su funcionalidad.

El desarrollo de un folículo se le conoce como foliculogénesis e involucra la dinámica folicular, la cual es un proceso complejo que comprende el crecimiento de los folículos primarios hasta la formación de un folículo dominante (FD) o de Graaf.

El desarrollo del folículo incluye las fases de reclutamiento, selección y dominancia. Estas fases son necesarias para crear un ambiente adecuado para la crecimiento,

maduración y liberación del óvulo con capacidad de ser fertilizado (Ginther *et al.*, 2008).

Fase de reclutamiento: Inicia por la acción de la hormona folículo estimulante liberada en la adenohipófisis y que estimula el crecimiento de al menos 10 folículos de 6 mm de diámetro que se encuentran en la reserva ovárica. Esta misma hormona, promueve la síntesis de estradiol y el crecimiento folicular, con un crecimiento promedio de 2.8 mm/día. Los folículos son capaces continuar su crecimiento hasta la fase de selección, pero sólo uno o raramente dos lo lograrán, el resto pierde su capacidad de crecimiento aproximadamente 48 horas después de la selección y sufre atresia (Ginther, 1993; Gastal *et al.*, 2004; Cortés-Vidauri *et al.*, 2018).

Fase de selección: Durante esta fase solo dos a tres de los folículos que fueron reclutados desarrollan las condiciones para seguir su crecimiento, los demás sufrirán un proceso de atresia. Al respecto, Gastal *et al.* (1997), sugieren que los folículos con mayor tamaño lograrán posicionarse antes en la selección dado que son los que desarrollaron la capacidad para sintetizar hormonas esteroides.

El diámetro folicular esperado en la selección es de 22 mm, por lo tanto, la FSH actúa de manera constante desde que el folículo alcanza los 13 mm de diámetro folicular hasta los 22 mm; donde continuará la hormona LH, en este momento será incapaz de promover los demás folículos, que serán atrésicos (Donadeu y Ginther, 2002). La función de la FSH se logra a través de un factor de crecimiento similar al

de la insulina del tipo I (IGF-I) y su detención a una retroalimentación entre el estradiol y la inhibina (Ginther *et al.*, 2004).

La concentración (pg/ml) folicular y sanguínea de estradiol, se incrementa a medida que aumenta el diámetro de los folículos ováricos, promoviendo, en las células de la granulosa del folículo dominante, un mayor número de receptores para LH, de esta manera logra incrementar su producción, aunque la FSH haya disminuido y transformarse en folículo dominante (Cortés-Vidauri *et al.*, 2018). La disminución en la liberación de la FSH, abate la funcionalidad de los folículos secundarios o subordinados, limitando su crecimiento y permite que la LH estimule el crecimiento del folículo dominante (Gastal *et al.*, 1997). La concentración sanguínea de LH se incrementa antes de la selección, además de los cambios hormonales mencionados previamente, se incrementa el flujo sanguíneo del folículo presto a ser dominante dos días antes de que adquiera el diámetro esperado para la divergencia (Bergfelt y Ginther, 1998).

Fase de dominancia: Durante esta fase, es posible observar un folículo de Graff completamente desarrollado e histológicamente y en el cual es posible identificar, microscópicamente; la teca externa, teca interna, células de la granulosa o capa granulosa, líquido antral o antro folicular, *Cumulus ophorus*, corona radiada, zona pelúcida y ovocito (Figura 2).

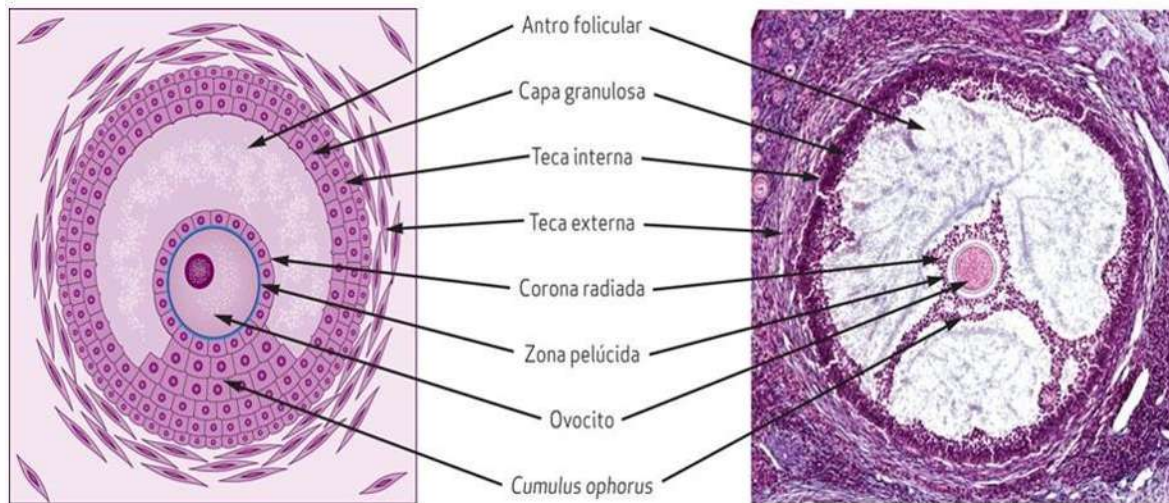


Figura 2. Anatomía del folículo dominante o de Graaf (Fortoul-Van der Goes, 2017).

Durante la fase de dominancia el folículo el folículo llega a medir de 40 a 45 mm de diámetro y tiene forma piriforme, con una elevada concentración de estrógenos en el antro folicular, los cuales promueven, en las células de la granulosa la liberación de la hormona inhibina, hormona que promueve una retroalimentación negativa en la hipófisis, para reducir a nivel basal, la síntesis y liberación de la hormona folículo estimulante, lo que provoca la atresia de folículos secundarios, ejerciendo así la dominancia sobre los demás folículos (Bergfelt *et al.*, 1991).

Adicionalmente, se ha demostrado la presencia dos factores que ayudan a la dominancia, el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y el factor vascular endotelial (VEGF) que se cree (Ginther *et al.*, 2004). El primero se encarga de mejorar la expresión de los receptores de las células de la granulosa a gonadotropinas, para potencializar la diferenciación de las células del folículo (Checura *et al.*, 2010). El factor vascular endotelial se encarga del aumento en la

irrigación sanguínea del folículo, hecho que permite una mayor disponibilidad de gonadotropinas circundantes al folículo, lo que favorecerá su dominancia previa a la ovulación (Gastal *et al.*, 2006).

La dinámica folicular descrita se presenta en al menos dos ocasiones durante el ciclo estral de la yegua, y a cada una de ellas se le conoce como oleada folicular e incluye el reclutamiento, la selección y dominancia previamente descritas (Ginther *et al.*, 2008). La primer oleada folicular o primaria u ovulatoria inicia en la segunda mitad del ciclo estral y terminando con la posterior ovulación, y la onda folicular menor o secundaria (anovulatoria), inicia después de la ovulación y termina con la atresia del folículo dominante que fue incapaz de ovular, debido a que el folículo de mayor tamaño no alcanza el diámetro necesario para promover la divergencia entre futuros folículos subordinados, esta inicia al final del estro y culmina en el inicio del diestro, estas corresponden a folículos que llegan a medir de 22 a 23 mm de diámetro y se vuelven atrésicos (Armstrong y Webb, 1997; Ginther, 2004), la presencia de elevadas concentraciones de progesterona son responsables de promover la atresia folicular al limitar la síntesis hipofisiaria de la hormona luteinizante.

El inicio de una onda de desarrollo folicular ya sea primaria o secundaria, se estimula por el aumento en FSH (Ginther *et al.*, 2008). La FSH es la hormona responsable del reclutamiento de los folículos (13 mm de diámetro). Después de cuatro a cinco días, la concentración de FSH alcanza su valor máximo en sangre y

los dos folículos mayores alcanzan un diámetro promedio de 19 a 22 mm (Andrade-souza *et al.*, 2011).

2.3.2 Ovulación

La ovulación es el proceso fisiológico mediante el cual el folículo preovulatorio o de Graff con un diámetro >de 35 mm, expulsa al óvulo y, en la yegua, ocurre entre las 24 a 48 horas antes de finalizar el celo. En esta etapa, el folículo adquiere la forma de pera debido a que se deforma y reduce su turgencia para aproximarse a la fosa de ovulación. Este sitio corresponde al espacio del ovario libera al ovocito; aproximadamente 24 a 12 horas antes de la ovulación. Las yeguas ovulan consistentemente al mismo diámetro folicular en los ciclos consecutivos (Ginther, 1993; Cuervo-Arango y Newcombe, 2008).

La expulsión del ovulo, involucra la participación de un mecanismo endocrino, mecanismo celular y mecanismo físico, que participan de manera sincronizada para que la ovulación sea posible.

Mecanismo endocrino: En este mecanismo, se involucran un cambio en la concentración sanguínea de diversas hormonas como la prostaglandina F2 alfa, la progesterona, los estrógenos, la FSH y la LH. Durante la fase de diestro se desarrolla una onda de crecimiento folicular que culmina con la presencia de un folículo de Graff, con una alta concentración de estrógenos, los cuales provocan una retroalimentación negativa sobre la hipófisis, para reducir la liberación de FSH y evitar la presencia de más de un folículo dominante (Ginther *et al.*, 2005).

Adicionalmente, los estrógenos presentes en el folículo promueven la síntesis un mayor número de receptores a LH en las células de la teca interna y de la granulosa. Por otra parte, durante esta etapa del diestro, también existe la presencia de un CL que produce una cantidad elevada de P_4 , que afecta la liberación de LH, por ello, el endometrio uterino sintetiza, a partir del ácido araquidónico, a la $PGF_{2\alpha}$ cuya función primordial es provocar la lisis del CL, y con ello permitir la liberación de LH, hormona responsable de iniciar la cascada de eventos que culminaran con el rompimiento de la pared folicular y el óvulo pueda ser expulsado (Andrade-Souza *et al.*, 2011).

La Hormona Luteinizante, promueve a través de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (NOSe) la lisis de las células de la teca y de la granulosa del folículo de Graff. Adicionalmente, incrementa el flujo sanguíneo en la zona limítrofe al folículo y activa los péptidos vasoactivos [angiotensina II (Ang II), endotelina-1 (ET-1) y el péptido natriurético atrial (ANP)], que promueven la modulación del tono vascular de la circulación sistémica y elevan el flujo sanguíneo folicular que contribuye con el proceso de la ovulación al debilitar la fuerza de adhesión de las células de la teca interna y granulosa e incrementar la presión intrafolicular (Acosta *et al.*, 1999).

Mecanismo celular: La liberación de la LH, estimula la secreción de péptidos vasoactivos, uroquinasa, y promueve la liberación del factor de necrosis tumoral tipo alfa ($TNF-\alpha$) que, gradualmente, induce la codificación y expresión génica de las metaloproteinasas, de las cuales la colagenasa es la de mayor relevancia a nivel folicular, está puede contener un ion de zinc o cobalto unido a una enzima y su función primordial es remover el colágeno que mantiene unidas a las células de la

teca interna y de la granulosa, provocando con ello una remodelación tisular que se extiende hacia el ápice del folículo (fosa ovulatoria), y finaliza con la desintegración o apoptosis de la pared folicular (Murdoch y McDonnel, 2002), lo que lo que aunado a la presión provocada por el líquido folicular, contribuye a la ovulación, dejando en libertad al ovocito con el fluido folicular en la fosa de ovulación (Andrade-Souza *et al.*, 2011).

Para que pueda ocurrir la ruptura del colágeno es necesario que las células de la teca, dependientes de 9-ceto-PGE₂-reductasa, conviertan la PGE₂ en PGF_{2α} (Andrade-Souza *et al.*, 2011). Al hacerlo se induce la liberación del TNF-α que puede promover la transducción de señales apoptóticas. Las colagenasas, inducidas por el TNF-α, desorganizan la red de fibras de la teca y de la túnica albugínea ovárica (vía matriz metalo-proteinasa 1, MMP-1) promoviendo la degradación de la base de la membrana que sostiene el epitelio ovárico y de la granulosa (vía MMP-2). Además, la proteólisis y la remoción celular provocan un estrechamiento gradual de la pared ovárica, hecho que culmina con la posterior formación del estigma y la ruptura folicular (Murdoch y McDonnel, 2002).

Mecanismo físico, el ovario de la yegua es diferente al de otros mamíferos domésticos, debido a que la zona parenquimatosa (región epitelial inflamatoria que se romperá y dejará libre al ovocito) se localiza en el centro del ovario. Esta zona se encuentra rodeada por la zona vascular, que tiene aspecto de campana. El ovario de la yegua, comparada con otros mamíferos domésticos (oveja, cerda, vaca), tiene la zona vascular en la superficie de la gónada, esta zona rodea el margen

mesovárico. En el otro extremo del ovario hay una zona libre de vasos sanguíneos mayores, llamada fosa ovárica (*fossa ovarii*), que está cubierta por un epitelio germinativo (Liebich, 2010). En la fosa ovárica, el folículo maduro (folículo de Graaf) alcanza la superficie del ovario. En este lugar se desarrolla el estigma, que es donde tiene lugar la ovulación y se forma el cuerpo lúteo (König *et al.*, 2015; König *et al.*, 2017). El ovocito y la corona radiada caen en el oviducto y el líquido folicular a la cavidad abdominal. Las hormonas contenidas en el líquido antral se absorben y ejercen su acción en el proceso reproductivo. Las yeguas con dos folículos dominantes en un ciclo presentan doble ovulación, con 24 horas aproximadamente de intervalo, lo cual sucede en el 40% de los casos aproximadamente, y podría conducir a doble gestación (Bergfelt *et al.*, 1993; Li *et al.*, 2006; Ginther *et al.*, 2008).

