

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
Educar para Pensar, Decidir y Servir

EVALUACIÓN DEL FOLÍCULO PREEVULATORIO Y EFECTO DEL DESLORELIN
COMO INDUCTOR DE LA OVULACIÓN EN 12 YEGUAS SILLA ARGENTINA EN EL
MUNICIPIO DE FACATATIVA, CUNDINAMARCA.

MARTIN JARAMILLO LONDOÑO
JUAN FELIPE PEREZ MAYOR

BOGOTÁ, COLOMBIA

2013

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
Educar para Pensar, Decidir y Servir

EVALUACIÓN DEL FOLÍCULO PREEVULATORIO Y EFECTO DEL DESLORELIN
COMO INDUCTOR DE LA OVULACIÓN EN 12 YEGUAS SILLA ARGENTINA EN EL
MUNICIPIO DE FACATATIVA, CUNDINAMARCA.

MARTIN JARAMILLO LONDOÑO

CÓDIGO 14081112.

JUAN FELIPE PEREZ MAYOR

CÓDIGO 14051150.

Director

Dr. JAIR PEREZ OSORIO

M.V., M.Sc., Ph.D.

BOGOTÁ, COLOMBIA

2013

APROBACIÓN

DIRECTOR:

Jair Pérez Osorio M.V., M.Sc., Ph.D.

CODIRECTOR:

Geovanny Mendoza Sanchez M.V.M.,Ph.D.

JURADO:

Liliana Chacón Jaramillo M.V., M.Sc., Ph.D.

JURADO:

Jose Carlos Coelho De Oliveira Basso M.V., M.Sc.

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE

RECTOR: Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo

VICERRECTOR ACADÉMICO: Hno. Fabio Humberto Coronado Padilla

VICERRECTOR DE PROMOCIÓN
Y DESARROLLO HUMANO: Hno. Frank Leonardo Ramos

VICERRECTOR
ADMINISTRATIVO: Dr. Eduardo Ángel Reyes

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN
Y TRANSFERENCIA: Dr. Luis Fernando Ramírez Hernández

DECANA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS: Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto

DIRECTOR PROGRAMA
MEDICINA VETERINARIA: Dr. Juan Fernando Vela Jiménez

COMPROMISO

Todo lo que se escribe y expone en este trabajo se hace con base en parámetros de responsabilidad y honestidad. Los contenidos que aquí se presentan son de carácter estrictamente educativo y científico, y no incluyen ideas que sean contrarias a la doctrina de la iglesia católica en cuanto a asuntos de dogma y moral.

AGRADECIMIENTOS

Martin Jaramillo: Agradezco a mis padres por el compromiso y esfuerzo que pusieron para que sea posible este gran logro que me prepara para alcanzar los más grandes sueños en mi vida, por la formación que me dieron, por ser el ejemplo de vida que quiero seguir, pues son las personas más íntegras que conozco. además agradezco a los otros miembros de mi familia que han estado siempre como un apoyo incondicional; de igual manera agradezco al doctor Jair Pérez Osorio por transmitir sin ninguna señal de egoísmo su amplio conocimiento que forja el inicio de mi carrera profesional y aporta a mi formación personal pues no solo lo admiro como profesional sino también como ser humano, al doctor Giovanni Mendoza y doctor Iván Calvachi, agradezco también al capitán Óscar Benítez y capitán Jorge Rojas así como a la Policía Nacional de Colombia por su hospitalidad e interés en el desarrollo del conocimiento, pues nos facilitaron las herramientas y el tiempo para realizar nuestro trabajo de grado,

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	XIII
2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	XV
3	OBJETIVOS.....	XVII
3.1	General.....	XVII
3.2	Específicos.....	XVII
4	HIPÓTESIS.....	XVIII
5	MARCO TEÓRICO.....	1
5.1	Ciclo estral	1
5.2	Eventos endocrinologicos del ciclo estral	3
5.3	Estacionalidad.....	5
5.4	Fotoperiodo.....	7
5.5	Dinámica folicular.....	8
5.5.1	Fases del crecimiento folicular	8
5.5.2	Patrón de crecimiento folicular.....	9
5.6	Ovulación.....	10
5.7	Inducción de la ovulación.....	12
6	METODOLOGÍA.....	14
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
8	IMPACTO E INDICADORES.....	22
9	REFERENCIAS.....	24
10	ANEXOS.....	29

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros reproductivos tras la administración del placebo (NaCl) y el Deslorelin.....	16
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Niveles hormonales y actividad ovárica durante el ciclo estral de la yegua.....	5
Figura 2. Estacionalidad en hemisferio norte.	6
Figura 3. Diagrama del desarrollo folicular y ovulación en el ovario de la yegua.....	9
Figura 4. Tasa de crecimiento del folículo preovulatorio.....	17
Figura 5. Diámetro máximo del folículo preovulatorio.....	19
Figura 6. Rango de ovulación en el tiempo por tratamiento.....	21
Figura 7. Incidencia de ovulaciones por ovario.....	22

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 Análisis Estadístico.....	30
-----------------------------------	----