2.3.3 Factores que pueden afectar la ovulación

En la yegua, es la prostaglandina G/H sintasa-2 (PGHS-2), también llamada ciclooxigenasa-2 (COX-2), la que se expresan en las células de la granulosa, 30 h después del inicio del incremento ovulatorio de LH, ayudando propiamente a la ovulación. La PGHS-2 es la primera enzima limitante en la biosíntesis de prostanoïdes a partir de ácido araquidónico, lo que significa que la ovulación puede ser inhibida en hembras con elevada concentración de LH y un folículo dominante >35 mm de diámetro, cuando se administran antiinflamatorios no esteroïdes, como el flunixin meglumine, que inhiben a la COX-2 y en consecuencia la síntesis de prostaglandinas (Sirois *et al.*, 1991; Cuervo-Arango *et al.*, 2011).

2.3.4 Formación de cuerpo lúteo (luteogénesis)

La secreción de LH previa a la ovulación, además de provocar la ruptura folicular, luteiniza (proceso de formación del cuerpo lúteo) las células de la granulosa para constituir el cuerpo lúteo, esto debido a que la luteinización de las células de la granulosa permite que el cuerpo lúteo conserva la misma forma que tenía el folículo antes de la ovulación, en forma de pera, las células grandes producen progesterona, estas hormonas actúan a través de sus receptores celulares específicos para la producción de progesterona (Kimura *et al.*, 2005).

Para la formación del cuerpo lúteo se necesita un efecto llamado luteotrópico de la LH, este se realiza a través de la trayectoria de la señal-transducción PKA y MAPK con el incremento en la fosforilación de la proteína StAR (por sus siglas en inglés: steroid acute regulatory protein), esta a su vez fosforilada incrementa en forma aguda el transporte de colesterol, a través de la membrana de la mitocondria, para que en ella actúe la enzima de desdoblamiento de la cadena lateral citocromo P450; la enzima limitante en la síntesis de progesterona. La secreción de esta hormona (Figura 3) empieza en el momento de la ovulación y se incrementa gradualmente hasta alcanzar su mayor concentración en la circulación sanguínea (12.8 ng/ml) en el día 8 del ciclo, posteriormente se reduce ligeramente hasta la regresión del cuerpo lúteo o luteólisis, esto último sucede alrededor del día 14 (Roberto-Dacosta, 2005; Ginther *et al.*, 2007). Esta se mantiene hasta los 8 a 14 días del ciclo donde hay una ligera reducción por la falta de apoyo hormonal de la LH y a la secreción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ a este proceso se le llama preluteolítico, en la mayoría de las

yeguas (67%) se presentan de 2 a 3 pulsos de poca amplitud (≈ 45 pg/ml), a intervalos de 8 horas de prostaglandina $F_{2\alpha}$ en el período preluteolítico (Ginther *et al.*, 2011).

La progesterona se incrementa paulatinamente después de la ovulación por la formación del cuerpo lúteo y ejerce retroalimentación negativa sobre la LH, entonces si se incrementa el nivel de progesterona se reduce la secreción de LH, esto pasa igual durante el desarrollo folicular, también ejerce esa presión negativa sobre la FSH (Jacob *et al.*, 2009).

La progesterona tiene un efecto importante en el endometrio a activar sus glándulas secretoras hecho que prepara al útero para la gestación, por lo tanto, antes de mencionar que la hormona progesterona mantiene la gestación, primero debemos decir que es la encargada de aclimatar el útero para la implantación embrionaria. También inhibe la contractura del miometrio y tiene retroalimentación negativa sobre GnRH y así inhibe el comportamiento del estro. La concentración de progesterona es fluctuante, algunos autores reportan diferentes concentraciones, pero coinciden en que si se tiene un valor ≥ 4 ng/ml se considera suficiente para mantener la gestación (Slough *et al.*, 2011).

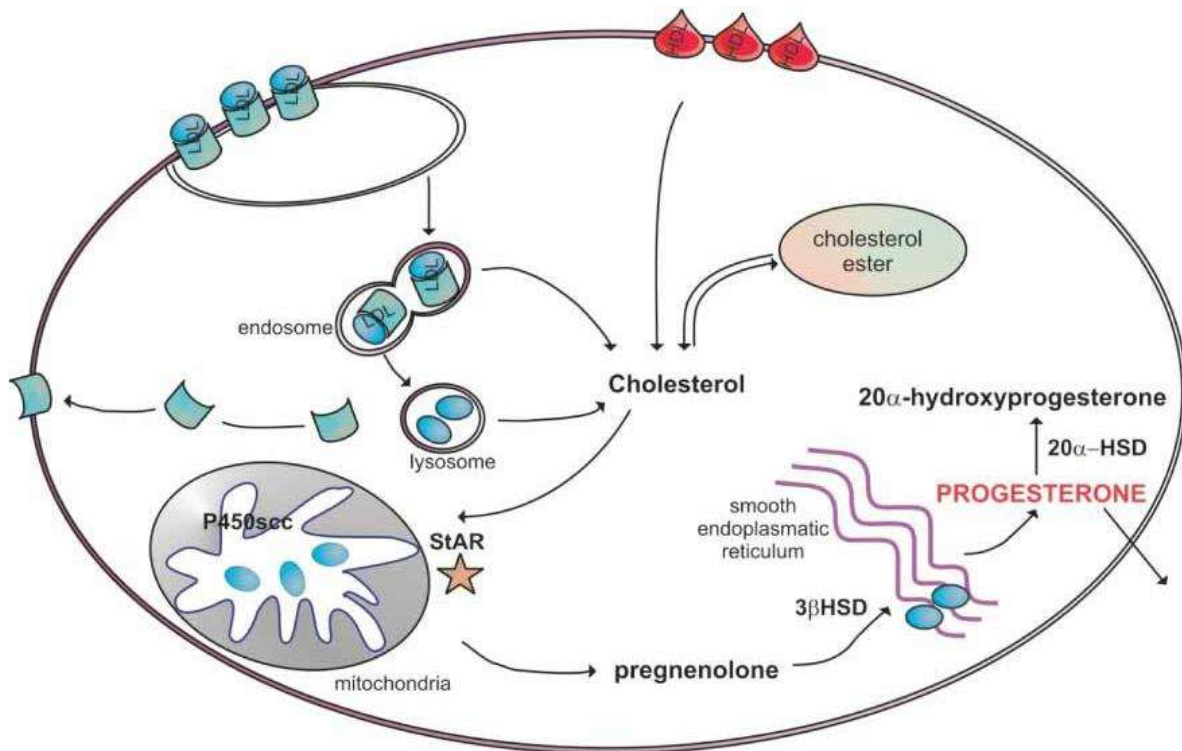


Figura 3. Proceso de síntesis de progesterona (Cortés-Vidauri *et al.*, 2018).

2.3.5 Regresión del cuerpo lúteo (Luteólisis)

La luteólisis es la regresión fisiológica del cuerpo lúteo, en caso de que exista la fecundación y por ende, una detección embrionaria, lo que permite la síntesis endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$ a partir del ácido araquidónico, que se manifiesta por una reducción en la concentración sanguínea de progesterona a menos de 1 ng/ml, siendo posible observar una pre-luteólisis (del día 8 al 14 del ciclo) y con un pulso de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ de ≈ 45 pg/ml se da la transición de pre-luteólisis a luteólisis, por último viene la post-luteólisis con concentraciones ≤ 0.9 ng/ml de progesterona (Ginther y Beg, 2012).

Aunque la prostaglandina $F_{2\alpha}$ es la responsable directa de la lisis del CL, en su síntesis participan otras hormonas la oxitocina. La oxitocina se secreta simultáneamente con cada pulso de la luteólisis, entonces, su secreción también es pulsante, por lo tanto, la oxitocina es considerada, estimuladora de la secreción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ y participa en la luteólisis. La oxitocina se sintetiza en el núcleo supraóptico y paraventricular del hipotálamo y se almacena en el lóbulo posterior de la hipófisis o neurohipófisis. No se produce en el cuerpo lúteo como sucede en rumiantes, pero en la yegua también se sintetiza en el endometrio (Swann *et al.*, 1984; Cortés-Vidauri *et al.*, 2018).

Durante la regresión del cuerpo lúteo, el flujo sanguíneo es disminuido y se presenta infiltración de leucocitos, disrupción celular y pérdida de la capacidad esteroidogénica de las células lúteas, para la lisis del cuerpo lúteo, y obviamente la secreción de progesterona (Ginther y Beg, 2011).

2.4 Fertilidad en la yegua

La fertilidad es la capacidad de la especie para procrear descendencia, en la yegua la fertilidad ideal se considera cuando es superior al 90.0% (Samper *et al.*, 2007); sin embargo, la fertilidad puede verse afectada por diversos factores como posición geográfica de las yeguas (Katila *et al.*, 2010). Al respecto, en Finlandia, se reportó una fertilidad de 72% (Allen *et al.*, 2007), en Inglaterra fue de 63% y Australia fue de 83% (Brück *et al.*, 1993); mientras que en USA se reportó un 57.1% en yeguas ferales (Keiper y Houpt, 1984) y un 75.2% en yeguas estabuladas (Barbacini *et al.*, 1999). En México las estadísticas reportan una gestación que va del 20% (Fernández-Reyes, 2008) al (50%) (Cortes-Vidauri *et al.*, 2018). Es posible que la tasa de gestación asociada a la ubicación geográfica este íntimamente relacionada con el fotoperiodo y la activación del eje hipotálamo hipófisis gónadas (Lincoln, 1984).

La edad también puede influir sobre la tasa de gestación. Algunos estudios han reportado una tasa gestación yeguas jóvenes (3-9 años) sanas que oscila entre el 50-60% en cruza con semental fértil, mientras que en la yegua geriatra (12-17años) es de 30-40% (McCue, 2010).

En contraste, en México se reportan índices de fertilidad de solo un 20 % en yeguas de raza cuarto de milla del valle centro de México (Fernández-Reyes, 2008), lo cual denota un problema real que afecta la reproducción equina. Las posibles causas de dicha fertilidad están relacionadas con la posible incidencia de patologías

reproductivas como la presencia de folículos hemorrágicos anovulatorios (HAF's, por sus siglas en inglés haemorrhagic anovulatory follicles). Sin embargo, cualquiera que sea la causa de la infertilidad en las yeguas mexicanas debe atenderse de la mejor manera, promoviendo nuevas investigaciones al respecto que nos den valores actualizados y que describan las fallas más comunes en la fertilidad de la yegua, así como sus posibles soluciones.

2.4.1 Folículos anovulatorios

Los folículos anovulatorios persistentes en las yeguas se definen como la estructura ovárica folicular que no logra la ovulación, lo cual implica la retención del ovocito (McCue, 2000; Suárez *et al.*, 2017). Éstos se manifiestan en presencia de folículos de 50.9 ± 11.2 milímetros de diámetro folicular deteniendo su ruptura hacia la fosa ovulatoria y teniendo matices ecoicos por presencia de sangre en el líquido antral (McCue y Squires, 2002). Durante el inicio y finalización de la temporada reproductiva en la yegua se tiene registro de estos, además que causan poco control del crecimiento folicular (Davies-Morel *et al.*, 2010).

Con la presencia de folículos anovulatorios también llamados folículos hemorrágicos anovulatorios (HAF's por sus siglas en inglés), la yegua manifiesta signos típicos del estro de manera repetida y prolongada; sin embargo; no logra liberar el ovocito por lo cual no existirá gestación. Se tiene reporte que dichos folículos anovulatorios afectan negativamente la tasa de ovulación (Gerard & Robin, 2019).

En la mayoría de las yeguas los folículos anovulatorios no se transforman en estructuras lúteas y, por ende, no producirán progesterona. Los HAF's no suelen responder a la aplicación parenteral de prostaglandinas. En general estas estructuras son pasajeras, por lo cual desaparecerán en las tres semanas posteriores a su aparición, en algunos casos se reportan segundos folículos dominantes secundarios que son ovulatorios, lo cual ayuda a la desaparición de los anovulatorios persistentes (McCue, 2000). Los HAF's son comunes en yeguas de edad avanzada; sin embargo, están sujetos a presentarse durante el inicio de actividad gonadal y también están presentes en hembras púberes, estas tienen reportes de repetición del 50% durante la fase folicular tardía de la estación reproductiva (Cuervo *et al.*, 2009). Respecto al origen de los HAF's aún se desconoce su origen exacto, pero se considera que son resultado de ondas ovulatorias espontáneas al haber sido inducidas y resultando una mayor incidencia 24% de estas estructuras (Ginther *et al.*, 2008).

Otra causa puede ser asociado al uso inadecuado de hormonas inductoras de la ovulación (hCG y Deslorelina), a algunas anomalías cromosómicas y a un estrés nutricional (McCue, 2000; McCue y Squires, 2002). La aparición espontánea de un cuerpo lúteo interfiriendo con la adecuada liberación de prostaglandinas y su prolongación aumentando el periodo lúteo también puede dar origen a un folículo luteinizante anovulatorio (Samper *et al.*, 2007).

2.4.2. Incidencia de HAF's

Estudios previos (McCue y Squires, 2002), reportaron que, en USA, hubo una incidencia de HAF's de 8.2% en 1694 ciclos estrales estudiados. En otros estudios, como los realizados por Ginther *et al.* (2008), se reportó una incidencia de 5% al inicio y de hasta un 24% al término de la temporada reproductiva, lo que puede afectar la tasa de gestación y, en consecuencia, un menor número de crías al final de la gestación.

Los HAF's tienen una incidencia marcada, en un estudio hecho a 7 yeguas durante 10 años y un total de 612 ciclos estrales se determinó que el 85.7% de las yeguas (6/7) manifestaron HAF's durante el estudio, con una recurrencia del 100% durante su vida reproductiva (Cuervo-Arango y Newcombe 2010). La incidencia en yeguas de entre 6 y 10 años es de un 13.1% y un 50% de reincidencia durante la misma etapa reproductiva (McCue y Squires, 2002; Love, 2002). En estudios previos se reportó una incidencia de HAF's en yeguas miniatura o ponys de 5% (Ginther, 2009; Cuervo *et al.*, 2010; Davies-Morel *et al.*, 2010).

2.5. Tratamientos inductores de ovulación

En medicina, la palabra tratamiento o terapia viene del latín *therapīa*, y este a su vez del griego clásico *θεραπεία*, *therapeia*, que significa cuidado. Se define como el conjunto de hechos o acciones que se aplican con la finalidad de curar o aliviar patologías, signos o síntomas (Diccionario de la Real Academia Nacional de Medicina de Madrid, 2012)

En el área de la reproducción animal, y en particular en las yeguas, algunas patologías ováricas o uterinas, pueden ser tratadas con hormonas, ya sean naturales o sintéticas, en administración generalmente, parenteral, por ello es necesario conocer la etiología y poder aplicar el tratamiento que resulte de mayor beneficio para mejorar la eficiencia reproductiva en esta especie (MacCue, 2000).

Las hormonas son proteínas con función específica segregadas como sustancias químicas por las glándulas endocrinas del organismo, aunque también las hay del tipo sintético que se desarrollan en laboratorios a través del cambio de moléculas para lograr un efecto en determinado órgano o tejido siendo este su célula blanco o célula diana (Ginther, *et al.*, 2009; Suárez, *et al.*, 2017).

Entre las hormonas más utilizadas se encuentran: (1) Gonadotropina coriónica humana (hCG), con resultados de 88.3% de ovulación dentro de las primeras 48 horas de aplicada (McCue *et al.*, 2007) y (2) Acetato de deslorelina (análogo de GnRH) con 90.1% de ovulación durante las primeras 48 horas (McCue *et al.*, 2007).

Finan *et al.* (2016), determinaron que la utilización de deslorelina en folículos de tamaño ≥ 30 mm mostraron una respuesta significativa 93.75% de ovulación.

Estudios previos (Figueiredo *et al.*, 2011), demostraron que tanto la hCG y el acetato de deslorelina, influyen positivamente la fertilidad, observando una gestación de 80% y 75 % cuando las yeguas fueron tratadas con deslorelina y hCG, respectivamente. Respecto a la ovulación; en el grupo tratado con la deslorelina se observó nueve horas antes que en yeguas tratadas con hCG (36.6 ± 7.0 vs 45.6 ± 14.9 , respectivamente), sin que las diferencias observadas entre ambos tratamientos no fueron significativas.

Es posible que la mejor respuesta observada con la aplicación de la deslorelina (1339.48 dalton) en comparación con la hCG, esté relacionada con el peso molecular alto de esta última (36 000 a 40 000 daltons) y que influya en la yegua promoviendo la generación de anticuerpos en contra de esta hormona, otorgando una menor confiabilidad en la segunda aplicación para inducción del proceso de ovulación y una nula acción después de la tercera dosis consecutiva, aunque la disponibilidad comercial de la hCG es mayor en México, su viabilidad con respecto a la deslorelina no justifica su uso.

Aunque aparentemente ambas hormonas (acetato de deslorelina y hCG) se comportaron de manera similar en cuanto a la tasa de fertilidad y tiempo de ovulación, es preciso considerar que el elevado peso molecular que varía entre 36 000 a 40 000 dalton de la hCG, pueda limitar la aplicación continua, como

coadyuvante para mejorar la eficiencia reproductiva en yeguas, debido a que su peso molecular y su mayor contenido de ácido siálico, puede promover la formación de anticuerpos, que limiten su actividad biológica (Velázquez, 2014).

2.5.1. Hormona Luteinizante recombinante

La hormona luteinizante recombinante (rLH) tiene una eficacia de > 80% sobre la tasa de ovulación (Samper, 2008), cuando se utiliza apropiadamente durante el ciclo estral. No obstante, su uso es limitado debido a su reducida disponibilidad.

La mayoría de las investigaciones sobre el manejo reproductivo de las yeguas se centra en el uso de prostaglandinas (Zamudio, 2005; Fragoso, 2007) y hCG (Yoon, 2012), así como en el GnRH y sus análogos (Barrier-Battut *et al.*, 2001; Camillo *et al.*, 2004). Existen nuevos tratamientos hormonales disponibles (McKinon, 2009), como la hormona acetato de deslorelina, un análogo superagonista de la GnRH, que se usa para reducir el tiempo de ovulación y aumentar la fertilidad. Varias investigaciones señalan en de 55 a 60% en USA (Blanchar *et al.*, 2002; Sauberli, 2013), 84.8% en Australia (Finan *et al.*, 2016) y 75.2% en Brasil (Melo *et al.*, 2012).

2.5.2. Hormona Acetato de deslorelina

La hormona deslorelina o acetato de deslorelina (Figura 4) es una hormona análoga de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Esta hormona es un ácido acético con una densidad de $1.48 \pm 0.1 \text{ g cm}^3$ y un pka de 9.82 ± 0.15 . sus sinónimos son: H 4065; Deslorelin, H 4065, >99%;(d-trp(sub6)-pro(sup9)-net)-gnrh;(d-

trp(sub6)-pro(sup9)-net)-gonadotropinreleasinghormone; (d-trp(sup6)-pro(sup9))-
lhrhethylamide; (d-trp(sup6)-pro(sup9))-luteinizinghormone-
releasinghormoneethylamide;(d-trp(sup6)-pro(sup9)-net)-
gonadotropinreleasinghormon;bachem9022

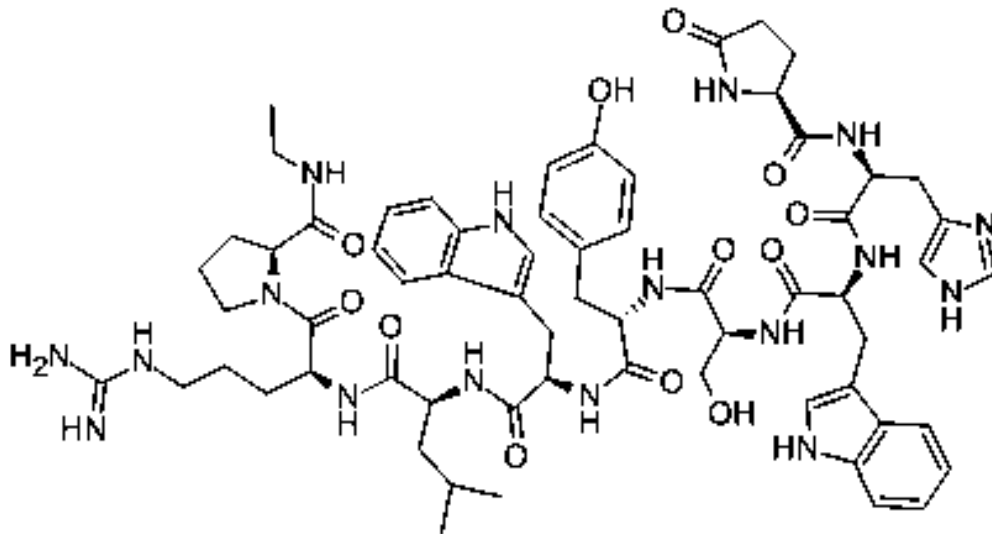


Figura 4. Estructura química de la hormona acetato de deslorelina.

La deslorelina está aprobada para inducir la ovulación en yeguas según la FDA Se le utiliza como anticonceptivo reversible a largo plazo en una variedad de especies animales, como tratamiento para la enfermedad prostática en perros machos y la incontinencia en perras ovariectomizadas, así como en la insuficiencia de la glándula adrenal en hurones. En humanos, se le utiliza para tratar a niños con pubertad precoz, y en adultos para carcinoma de próstata, dismenorrea, fibromas y endometriosis (Romagnoli *et al.*, 2009; Chávez *et al.*, 2018).

2.5.2. Hormona Gonadotropina Coriónica humana (hCG)

La hormona hCG (Figura 5) es una glucoproteína con función similar a la hormona luteinizante, se sintetizada en los tejidos embrionarios y está constituida por dos cadenas de aminoácidos denominadas alfa (α) y beta (β); ambas están unidas no covalentemente por un puente sulfídrico, que al ser separadas pierden su función biológica al ninguna tiene actividad por sí misma. Su secreción está relacionada a la masa de tejido trofoblástico, siendo correlacionada con la extensión trofoblástica (Velázquez, 2014).

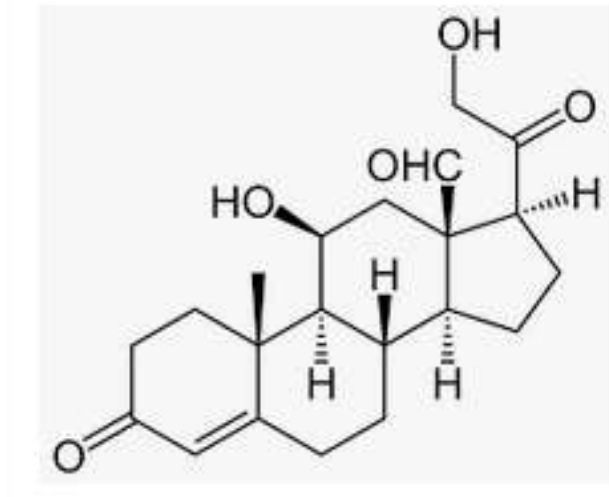


Figura 5. Estructura química de la hormona gonadotropina coriónica humana.

El uso de la hCG, como agente inductor de ovulación en yeguas, se remonta a los años 30's (Day, 1939), desde entonces se han desarrollado diversos estudios en su vía de aplicación (endovenosa o intramuscular) o en la dosis utilizada (1000 hasta 4000 UI) vía. Sin embargo, por su naturaleza glucoproteína y de alto peso molecular (36 a 40 mil dáltones), la aplicación repetida de hCG puede estimular la producción de anticuerpos contra la hormona, lo que significa entonces que, en

administraciones posteriores, la hormona tendría un efecto de antígeno, siendo neutralizada por los anticuerpos por lo que su actividad biológica sería nula (Sullivan *et al.*, 1973).

2.6. Nutrición en la reproducción

La nutrición de las yeguas es importante en la reproducción, ya que si la nutrición está limitada o adolece de un adecuado manejo la yegua no será capaz de establecer y mantener la gestación. Normalmente, las yeguas que, al inicio de temporada reproductiva se encuentran con un buen estado corporal, dan origen a ciclos estrales regulares en forma temprana e incrementan las tasas de gestación. En cambio, las que tienen una condición corporal menor aumentan sus probabilidades de disminuir su rendimiento reproductivo (Henneke *et al.*, 1984).

La yegua requiere ser alimentada para cubrir sus requerimientos nutricionales con alimento del 8-10% de su peso vivo manteniendo una relación mayor en forraje que concentrado dependiendo de su actividad física y fin zootécnico (Van Niekerk, 1997); sin embargo, los requerimientos particulares en macro o microelementos en la especie equina, son variables dado que dependen de la edad, altura, peso, fin zootécnico, actividad física, entre otros aspectos que limitan estandarizar requerimientos específicos para la yegua, por ello, una forma práctica y aceptada a nivel mundial, es evaluar la condición corporal de la yegua. En este sentido, se hace uso de la escala de Henneke (1984) utilizada en caballos cuartos de milla y caballos livianos (Tabla 1), donde 1 es caquéxico y 9 es muy obeso, pero para la reproducción la condición corporal ideal en la yegua se encuentra entre 5 (moderado) y 6 (moderadamente gordo) puntos.

Tabla 1. Escala de condición corporal del caballo (Henneke, 1984).

1	Caquéxico	Costillas, raíz de la cola, tuberosidad coxal e isquiática muy prominentes, estructuras óseas, cruz, hombro, cuello demasiado notable, se palpan tejidos sin grasa
2	Muy delgado	La base de las vértebras y apófisis transversas y lumbares se palpan redondeadas, costillas, raíz de la cola, tuberosidad coxal e isquiática prominentes, cruz, hombros muy distinguibles.
3	Delgado	Grasa entre las protuberancias de las vértebras; las apófisis transversas no se palpan, tiene cobertura de grasa sobre las costillas; la tuberosidad isquiática no se distingue; la cruz, los hombros y el cuello acentuado
4	Moderadamente delgado	Costillas débilmente distinguibles, raíz de la cola prominente. La tuberosidad coxal no es distinguible, cruz, hombro y cuello no están descarnados.
5	Moderado	Lomo aplanado, las costillas no se distinguen, pero se palpan, puede notarse grasa alrededor de la cola principalmente, la cruz aparece redondeada, el hombro y el cuello están fusionados uniformemente.
6	Moderadamente gordo	Grasa sobre las costillas, grasa blanda alrededor de la raíz de la cola; depósito de grasa principalmente a los lados de la cruz, detrás de los hombros y a lo largo del cuello
7	Gordo	Posibles pliegues en el lomo; las costillas se pueden palpar individualmente, pero se nota que entre ellas hay acumulo de grasa, hay grasa alrededor de la base de la cola; se encuentran depósitos de grasa a lo largo de la cruz, hombros y cuello.
8	Obeso	Arrugas bajo el lomo, dificultad para palpar las costillas, grasa muy blanda alrededor de la raíz de la cola, el área alrededor de la cruz está llena de grasa, también detrás del hombro; hay notable engrosamiento del cuello, grasa depositada a lo largo de la cara interna del muslo.
9	Muy obseso	Arrugas bajo el lomo, aparecen parches de grasa sobre las costillas, prominencia alrededor de la raíz de la cola, a lo largo de la cruz, detrás del lomo, y a lo largo del cuello, grasa a lo largo de la cara interna de los muslos que pueden friccionarse continuamente, flancos llenos de grasa.

III. JUSTIFICACIÓN

La infertilidad de la yegua representa pérdidas económicas en el sector ecuestre cada año (Ebert y Riese, 1986, Coutinho da Silva, 2008, Barker, 2020). Si bien, la infertilidad puede ser provocada diversos factores, tales como un mal estado nutricional, el estrés constante provocado por malas condiciones de manejo y alojamiento, entre otras que pueden afectar la capacidad de ovulación o rompimiento folicular, lo que limita la capacidad para la fertilización y el no establecimiento de la gestación. (Ginther *et al.*, 2004).

Dentro de las patologías más comunes de la ovulación se encuentran el hematoma ovárico que es resultado de una hemorragia excesiva post ovulación y los folículos anovulatorios, también llamados folículos hemorrágicos anovulatorios (HAF's) o folículos luteinizados sin romper (LUF) (McCue, 2000; Cuervo-Arango y Newcombe, 2012).

Los folículos anovulatorios (HAF's) comprenden el 80% de las fallas de la ovulación en las yeguas (McCue, 2000) y representan una de las causas más frecuentes e infertilidad temporal en la yegua, por ello es indispensable buscar una alternativa para eficientizar la reproducción de la yegua disminuyendo su incidencia y determinando una estrategia de tratamiento hacia el problema que represente una disminución a las pérdidas económicas en el sector ecuestre (McCue, 2000).

La mayor incidencia de HAF's de yeguas ocurre entre los 6 y 10 años (13.1%) de edad, edad en la que dependiendo el fin zootécnico del ejemplar inicia su etapa

reproductiva, en base en lo anterior planteado, se requiere, una estrategia para mejorar la reproducción asistida en dichas yeguas, garantizando así una vida reproductiva más prolongada y eficiente.

En México se desconoce, la incidencia de los HAF's, quizá porque en la práctica clínica, los casos se atienden como se presentan, con diferentes tipos de productos que pueden no ser los adecuados para tratar el problema reproductivo asociado a una falla en la ovulación, por ello es necesario poner de manifiesto la incidencia del problema y plantear estrategias de tratamiento que permitan incrementar el porcentaje de yeguas gestantes durante el año.

Existen diferentes tratamientos para la inducción de la ovulación; sin embargo, en base a los resultados obtenidos por múltiples autores (Ginther *et al.*, 2008; Lanna *et al.*, 2010), se plantea que la mejor alternativa para la inducción a la ovulación, tratando así por consecuente a los HAF's, están relacionados con los análogos de la GnRH, como es el acetato de deslorelina, el cual, una vez administrado, tiene un efecto sobre los gonadótropos de la hipófisis, estimulando la síntesis y por ende la liberación de la Hormona Luteinizante.

3.1 Problema de investigación

La presencia de los folículos anovulatorios, también llamados folículos hemorrágicos persistentes, representan un factor que limita la fertilidad de la yegua lo que provoca una reducción en el porcentaje de concepción y tasa de parición en las cuadras de caballos, disminuyendo el número de crías destinados a las

diferentes funciones zootecnicas. Por esta razón en el presente documento se evalúa el efecto del acetato de deslorelina, un análogo sintético de la GnRH, como tratamiento de folículos hemorrágicos anovulatorios, tasa de ovulación, tiempo de ovulación, crecimiento folicular diario, así como la tasa de gestación en yeguas criollas del estado de Michoacán.

3.2 Pregunta central de investigación

¿La administración de la hormona acetato de deslorelina, será eficaz como tratamiento de los folículos hemorrágicos anovulatorios para inducir a la ovulación y mejorar algunos indicadores reproductivos en yeguas criollas del estado de Michoacán?

3.3 Hipótesis

La aplicación de la hormona acetato de deslorelina a yeguas criollas en el estado de Michoacán reduce la presencia de folículos anovulatorios, mejorando la tasa de ovulación y fertilidad.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la respuesta reproductiva en yeguas criollas del estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina.

4.2. Objetivos específicos

1. Evaluar la incidencia de folículos anovulatorios en yeguas criollas del estado de Michoacán.
2. Evaluar el efecto de la aplicación del acetato de deslorelina sobre la eficiencia reproductiva de yeguas criollas en el estado de Michoacán.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El presente estudio se realizó en la comunidad de Santa Clara de Valladares perteneciente al municipio de Tocumbo (Figura 6) en el estado de Michoacán localizado al Oeste del estado, en las coordenadas geográficas 102°31'19" de longitud oeste y 19°42'10" de latitud norte y una altitud de 1604 msnm, una precipitación pluvial promedio de 800 - 1300 mm por año, con clima subhúmedo con lluvias en verano, y una temperatura que oscila entre los 16 – 26°C. Limita al norte con Villamar, al noreste con Tingüindín, al este y sur con Los Reyes, y al oeste con el Estado de Jalisco. Su distancia a la capital del Estado es de 196 km (INEGI, 2009, INAFED, 2010)

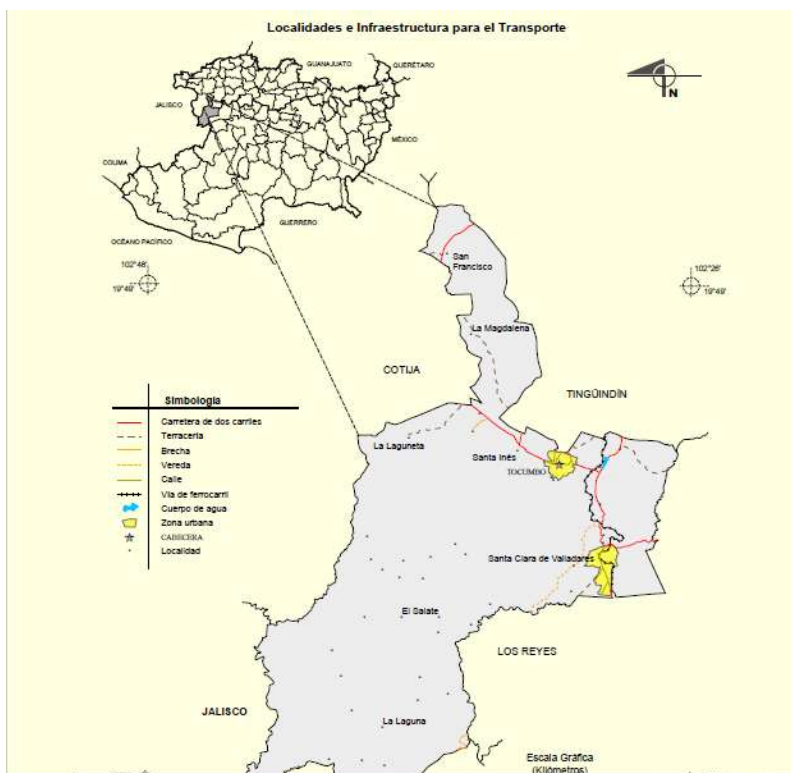


Figura 6. Mapa de la localidad de santa clara Tocumbo Michoacán (INEGI, 2009).

5.2 Animales

En el estudio se utilizaron 10 yeguas criollas, las cuales tenían una edad entre 3 y 11 años, un peso vivo que osciló entre 350 a 450 kilogramos, alzada a la cruz entre de 1.55 - 1.65 metros y una condición corporal de 4 a 6 puntos en la escala de Henneke (1984), ninguna de ellas estaba amamantando y tampoco tenían historial de problemas reproductivos previos.

Las yeguas fueron alimentadas con una misma dieta, tomando como base el 8% del peso vivo de la hembra, considerando una concentración de 80:20, de forraje, concentrado, respectivamente. El forraje fue heno de avena y el alimento comercial jornalero de manzana de la marca el nogal como concentrado.

5.3 Tratamientos hormonales

Antes de iniciar el procedimiento experimental, las yeguas fueron sometidas a una revisión ecográfica diagnóstica con un equipo de ultrasonido transrectal de 7.5 MHz para conocer su estado reproductivo, ovárico y uterino. Todas las hembras fueron tratadas con una dosis de 5 ml de prostaglandina (PGF_{2α} Lutalyse, Zoetis NZ), para sincronizar el ciclo estral mediante la lisis del cuerpo lúteo, e iniciar el desarrollo de la fase folicular en un mismo tiempo y obtener condiciones ováricas homogéneas. Posteriormente, las hembras fueron distribuidas en dos grupos: Grupo control (GC n=5) el cual recibió la aplicación, por vía intramuscular (im) de 1 ml de agua destilada como placebo y el grupo experimental (Gdes; n=5) el cual recibió la aplicación, i.m., de 1.5 mg de la hormona clorhidrato de deslorelina. En ambos grupos, la aplicación

del placebo o la hormona se realizó cuando el folículo dominante alcanzó un diámetro ≥ 35 mm.

Cuando las hembras de ambos grupos, una vez ocurrida la ovulación se encontraban en la fase lútea y con la presencia de un cuerpo lúteo funcional (día 9 del ciclo estral) recibieron una dosis de 2 ml por vía i.m., de prostaglandina natural Dinoprost (Prostaglandina $PGF_{2\alpha}$, Lutalyse, Zoetis NZ) con la intención de dar continuidad al desarrollo folicular.

5.4 Revisión ovárica

La revisión ovárica de las yeguas de ambos grupos se realizó con un ultrasonido (US) de 7.5 Mhz (Sonoescape S23, USA), a intervalos de 24 h para determinar la tasa de crecimiento folicular por día y previo al momento de la ovulación la revisión se realizó a intervalos de 6 h.

La **incidencia de folículos hemorrágicos anovulatorios (%)** se estableció cuando a la observación con el US, un folículo mostraba signos de hemorragia interna formado el estigma folicular, pero sin que la ovulación tuviera lugar.

Para evaluar la eficiencia reproductiva se incluyeron, el crecimiento folicular por día, diámetro folicular a la ovulación, tiempo a la ovulación después de la aplicación de la hormona y la tasa de ovulación y fertilidad general.

El **crecimiento folicular por día (mm)** se evaluó colocando el cursor del US en forma de cruz desde los bordes superior e inferior y derecho e izquierdo de cada

folículo ≥ 35 mm para registrar el diámetro en cada día de evaluación, el crecimiento folicular por día se calculó, restando el diámetro actual al del día previo.

Una vez que se observó el estigma en el folículo de Graff, la revisión ecográfica se realizó a intervalos de 6 h, registrando en una bitácora de trabajo el **diámetro a la ovulación** (mm) y el **tiempo de ovulación** (h) fue considerado como el tiempo transcurrido entre la aplicación de la hormona hasta el rompimiento folicular y se determinó cuando se observó la fosa ovulatoria acompañada de la presencia de cuerpos hemorrágicos y con la aparición de uno o más cuerpos lúteos.

Por otra parte, la **tasa de ovulación** (%), fue considerada como número total de folículos lograron la ovulación en cada uno de los ciclos estrales evaluados en las yeguas de ambos grupos, multiplicado por 100 y dividido entre el número de folículos dominantes que desarrollaron sobre la superficie del ovario

El edema uterino fue evaluado de acuerdo con la escala de Samper (1997), en escala de 0 a 5 (Tabla 2)

Tabla 2. Grados de edema uterino en la yegua (Samper, 1997).

Puntaje	Descripción
0	Sin edema, eco textura homogénea.
1	Bajo nivel de edema uterino detectable.
2	Moderada cantidad de edema, principalmente en cuerpo uterino.
3	Edema obvio a través de todo el útero.
4	Máxima cantidad normal de edema en útero, a veces poca cantidad de fluido libre en lumen, mayor edema en cuerpo uterino.
5	Edema uterino anormal, irregular y desorganizado.

La fertilidad, correspondió al porcentaje de hembras gestantes; para ello las yeguas, al finalizar la evaluación del ciclo estral, fueron inseminadas con semen fresco proveniente de garañones de fertilidad probada. El diagnóstico de gestación se realizó mediante la observación, con ultrasonido, de la vesícula embrionaria en el día 16 después de la inseminación artificial.

5.5 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las variables dependientes tales como incidencia (%) de folículos anovulatorios y tasa de ovulación (%), fueron sometidos a una prueba de X^2 , en un cuadro de contingencia 2x2. Adicionalmente, para determinar si existió un efecto del tratamiento sobre la tasa de crecimiento folicular por día (mm), el diámetro folicular a la ovulación y tiempo (h) a la ovulación, los resultados se sometieron a una prueba de medidas repetidas en un modelo mixto, donde la yegua fue el efecto aleatorio, el tratamiento el efecto fijo y el ciclo estral de cada yegua fungió como medida repetida. La comparación entre tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey. El valor de significancia considerado fue $p < 0.05$ y todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico SAS (SAS, 2013).

VI. RESULTADOS

Los resultados encontrados para incidencia de folículos anovulatorios (Figura 7) fueron 25.58% (11/43 estros observados) en yeguas del grupo control respecto a las tratadas con acetato de deslorelina en las cuales se observó solamente el 5.8% (2/34 estros tratados), las diferencias observadas entre ambos grupos fueron estadísticamente significativas ($X^2=3.83$).

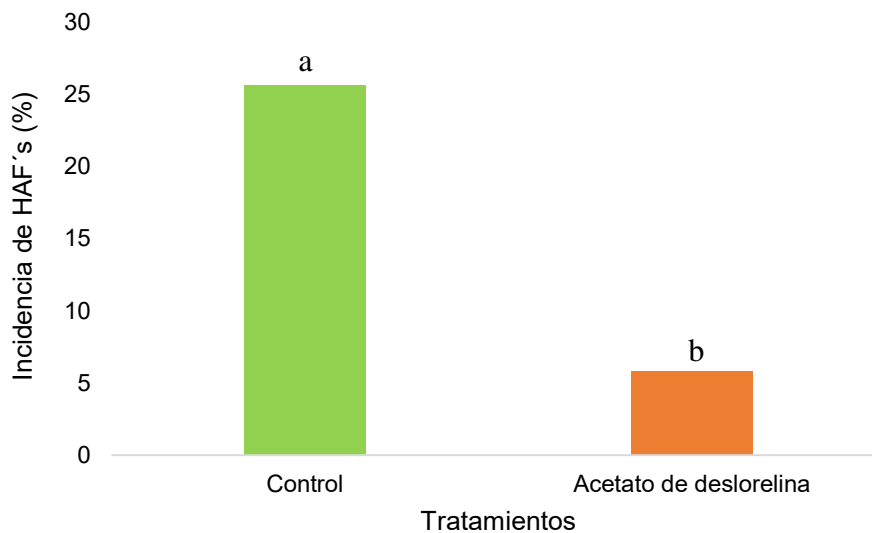


Figura 7. Incidencia (%) de folículos anovulatorios persistentes (HAF's) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($X^2= 3.83$). La letral sobre la barra indica diferencia significativa entre tratamientos.

Los resultados para el de crecimiento folicular diario en yeguas criollas del Estado de Michoacán (Figura 8) fue de 2.42 ± 0.16 mm para el grupo en tratamiento, en contraste en el grupo control el crecimiento fue de 2.15 ± 0.19 mm; sin que se observaran diferencias significativas ni por efecto del tratamiento ni en el ciclo estral ($p>0.05$).

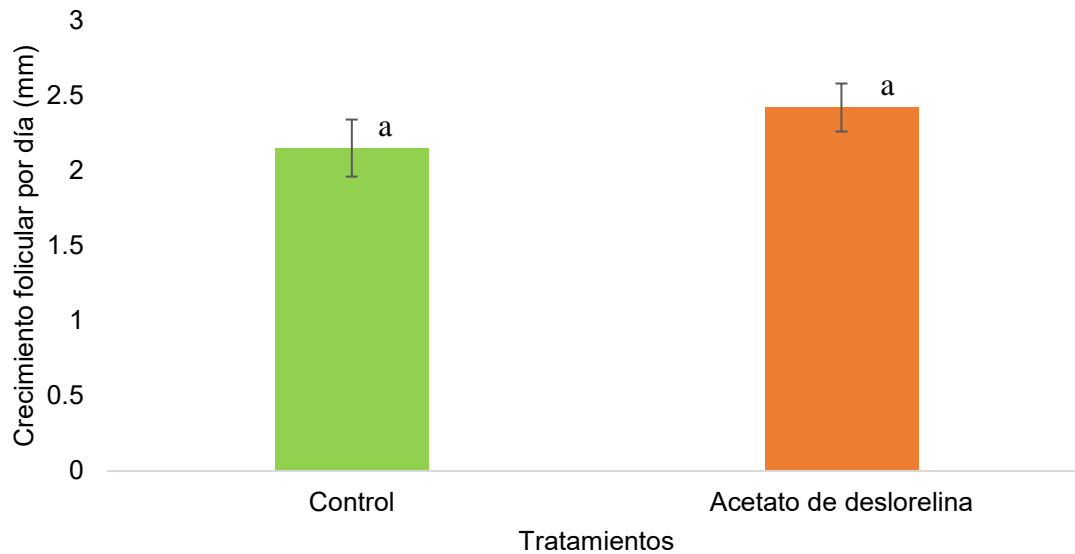


Figura 8. Crecimiento folicular por día (mm) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p > 0.05$).

Los resultados estadísticos obtenidos, no denotan diferencias significativas en el diámetro folicular a la ovulación ($p > 0.05$) encontrando un promedio folicular de 44.08 ± 0.63 mm y 44.94 ± 0.78 mm en yeguas sometidas a tratamiento hormonal y grupo control, respectivamente (Figura 9).

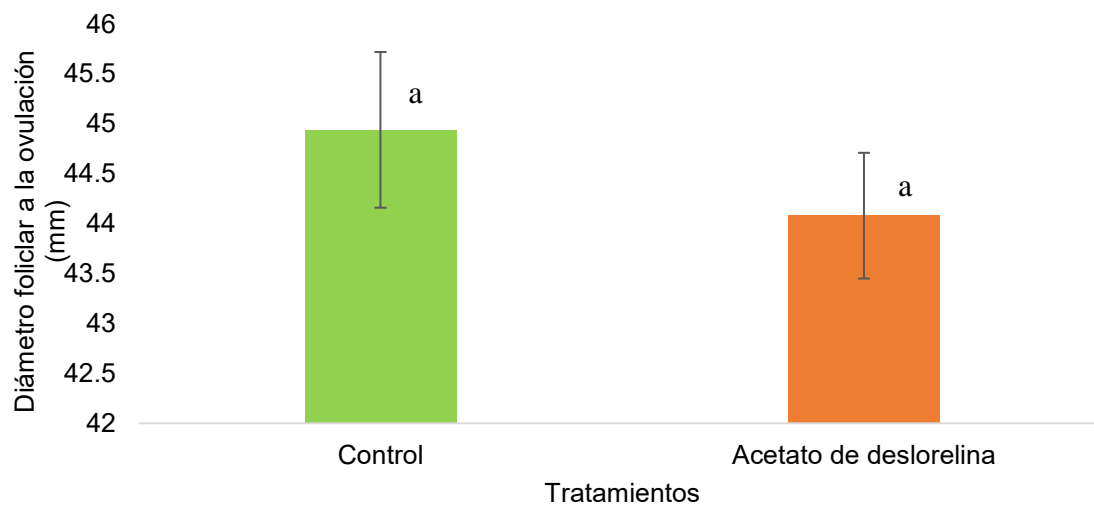


Figura 9. Diámetro (mm) folicular a la ovulación en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p > 0.05$).

Los resultados para el tiempo transcurrido en horas (Figura 10), desde la aplicación de la hormona con presencia de folículos ≥ 35 mm de diámetro hasta su ovulación, fueron de 39.45 ± 2.95 h para el tratamiento mientras que para el grupo control fueron de 89.47 ± 3.62 h. Las diferencias observadas entre ambos grupos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.01$).

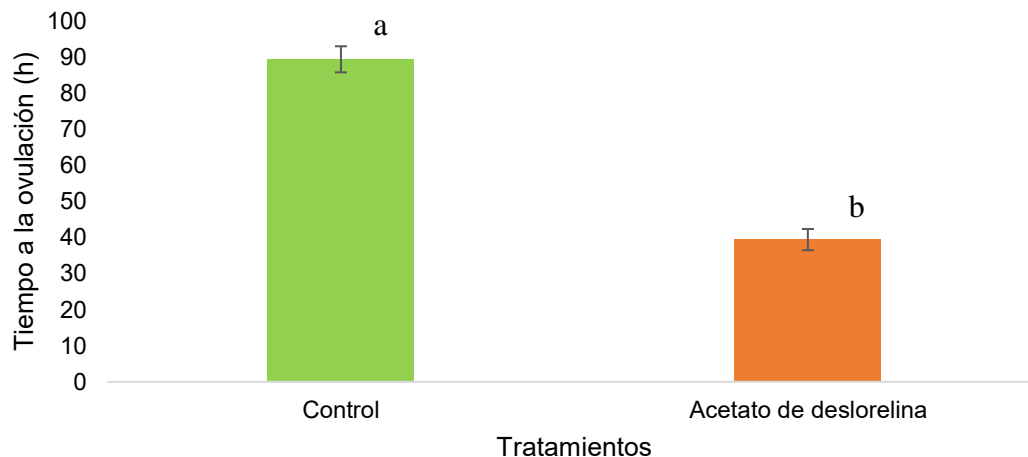


Figura 10. Tiempo a la ovulación (h) en yeguas criollas en el estado de Michoacán tratadas con acetato de deslorelina ($p < 0.01$).

Con base a los resultados encontrados en el presente estudio (Tabla 3) las yeguas tratadas con hormona acetato de deslorelina aplicada en presencia de diámetro folicular ≥ 35 milímetros, presentaron una tasa de ovulación fue de 94.11% (32/34 ciclos estrales), mientras que de manera natural fue de 74.41% (32/43 ciclos estrales observados), las ovulaciones fueron confirmadas con la presencia del cuerpo lúteo. En este sentido, se establece que la hormona afectó significativamente ($X^2=4.76$) por la tasa de ovulación.

Tabla 3. Relación entre el reporte de ciclos naturales y de hormona.

Reporte de ciclos			
Grupo control		Grupo acetato de deslorelina	
Total de folículos observados	Folículos ovulados	Total de folículos observados	Folículos ovulados
43	32 (74.41 %) ^a	34	32 (94.11%) ^b

La fertilidad en las yeguas servidas post ovulación inducida con la hormona fue de un 85.71% (6/7) del total de las yeguas al primer servicio.

VII. DISCUSIÓN

La incidencia de HAF's observada en el presente estudio, fue similar a lo reportado por Ginther *et al.* (2008), quienes observaron un 24% durante la temporada reproductiva en yeguas cuarto de milla americanas. En el mismo sentido, Lefranc y Allen (2003), observaron en la Universidad de Cambridge, una incidencia de HAFs 22.2 % en yeguas. Por el contrario, otros autores (Ginther y Pierson, 1989; McCue y Squirels, 2002) observaron una incidencia de HAF's menor al 10%, durante la temporada de transición. Otros estudios, como los realizados por Cuervo-Arango y Newcombe (2010), observaron un efecto de la edad sobre la incidencia de HAF's de 13.1% en yeguas de 6-10 años; mientras que, en yeguas mayores de 10 años, la incidencia fue del 24%.

Existen diversos factores de riesgo que pueden predisponer la formación de folículos anovulatorios persistentes, tales como el momento en la temporada reproductiva, la edad y la utilización de sustancias exógenas y hormonales (Ginther *et al.*, 2008).

La yegua es una especie con reproducción estacional y tiene un período de transición ovárica en primavera entre el anestro de invierno y la renovación de su ciclicidad durante la estación reproductiva. Durante la transición de primavera, las concentraciones de LH son bajas, posiblemente causadas por el efecto de la melatonina bloqueando la hormona liberadora de gonadotropinas (Lincoln, 1984). Lo anterior explica porque las yeguas pueden presentar ondas foliculares

anovulatorias, que pueden incluso, alcanzar el tamaño de los folículos preovulatorios y convertirse en HAF's con mayor predisposición (Watson y Al-Zi'abi, 2002).

Con respecto a la edad, existen cambios degenerativos asociados con la edad en la yegua, la posible causa de las fallas ovulatorias asociadas a esta condición se da a partir de la alteración en la síntesis de la enzima glutatión peroxidasa, enzima encargada de la eliminación de especies reactivas a oxígeno (Cisneros-Prego *et al.*, 1997). Si esta hormona se encuentra restringida, los ovocitos y las células de la pared del folículo pierden elasticidad, es decir la capacidad para responder a la colagenasa, enzima encargada de lisar el colágeno o “cemento de las células”, limitando parcialmente el efecto de la hormona LH sobre las células de la teca interna permitiendo que solo adelgace las paredes del folículo (Ginther y Beg, 2011; Vanderwall, 1989), hecho que aun con el efecto físico de la ovulación no es capaz de romper la pared folicular y liberar el material genético, dando origen así al folículo anovulatorio (Morel *et al.*, 2005).

El uso de agentes exógenos y hormonales con intención de inducir a la ovulación como la LH o análogos del GnRH han tenido como resultado alteraciones ovulatorias y/o formación de HAF's. (Cuervo-Arango y Newcombe, 2010). Estudios previos realizados por Schauer *et al.* (2013), planteaban que la hormona LH no interrumpió los patrones de crecimiento folicular ni la ovulación; sin embargo, sí alteró los factores del fluido folicular que podrían interrumpir la maduración de los ovocitos o folículos. Lo anterior sugiere la posible formación de HAF's por influencia

de la hormona LH o por la utilización de protocolos con prostaglandinas. Una vez que se administra la prostaglandina, ésta promueve una disminución en los niveles de progesterona después de la luteólisis y permite un aumento prolongado de los niveles de hormona luteinizante (LH) en una etapa más temprana del crecimiento folicular, lo que predispone al folículo a un desarrollo posterior en Haf (Burden et.al. 2015). La hormona LH permite que, a través de la activación de la matriz de las metaloproteinasas y la activación de plasminógenos, se presente la remodelación tisular del folículo ya que a mayor concentración de E₂ y LH se incrementa la colagenasa III en el estroma ovárico y disminuye la colagenasa I en la periferia del folículo dominante (Smok y Rojas, 2010). Ésta hormona también tiene una participación estrecha con las prostaglandinas que se encargan de suscitar la ovulación con las COX II (Cuervo-Arango y Martínez-Boví, 2016).

La producción de LH aumentada o fuera del tiempo de las 24-36 h previas a la ovulación es la encargada de luteinizar estos folículos permitiendo que haya una infiltración de células grasa a través de la pared del folículo y, de esta manera, se luteiniza, hecho que bloquea la salida del ovocito.

En el presente estudio, la aplicación del acetato de deslorelina, fue eficaz para reducir la incidencia de HAF's en yeguas criollas en el estado de Michoacán, es posible que su efectividad se debió a su efecto promotor la amplitud y frecuencia de los pulsos de liberación de la LH hipofisiaria, provocando la activación de la colagenasa y por ende desencadenó la ovulación evitando la formación de HAF's. (Squires *et al.*, 1994)

Crecimiento folicular por día

La yegua provee un desarrollo único en las especies monovulares. El desarrollo de folículos se caracteriza por el crecimiento periódico en mm que representan la selección de un solo folículo dominante, mismo que si es estimulado adecuadamente, completará su desarrollo y, finalmente, ovulará un ovocito fértil. Los resultados encontrados en este estudio son similares a los de Donadeu y Pedersen (2008). Los resultados difirieron con los reportados por McCue et.al. (2007), quienes observaron un crecimiento folicular diario de 2.1 a 4.3. Las alteraciones en dicho crecimiento implican que el momento preciso de la ovulación no sea capaz de estimarse con certeza, ya que su comportamiento es impredecible y pueden ovular de manera abrupta, por lo cual requieren de una mayor atención con respecto al momento de la ovulación siendo monitoreadas ecográficamente (Dordas-Perpinyà, 2020).

Diámetro folicular a la ovulación

Uno de los factores frecuentemente utilizados como un criterio práctico para predecir la ovulación en la yegua, es el **diámetro folicular** dado que es un método simple y relativamente fácil de monitorear cuando se cuenta con la experiencia en el uso del ultrasonido (Cuervo-Arango y Newcombe, 2008). Los trabajos realizados han evidenciado un rango de 34 a 70 mm en el diámetro de folículos preovulatorios 24 h previas a la ovulación, donde la raza de la yegua, la condición corporal y la época del año, juegan un papel importante, por ello se hace uso de tratamientos hormonales y poder predecir el momento oportuno para dar servicio a la yegua e incrementar la eficiencia reproductiva.

Al respecto, Cuervo-Arango y Newcombe (2008) encontraron que el diámetro del folículo preovulatorio disminuye cuando se aplica un tratamiento hormonal respecto al **diámetro folicular de ovulación** espontánea o natural. Estos autores reportaron un diámetro folicular de 44.18 ± 1.22 y 38.82 ± 0.83 en yeguas con ovulación espontánea y tratadas con 1500 UI de hCG. También observaron un diámetro folicular menor en yeguas tratadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ (39.42 ± 1.77 vs 47.77 ± 2.00) con un implante de 2.6 mg de deslorelina (34.25 ± 0.65 vs 40.92 ± 1.38) con respecto a la ovulación natural.

El uso de los diferentes compuestos hormonales ha supuesto un **diámetro folicular al momento de la ovulación** similar al observado en el presente estudio. Dolezel *et al.* (2012), reportaron un diámetro folicular entre 44 y 48 mm. Dordas-Perpinyà *et al.*, 2020, no reportaron diferencias significativas en el diámetro folicular de yeguas tratadas con acetato de buserelina (6 mg) o con eCG (1500 UI); éstas alcanzaron un diámetro folicular promedio de 40.98 ± 0.55 mm y de 41.45 ± 0.59 mm, respectivamente. En este mismo estudio se realizó el tratamiento de yeguas con 3 o 6 mg de acetato de buserelina y tampoco se reportaron diferencias significativas entre ambos grupos, encontrando un diámetro folicular de 41.64 ± 3.63 mm y 41.95 ± 3.79 mm, respectivamente.

De igual manera Dordas-Perpinyà *et al.* (2020), evaluaron la eficacia de diferentes tratamientos hormonales en yeguas e incluyeron 01 mg de triptorelina, 1500 UI de hCG, 3, 2 y 1 mg de acetato de buserelina y observaron el diámetro folicular por

tratamiento a la ovulación de 42.1 ± 2.8 , 43.1 ± 4.2 , 42.5 ± 2.9 , 42.6 ± 2.8 , 43.7 ± 3.8 mm, respectivamente, siendo diferentes ($p < 0.01$) con respecto al diámetro folicular en ovulación espontánea el cual fue de 45.6 ± 5.3 mm, media superior a los tratamientos hormonales e incluso ligeramente superior a lo observado en nuestro estudio.

Algunos autores (Cuervo-Arango y Newcombe, 2008) han señalado que los tratamientos hormonales para inducir a la ovulación disminuyen el tamaño del folículo preovulatorio en comparación con la ovulación natural, y aunque existe poca información al respecto, es posible que el incremento en la concentración de LH, ya sea por la administración de agonistas de GnRH como deslorelina, buserelina u otros o bien por análogos como hCG, provocan una disminución de la actividad hipofisiaria para la producción de hormona folículo estimulante, limitando el crecimiento folicular, permitiendo la ovulación más temprana que cuando se mantiene el crecimiento folicular natural.

Tiempo a la ovulación (h)

El tiempo transcurrido desde la aplicación de la hormona deslorelina y otros análogos del GnRH reducen significativamente **el tiempo de ovulación**. En el caso de que se utilicen yeguas con el diámetro folicular igual o mayor que 35 mm, se podría observar un incremento en los niveles de LH en las primeras horas post aplicación. Miki *et al.* (2016) observaron un incremento en la LH dentro de las primeras 6 a 24 h de aplicación en yeguas de tiro pesado en contraste con los picos de LH reportados 1 a 2 días después de la ovulación según los patrones normales reportados para yeguas (Meinecke *et al.*, 1987). Esto disminuye la posibilidad de

luteinizar el folículo preovulatorio e interfiere positivamente en la disminución de folículos anovulatorios.

Tasa de ovulación

Los resultados obtenidos en el presente estudio para la tasa de ovulación son similares a los reportados por Finan *et al.* (2016), quienes trabajaron con yeguas nativas de Australia observando un 93.7% de ovulación utilizando un implante subcutáneo de 1.2 5mg de deslorelina. Los resultados obtenidos en el presente estudio, con respecto a la ovulación, son similares a los obtenidos en diferente posición geográfica y raza de las yeguas, hecho que podía predecirse ya que la hormona y sus análogos demostraron resultados positivos comprobando su respuesta terapéutica sobre los gonadotrofos por su efecto análogo de la LH (D'Oliveira, *et.al.* 2019).

Fertilidad

En el presente estudio el resultado de la fertilidad de las yeguas no se analizó estadísticamente, ya que todas las yeguas ($n=7$), en el último ciclo, fueron sometidas a una aplicación de la hormona deslorelina y respondieron con una conducta estral y fueron servidas, por petición de los propietarios, por monta directa o por inseminación artificial, usando semen fresco o semen congelado. El pequeño tamaño de muestra más los diferentes tipos de servicio y la falta de yeguas en ambos grupos comprometen los resultados estadísticos. No obstante, el porcentaje de gestación total obtenido es superior al 70%, lo que hace suponer que la aplicación del acetato de deslorelina y su efecto sobre la disminución de la

incidencia de HAF's, promovió el rompimiento u ovulación de un mayor número de folículos teniendo una mayor cantidad de ovocitos disponibles para su posterior fecundación.

VIII. Conclusión

La administración de la hormona acetato de deslorelina mejoró la respuesta reproductiva en yeguas criollas del estado de Michoacán, al reducir la incidencia de HAF's, incrementar la tasa de ovulación y reducir el tiempo a la ovulación.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, T. J., Berisha, B., Ozawa, T., Sato, K., Schams, K., (1999). Evidence for a local endothelin-angio-tensin-atrial natriuretic peptide system in bovine mature follicles in vitro: effects on steroid hormones and prostaglandin secretion. *Biology of Reproduction*, 61(6), 1419-1425. <https://doi.10.1095/biolreprod61.6.1419>
- Allen, W. R., Brown, L., Wright, M., & Wilsher, S. (2007). Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Veterinary Journal*, 39(5), 438–445 <https://doi.org/10.2746/042516407x1737581>
- Andrade-Souza, F., Pérez-Osorio, J., D'Oliveira-Sousa, A., Ribeiro do Vale Filho, V., Marc, H., Chacón L.J., Arias S.A., (2011). Foliculogénesis y ovulación en la especie equina. *Revista de Medicina Veterinaria*, Bogotá, 22(7). Páginas. 43-50 http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542011000200005&lng=en&tlng=es.
- Armstrong, D. G., Webb, R. (1997). Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction*. 2(7), 139-146. <https://doi:10.1530/ror.0.0020139>
- Barbacini, S., Gulden, P., Marchi, V., Zavaglia, G. (1999), Incidence of embryo loss in mares inseminated before or after ovulation. *Equine Veterinary Education*, 11(4), 251-254. <https://doi:10.1111/j.2042-3292.1999.tb00958>.
- Barker, K. (2020). Breeding the “difficult mare.” *UK-Vet Equine*, 4(2), 48–53. <https://doi:10.12968/ukve.2020.4.2.48>

- Beech, J., (1987). Tumor of the pituitary gland (pars intermedia). In Robinson NE (ed): Current Therapy in Equine Medicine, ed2, Philadelphia, WB Saunders. ISBN: 9780323242165.
- Bergfelt D.R., Gastal, E.L., Ginthe,r O.J. (2001). Response of estradiol and inhibin to experimental reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. *Biology of Reproduction*. 65(7), 426-432. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.426>
- Bergfelt, D.R., Ginther, O.J. (1985). Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology*. 24(10), 99-108. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(85\)90215-8](https://doi.org/10.1016/0093-691X(85)90215-8).
- Bergfelt, D.R., Ginther, O.J. (1993). Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. 39(16), 781-796. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(93\)90418-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90418-5)
- Bittman, E.L., Karsch, F.J., Hopkins, J.W. (1983). Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*. 113(8), 329-336. <https://doi.org/10.1210/endo-113-6-2276>
- Blanchard, T. L., Brinsko, S. P., & Rigby, S. L. (2002). Effects of deslorelin or hCG administration on reproductive performance in first postpartum estrus mares. *Theriogenology*, 58(14), 165–169. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)00912-3](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00912-3)
- Boeta, M., Porras, A., Zarco, L., & Aguirre-Hernández, R. (2006). Ovarian activity of the mare during winter and spring at a latitude of 19° 21' north. *Journal of*

- Equine Veterinary Science, 26(4), 55–58.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2005.12.003>
- Brück, I., Anderson, G., & Hyland, J. (1993). Reproductive performance of Thoroughbred mares on six commercial stud farms. *Australian Veterinary Journal*, 70(8), 299–303. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb07979.x>
- Burden, C. A., McCue, P. M., & Ferris, R. A. (2015). Effect of cloprostenol administration on interval to subsequent ovulation and anovulatory follicle formation in quarter horse mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(6), 531–535. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.02.011>
- Chávez C., E., Baltodano T., J., & Caballero L., C. (2018). Efecto del uso de acetato de deslorelina en la inducción de ovulación de yeguas Caballo Peruano de Paso. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(2), 713–719. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14487>
- Checura, C. M., Beg M. A., Parrish, J. J., Ginther, O. J. (2010). Functional relationships among intrafollicular insulin-growth factor 1, circulating gonadotropins, and development of the dominant follicle in mares. *Animal Reproduction Science*. 118:270-278.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.09.002>
- Cisneros-Prego, E., Pupo-Balboa, J., Céspedes-Miranda, E. (1997). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 16 (1), 10-15. Recuperado en 29 de julio de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-3001997000100002&lng=es&tlng=es

- Collins, S. M., Zieba, D.A., Williams, G.L. (2007). Continuous administration of low-dose GnRH mares; ii: pituitary and ovarian response to uninterrupted treatment beginning near to autumnal equinox and continuing throughout the anovulatory season. *Theriogenology*. 68(8), 673-681. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.057>.
- Cortés-Vidauri, Z., Aréchiga-Flores, C., Rincón-Delgado, M., Rochín-Berumen, F., López-Carlos, M., Flores-Flores, G. (2018). Revisión: el ciclo reproductivo de la yegua. *Revista Abanico Veterinario*, 8 (3), 14-41. <https://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.83.1>
- Coutinho Da Silva, M. (2008). When should a mare go for assisted reproduction? *Theriogenology*, 70(3), 441-444. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.039>
- Crowell-Davis, S. L. (2007). Sexual behavior of mares. *Hormonal Behavior*. 52(6), 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.020>
- Cuervo-Arango, J., & Martínez-Boví, R. (2016). The role of PGE2 and PGF2a in follicle wall rupture and their implications in the development and treatment of luteinized unruptured follicles. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*. 32(1), 54-56. <https://doi.org/10.21836/pem20160110>
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. (2012). Ultrasound characteristics of experimentally induced luteinized unruptured follicles (LUF) and naturally occurring hemorrhagic anovulatory follicles (HAF) in the mare. *Theriogenology*. 77(3), 514-524. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.026>

- Cuervo-Arango, J., Newcombe J.R., (2008). 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*. 69(8), 681-687. <https://doi:10.1016/j.theriogenology.2007.11.019>.
- Cuervo-Arango, J., Newcombe, J. R., (2010). Risk factors for the development of haemorrhagic anovulatory follicles in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*. 45(7), 473–480; doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01260.x
- D' Oliveira, S. N., Canuto, L., Segabinazzi, L. G. T. M., Dell'Aqua Junior, J. A., Papa, P., Fonseca, M., Ribeiro Filho, A. D. L., & Papa, F. (2019). Histrelin acetate-induced ovulation in Brazilian Northeastern jennies (*Equus asinus*) with different follicle diameters. *Theriogenology* 136 (1), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.037>
- Davies-Morel, M.C.G., Newcombe, J.R., Hayward, K. (2010). Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology*. 74(6), 1241–1247 <https://doi:10.1016/j.theriogenology.2010.05.027>
- Day, F. T. (1939). Ovulation and the descent of the ovum in the Fallopian tube of the mare after treatment with gonadotrophic hormones. *The Journal of Agricultural Science*, 29(3), 459–469. <https://doi.org/10.1017/s0021859600052187>
- Diccionario de términos médicos. (2012). Real academia nacional de medicina. madrid: interamericana. 290-291

- Dolezel, R., Ruzickova., K., Maceckova., G. (2012). Growth of the dominant follicle and endometrial folding after administration of hCG in mares during oestrus. *Veterinarni Medicina*. 57 (1), 36-41. <https://doi:10.17221/4970-VETMED>
- Donadeu, F. X., Ginther, O.J. (2002). Changes in concentration of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biology of Reproduction*. 66(7),1111-1118. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.4.1111>
- Donadeu, F., & Pedersen, H. (2008). Follicle Development in Mares. *Reproduction in Domestic Animals*. 43(7), 224–231. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01166.x>
- Dordas-Perpinyà, M., Normandin, L., Dhier, T., Terris, H., Cochard, A., Frilley, C., Huiban, F., Bruyas, J. F. (2020). Single injection of triptorelin or buserelin acetate in saline solution induces ovulation in mares the same as a single injection of hCG. *Reproduction in Domestic Animals*. 55(9), 374-383. <https://doi:10.1111/rda.13632>.
- Ebert, M. A., Riese, R. L. (1986). Infertility in the mare. *Iowa State University Veterinarian*. 48(1), Article Available https://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol48/iss1/4.
- Escobar, M. F. J. (1997). Comportamiento reproductivo de la yegua y la burra. *Veterinaria Zacatecas*. 1(5), 22-26. ISSN: 1870-5774.
- Farquhar, V. J., McCue, P. M., Nett, T. M., Squires, E. L. (2001). Effect of deslorelin acetate on gonadotropin secretion and ovarian follicle development in cycling mares. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 218(4), 749- 752. <http://doi:10.2460/javma.2001.218.749>

- Fernández-Reyes, F., Hernández-Pichardo, J. E, Rodríguez-Méndez, S., Velásquez-Osorio, H. D. (2008). Fertilidad en yeguas cuarto de milla tratadas con gonadotropina corionica humana (hcg) utilizando semen congelado. *Revista de Salud Animal*. 30(3), 184-188. ISSN 0253-570X http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2008000300008&lng=es&tlng=es.
- Figueiredo, T., Paiva, R., Ernandes L. K., Kaercher, F., Weiss, R., Walter dos Santos, I., Ricabone, P. M. (2011). Induction of ovulation in quarter horse mares through the use of deslorelin acetate and human chorionic gonadotrophin (hCG). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54(5), 517-521. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000300012>
- Finan, S. A., Lamkinb, E. L., McKinnon, A. O. (2016). Comparative efficacy of BioRelease Deslorelin® injection for induction of ovulation in oestrus mares: a field study. *Australian Veterinary Journal*. 94(3), 338–340. <https://doi:10.1111/avj.12478>.
- Fortoul-Van der Goes, T. I. (2017). *Histología y biología celular*, tercera edición. McGRAW-HILL Interamericana Editores, S.A. de C.V. ISBN: 978-607-15-1408-0
- Galina, C., Valencia, J. (2009). *Reproducción de los animales domésticos*. 3ra ed. México DF: Limusa. Página 582. ISBN: 9789681871321
- Gastal, E. L., Gastal, M. O, Beg, M. A., Ginther, O.J. (2004). Interrelationships among follicles during common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*. 128(5), 417-422. <https://doi:10.1530/rep.1.00259>

- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., Ginther, O.J. (1997). Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biology of Reproduction*. 57(8), 1320-1327. <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.6.1320>
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Carvalho, G. R., Beg, M. A., Ginther, O. J. (2009). Temporal relationships and repeatability of follicle diameters and hormone concentrations within individuals in mares. *Reproduction in Domestic Animals*. 44(7), 92-99. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.01003.x>
- Gentry, L. R., Thompson, D. L., Gentry, G. T., Davis, K. A., Godke, R. A., Cartmill, J. A. (2002). The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period¹. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2695–2703. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.10.2695>
- Ginther, O. J., (1974). Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over 12-month period in mares. *American Journal of Veterinary Research*. 35(6), 1173–11179 ISSN: 0002-9645
- Ginther, O. J., (1990). Prolonged luteal activity in mares-a semantic quagmire. *Equine Veterinary Journal*. 22(1), 152. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04235.x>
- Ginther, O. J., Beg, M. A. (2011). Hormone concentration changes temporally associated with the hour of transition from preludeolysis to luteolysis in mares. *Animal Reproduction Science*. 129(6), 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.013>

- Ginther, O. J., Beg, M. A. (2012). The hour of transition into luteolysis in horses and cattle: A species comparison. *Theriogenology*. 77(9), 1731-1740. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.01.001>
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Donadeu, F. X., Bergfelt, D. R. (2003). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*. 78(18), 239-257. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00093-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00093-9)
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Gastal, M. O., Gastal, E. L., (2004). Follicle dynamics and selection in mares. *Animal Reproduction*., 1(2) 45-63, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.004309>
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A., (2009). Incidence, endocrinology, vascularity, and morphology of hemorrhagic anovulatory follicle in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 27(3), 130-139 <http://doi.org/10.1016/j.jevs.2007.01.009>.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., Baerwald, A. R., Pierson, R. A. (2004). Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. 4(6), 1195–1201, <https://10.1095/biolreprod.104.031054>.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Jacob, J. C., Beg, M. A. (2008). Induction of haemorrhagic anovulatory follicles in mares. *Reproduction, Fertility and Development*. 20(5), 947–954. <https://doi.10.1071/rd08136>.
- Ginther, O., Jacob, J., Gastal, M., Gastal, E., & Beg, M. (2008). Follicle and systemic hormone interrelationships during spontaneous and ablation-induced ovulatory waves in mares. *Animal Reproduction Science*. 106(2), 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.12.018>

- Glister, C., Groome, N. P., & Knight, P. G. (2003). Oocyte-Mediated Suppression of Follicle-Stimulating Hormone- and Insulin-Like Growth Factor-Induced Secretion of Steroids and Inhibin-Related Proteins by Bovine Granulosa Cells In Vitro: Possible Role of Transforming Growth Factor α 1. *Biology of Reproduction*. 68(3), 758–765. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.008698>
- Goldman, B. D. (2001). Mammalian photoperiod system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Biology Rhythms*. 16(5), 283-301. <https://doi.org/10.1177/074873001129001980>
- Goodman, A. L., & Hodgen, G. D. (1983). The Ovarian Triad of the Primate Menstrual Cycle. *Proceedings of the 1982 Laurentian Hormone Conference*. 1(7), 1–73. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571139-5.50005-7>
- Guerin, M., & Wang, X. (1994). Environmental temperature has an influence on timing of the first ovulation of seasonal estrus in the mare. *Theriogenology*, 42(6), 1053–1060. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(94\)90127-5](https://doi.org/10.1016/0093-691x(94)90127-5)
- Guillaume, D., Rio, N., Toutain, P. L. (1995). Kinetic studies and production rate of melatonin in pony mares. *American Journal of Physiology and Regulatory Integral Components of Physiology*. 268(5), 1236-1241. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.268.5.R1236>
- Henneke, D., Potter, G., & Kreider, J. (1984). Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology*. 21(6), 897–909. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(84\)90383-2](https://doi.org/10.1016/0093-691x(84)90383-2)

Hinrichs, K., Hunt, P. R. (1990). Ultrasound as an aid to diagnosis of granulosa cell tumour in the mare. *Equine Veterinary Journal*, 22(2), 99–103.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04218.x>

Hughes, P., Benirschke, K., Kennedy, P.C., (1975). Gonadal dysgenesis in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Supply*. 23(1), 385.
<https://doi:10.1111/j.2042-3306.1975.tb03244.x>.

INEGI, 2010. Censo de Población y Vivienda.

INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/16/16095.pdf. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Tocumbo, Michoacán de Ocampo. Clave geoestadística 16095.

Irvine, C. H. G, Alexander, S. L. (1993). Secretory patterns and rates of gonadotropin-releasing hormone, follicle stimulating hormone, and luteinizing hormone revealed by intensive sampling of pituitary venous blood in the luteal phase mare. *Endocrinology*. 32(6) ,212-218. ISSN: 0804-4643 Online ISSN: 1479-683X

Jacob, J. C., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Berg, M. A., Ginther, O. J. (2009). Follicle deviation in ovulatory follicular waves with one or two dominant follicles in mares. *Reproduction in Domestic Animals*. 44(7), 248-254.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.01048.x>

Katila, T., Reilas, T., Nivola, K., Peltonen, T., & Virtala, A. M. (2010). A 15-year survey of reproductive efficiency of Standardbred and Finnhorse trotters in

- Finland - descriptive results. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 52(1),
<https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-40>
- Keiper, R., Houpt, K. (1984) Reproduction in feral horses: an eight year study. *American Journal of Veterinary Research*. 45(5), 991-995. PMID: 6732036.
- Kimura, J., Hirano, Y., Takemoto, S., Nambo, Y., Ishinazaka, T., Mishima, T., Tsumagar, S., Yokota, H. (2005). Three-dimensional reconstruction of the equine ovary. *Anatomy, Histology, Embryology*. 34(2), 48-51.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2004.00567.x>
- König, H. E, J. Plendl, Liebich, H. G. (2015). Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina). *Anatomie der Haussäugetiere*. 6(7), 421-428.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0719-3890201700500202>
- König, H.E., Sora, M-C, Seeger, J, & Donoso, S., (2017). Anatomía del ovario de la yegua mediante secciones plastinadas con el método e12. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. 33(1), 59-63.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902017005000202>
- Lanna, L. L., Marques, Jr., Douglas, R.H. (2010). Effect of deslorelin on the induction of estrus in anestrous bitches. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 62(3), 615-621. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352010000300017>
- Lefranc, A. C., & Allen, W. R. (2003). Incidence and morphology of anovulatory haemorrhagic follicles in the mare. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*. 19(6), 611–612. <https://doi.org/10.21836/pem20030607>

- Li, Q., Jimenez-Krassel, F., Kobayashi, Y., Ireland, J. J., Smith, G. W. (2006). Effect of intrafollicular indomethacin injection on gonadotropin surge-induced expression of select extracellular matrix degrading enzymes and their inhibitors in bovine preovulatory follicles. *Reproduction*. 13(1), 533-544. <https://doi:10.1530/rep.1.00926>
- Liebich, H.G. (2010). *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel*. 5(8), 323-331. Schattauer Verlag, Stuttgart, Germany. ISBN-10: 3794526929 ISBN-13: 978-3794526925
- Lincoln, G. A. (1984). The pineal gland. Book 3. Hormonal control of reproduction: in reproduction in mammals. Editors Austin CR & Short RV, Second edition. Cambridge, MA, USA: Cambridge University Press. 2(3), 52-75. ISBN 0521256372.
- López-Pérez, L. M., Zarco-Quintero, L., & Boeta-Acosta, A. M., (2010). Inducción de la actividad ovárica en yeguas criollas con un programa de fotoperiodo artificial en la latitud 19°9'N. *Veterinaria México*, 41(2), 89-100. ISSN 0301-5092
- Love, S. (1993). Equine cushing's disease. *British Veterinary Journal*, 149(2), 139–153. [https://doi.org/10.1016/s0007-1935\(05\)80084-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1935(05)80084-3)
- Maher, J. M., Squires, E. L., Voss, J. L., (1983). Effect of anabolic steroids on reproductive function of young mares. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 183(1), 519. PMID: 6413467
- McCue P. M., Magee, C., Gee, E. K., (2007). Comparison of compounded deslorelin and hcg for induction of ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 27(3), 58 - 61 <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2006.12.003>

- McCue PM. (2000). Diagnóstico de patologías ováricas International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. 1(6), 1-7. ISBN-10. 1893441999. <https://www.ivis.org/library/recent-advances-equine-reproduction/diagnosis-of-ovarian-abnormalities>.
- McCue PM., (2002). Equine cushing's disease. Veterinary Clinic North Amamerican Equine Practisioners. 18(1), 533. ISBN-10. 1893442002.
- McCue, P. M. (2007). Ovarian abnormalities. In current therapy in equine reproduction. W.B. Saunders. 13(5), 87-92, ISBN 9780721602523, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0252-3.50017-5>.
- McCue, P. M., (2007). Current therapy in equine reproduction, chapter 12 - ovulation failure. W.B. Saunders. 12(3), 83-86, ISBN 9780721602523, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0252-3.50016-3>.
- McCue, P. M., (2010). Breeding the older mare. Journal of Equine Veterinary Science Pages. 13(2), 1-3 ISSN: 0737-0806
- McCue, P. M., Farquhar. V. J., Carnevale. E. M., Squires. E. L. (2002). Removal of deslorelin (ovuplant) implant 48 h after administration results in normal inter ovulatory intervals in mares. Theriogenology. 58(5), 865-870. [https://doi:10.1016/S0093-691X\(02\)00923-8](https://doi:10.1016/S0093-691X(02)00923-8).
- McCue, PM, (2007). Chapter 13 - Current therapy in equine reproduction, ovarian abnormalities. W.B. Saunders. 13(1), 87-92, ISBN 9780721602523, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0252-3.50017-5>.
- McCue, PM., LeBlanc, MM., Akita, GY., (1991). Granulosa cell tumors in two cycling mares. Journal of Equine Veterinary Science. 11(1), 281. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81316-X](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81316-X)

- McCue, PM., Squires, EL., (2002). Persistent anovulatory follicles in the mare. ELSEVIER Theriogenology. 58(5), 541-543
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.022>
- Mckinnon, A. O., Voss, J. L., (2007). Equine Reproduction. Edit. Lea and Febiger USA. ISBN-13: 978-0813819716 ISBN-10: 9780813819716
- Meinecke, B., Gips, H., and Meinecke, T.S. 1987. Progestagen, androgen and estrogen levels in plasma and ovarian follicular fluid during the oestrous cycle of the mare. Revista Avanco Veterinario. 12(10), 255–265. ISSN 2448-6132
- Melo, C. M., Papa, F. O., Puoli-Filho, J. N., Araújo, G. H., Dell’Aqua, Jr. J. A., Alvarenga, M. A. (2012). Eficiência do acetato de deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas. Veterinaria Zootecnia. 19(7), 392-398. ISSN0102-5716-2012-19-03-392-398
- Miki, W., Oniyama, H., Takeda, N., Kimura, Y., Haneda, S., Matsui, M., Taya, K., Nambo, Y. (2016). Effects of a single use of the GnRH analog buserelin on the induction of ovulation and endocrine profiles in heavy draft mares. Journal of Equine Science. 27(4), 149–156. <https://doi.10.1294/jes.27.149>
- Morel, M. C. D., Newcombe, J. R., Swindlehurst, J. C. (2005). The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. Theriogenology. 63(9), 2482–2493.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.058>
- Morel, M. C. G. D. (2015). Equine reproductive physiology. Breeding and Stud Management. 5(1), <https://doi.org/10.1079/9781780644424.0000>

- Morel, M. D. C. G., Berasategui, L. A. (2006). Fisiología de la reproducción de los equidos, cría y manejo de la yeguada. *Acribia*. 2(1)426 ISBN: 978-84-200-1056-4
- Murdoch, W. J. y McDonnel, A. C. (2002). Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and Carci-nogenesis. *Reproduction*. 123(3), 743-750. <https://doi.10.1530/rep.0.1230743>
- Neely, D. P., Liu, I. K. M., Hilman, R. B., (1983). *Equine reproduction*. Philadelphia, Veterinary Learning Systems.
- Quintero, B., Manzo, M., Díaz, T., Verde, O., Benacchio, N., Sifontes, L. (1995). Seasonal changes in ovarian activity and estrous behavior of Thoroughbred mares in a tropical environment. *Biology of Reproduction*. 1(3), 469-474. <http://www.nal.usda.gov/>
- Roberto-DaCosta, R. P, Branco, V., Pessa, P., Robalo Silva, J., Ferreira-Dias, G. (2005). Progesterone receptors and proliferating cell nuclear antigen expression in equine luteal tissue. *Reproduction, Fertility and Development*. 17:659-666. <https://doi.org/10.1071/RD05024>
- Romagnoli, S., Stelletta, C., Milani, C., Gelli, D., Falomo, M., Mollo, A. (2009). Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*. 44(2), 36-39. <https://doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01441.x>.
- Salazar-Ortiz, J., Camous, S., Briant, C., Lardic, L., Cheseneau, D., Guillaume, D. (2011). Effect of nutritional cues on the duration of the winter anovulatory phase and on associated hormone levels in adult female welsh pony horses

- (equus caballus). *Reproduction, Biology, Endocrinology*. 9(1), 30.
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-130>
- Saltiel, A., Calderón, A., García, N., Hurley, D.P., (1982). Ovarian activity in the mare between latitude 15° and 22° N. *Journal of Reproduction Fertility Supply*. 32(1), 261–267. PMID:6962860.
- Samper, J. C. (2008). Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, 70(3), 445–447.
<https://doi:10.1016/j.theriogenology.2008.04.040>
- Samper, J. C., Pycock, J. F., McKinnon, A. O. (2007). *Current therapy in equine reproduction*. Saunders. The Elsevier. ISBN-10: 9780813819716
- Satué, K., Gardón, J. C. (2013). A review of the estrous cycle and the neuroendocrine mechanisms in the mare. *Journal of Steroids & Hormonal Science*. 4(2), 115-123. [https://doi: 10.4172/2157-7536.1000115](https://doi:10.4172/2157-7536.1000115)
- Sauberli, D., (2013). The effectiveness and efficiency of ovulation induction agents in mares. MSc Thesis. Illinois: University of Illinois. 115 .
- Schauer, S., Guillaume, D., Decourt, C., Watson, E., Briant, C., Donadeu, F. (2013). Effect of luteinizing hormone overstimulation on equine follicle maturation. *Theriogenology*, 79(3), 409–416.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.017>
- SEDESOL (2014). Reglas de operación del programa para el desarrollo de zonas prioritarias (PDZP), para el ejercicio fiscal 2014. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 28/12/2013. Disponible en: http://www.microrregiones.gob.mx/documentos/2014/RO_PDZP2014_DOF.pdf

- Sirois, J., Dore, M. (1997). The late induction of prostaglandin g/h synthase-2 in equine preovulatory follicles supports its role as a determinant of the ovulatory process. *Endocrinology*. 138(7), 4427–4434. <https://doi.10.1210/endo.138.10.5462>
- Sirois, J., Kimmich, T. L., Fortune, J. E. (1991). Steroidogenesis by equine preovulatory follicle: relative roles of theca interna and granulosa cells. *Endocrinology*. 128(6), 1159-1166. <https://doi.org/10.1210/endo-128-2-1159>
- Sisson, S., & Grossman, J. D. (2002). *Anatomía de los animales domésticos*. Tomo 1 (5.^a ed.). Masson. ISBN: 9788445807224
- Slough, T. L., Rispoli, L. A., Carnevale, E. M., Niswender, G. D., Bruemmer, J. E. (2011). Temporal gene expression in equine corpora lutea based on serial biopsies in vivo. *Journal of Animal Science*. 89(3), 389-396. <https://doi:10.2527/jas.2010-324>
- Smith, M. F., Ricke, W. A., Bakke, L. J., Dow, M. P., Smith, G. W., (2002). Ovarian tissue remodelling: role of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Mol Cell Endocrinol*. 191(2), 45–56. [https://doi.10.1016/s0303-7207\(02\)00054-0](https://doi.10.1016/s0303-7207(02)00054-0)
- Smok, S. C., Rojas, R. M. (2010). Follicular-stromal interaction in the mare ovary during the reproductive cycle. *International Journal of Morphology* 28(3), 697-701. ISSN 0717-9502
- Squires, E., Moran, D., Farlin, M., Jasko, D., Keefe, T., Meyers, S., Figueiredo, E., McCue, P., Jochle, W. (1994). Effect of dose of gnrh analog on ovulation in mares. *Theriogenology*, 41(3), 757–769. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(94\)90185-l](https://doi.org/10.1016/0093-691x(94)90185-l)

- Suárez, C.L., Pérez, O.J., Paredes, C.A., Suárez, S.F.H. (2017). Referencias para consultorio MV. 46(2), 13-20. ISSN 0927-9502
- Sullivan, J. J., Parker, W. G., Larson, L. L., (1973). Duration of estrus and ovulation time in nonlacting mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrous periods. Journal of American Veterinary Medicine Association. 16(2), 162:885-898. PMID: 4735628
- Swann, R. W., O'Saughnessy, P. J., Birkett, S. D., Wathes, D. C., Porter, D. G., Pickering, B. T. (1984). Biosynthesis of oxytocin in the corpus luteum. FEBS Letters. 174(2), 262-266. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)81170-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)81170-9)
- Thorson, J. F., Prezotto, L. D., Cardoso, R. C., Allen, C. C., Alves, B. R. C., Amstalden, M., Williams. G. L. (2014). Pharmacologic application of native GnRH in the Winter anovulatory mare, ii: accelerating the timing of pregnancy. Theriogenology. 81(6), 625-631. <https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.017>.
- Van Niekerk FE, Van Niekerk CH (1997). The effect of dietary protein on reproduction in the mare. III. Ovarian and uterine changes during the anovulatory season transitional and ovulatory periods in the non-pregnant mare. Journal of the South African Veterinary Association. 68(1), 86-92. <https://doi.org/10.4102/jsava.v68i3.882>
- Van SDC., (2007). Equine Reproduction, chapter 44. Edit. Lea and Febiger USA. ISBN: 9781437713008
- Vanderwall, D. K., Peyrot, L. M., Weber, J. A., (1989). Reproductive efficiency of the aged mare. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology. 15(1), 153. <https://doi.org/10.1071/RD14446>

- Velázquez, N. (2014). La hormona gonadotrofina coriónica humana: Una molécula ubícua y versátil. Parte I. Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, 74(2), 122-133. Recuperado en 14 de febrero de 2020, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322014000200006&lng=es&tlng=es.
- Warren, J. E., Borton, A., Hintz, H. F., Dale, L. V. V., (1977). The horse. US; W. H. Freeman Company. ISBN-13: 978-0716718116
- Watson, E. D., Bjorkstein, T. S., Buckingham, J., Nikilakopoulos, E. (1997). Immunolocalisation of oxytocin in the uterus of the mare. Journal of Reproduction and Fertility Abstract Series. 20(1), 31. ISSN: 1476-3990
- Watson, E., & Al-Zi'abi, M. (2002). Characterization of morphology and angiogenesis in follicles of mares during spring transition and the breeding season. Reproduction. 20(7), 227–234. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240227>
- Yoon, M. J. (2012). The Estrous Cycle and Induction of Ovulation in Mares. Journal of Animal Science and Technology. 54(3), 165–174. <https://doi.org/10.5187/jast.2012.54.3.165>