RESUMEN

La yegua es considerada una especie poliéstrica estacional, de tal manera que exhibe actividad ovárica máxima durante primavera y verano, y periodos de no actividad en los meses de invierno como respuesta a mayor liberación de melatonina, lo que genera una disminución en la liberación de GnRH y, por lo tanto, de FSH y LH. Aunque bajo condiciones tropicales no se ha observado estacionalidad debido a la poca oscilación del fotoperiodo durante el año, otros factores como la nutrición, temperatura e historia de estacionalidad pueden generar disminución en la actividad ovárica, especialmente en las yeguas importadas desde países lejanos a la línea del Ecuador. Es por esta razón que el proyecto busca ampliar el conocimiento sobre la dinámica de folículos dominantes de 12 yeguas Silla Argentina importadas en el año 2007 por la Policía Nacional de Colombia, realizando un seguimiento ecográfico cada 6 horas de la tasa diaria de crecimiento folicular, a partir de los 35 mm, diámetro máximo del folículo preovulatorio y efecto del análogo de GnRH: Deslorelin, como inductor de la ovulación, mediante la comparación simultánea de dos grupos homogéneos de yeguas: TT 1 tras la aplicación de NaCl, y TT 2 tras la aplicación del Deslorelin. Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza y la prueba T-Student. Se obtuvo como resultado que la yegua de Silla Argentina, en las condiciones de la sabana de Bogotá, tiene un crecimiento diario folicular de 2,24 (+/-0,367) mm/día, aunque no hubo diferencia estadísticamente significativa ($P>0,05$) con el TT2. El diámetro máximo del folículo preovulatorio fue de 44,39 mm (+/- 1,28 mm). Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P<0,05$) en comparación con el grupo TT2, y el intervalo en horas (aplicación del Deslorelin - ovulación) fue de 37 horas (+/- 0,68 h). Aunque el 16,6% de las yeguas no respondió al inductor, fue estadísticamente significativo ($P<0,05$) en comparación al grupo TT1. Si bien se logró aumentar el conocimiento de la dinámica folicular de estas yeguas, este estudio es el inicio de futuras investigaciones que aportaran al conocimiento de la dinámica folicular en la yegua bajo condiciones de trópico.

Palabras clave: Ciclo estral, deslorelin, estacionalidad, fotoperiodo, folículo, ovulación, yegua.

ABSTRACT

The Mare is considered a seasonal polyestrous species by nature, which means that in terms of latitude, she has several changes in circannual rhythms in the reproduction exhibiting maximum ovarian activities during spring and summer (where there are 15 to 16 hours of light) and periods of no activity in the winter months as a response to greater concentration of melatonin, which generates a decrease in the release of GnRH from the hypothalamus and a subsequent decrease in the levels of FSH and LH, blocking the follicular dynamics. As the FSH levels are very low, these are not enough for the occurrence of the second activation, which is called activation of tertiary or antral follicles. This activation occurs only in the transition and reproductive season, in the particular case of photoperiodic species. Although seasonality has not been observed under tropical conditions due to the little oscillation presented in the photoperiod during the year, other factors such as nutrition, temperature, and history of seasonality may generate changes in the cyclicity of the mare, causing prolonged anestrus periods, especially in the mares imported with a history of seasonality. The introduction of seasonal animals to the different equine production systems in the country generates large economic losses. This is why the project seeks to expand the understanding of the follicular dynamics in the 12 Argentine saddle mares imported in 2007 by the Colombian National Police to Mancilla equine breeding centre. Conducting a follow-up every 6 hours through Transrectal ultrasound which measures the daily rate of pre-ovulatory follicles growth, from the 35 mm diameter until ovulation, the diameter to ovulation and the effect of ovulation inducer Deslorelin by comparing simultaneously two homogenous groups of mares: TT 1 after the application of NaCL, and TT 2 after application of the Deslorelin. The data were analysed using analysis of variance and T-Student test. The results obtained showed that the Argentine saddle mares, under the conditions lived in Sabana de Bogotá, have a daily follicular growth of 2,24 (+/-0,367) mm/day, although there was no statistically significant difference ($P > 0,05$) with the TT2. The maximum diameter of the preovulatory follicle was 44,39 mm (+/-1,28 mm). Statistically significant difference was found ($P < 0, 05$) compared with TT2 group, and the interval in hours (application of the Deslorelin - ovulation) was 37 hours (+/-0,68 h). Although 16,6% of the mares did not respond to the inductor, it was statistically significant ($P < 0, 05$) in comparison to the TT1 group. Even though knowledge and awareness were gained in terms of understanding the follicular dynamics of these mares, this study is the starter of futures researches that involves more knowledge about follicular dynamics in the mare in the tropical conditions.

Keywords: Deslorelin®, estrous cycle, follicle, mare, ovulation, photoperiod, seasonality

1. INTRODUCCIÓN

La yegua es considerada una especie poliéstrica estacional que, en función de la latitud, presenta cambios en el ritmo circanual de la reproducción, de tal manera que exhibe actividad ovárica máxima durante primavera y verano, 15 a 16 horas de luz (Munroe & Scott, 2011), y periodos de no actividad en los meses de invierno como respuesta a mayor liberación de melatonina (ML), la cual ejerce su acción sobre receptores específicos acoplados a una proteína G, en el sistema nervioso central (Walsh et al., 2013), lo que inhibe la liberación de GnRH por parte del hipotálamo y tiene como consecuencia la disminución en la liberación de gonadotropinas. Esto genera el bloqueo de la dinámica folicular, ya que los niveles de FSH no son suficientes para que ocurra la segunda activación denominada activación de folículos terciarios o antrales. Esta activación, en el caso particular de las especies fotoperiódicas, ocurre solamente en la temporada de transición y en la reproductiva (Gigli et al., 2006).

En condiciones tropicales no se ha observado estacionalidad debido a la poca oscilación en el fotoperiodo durante el año, aunque otros factores como nutrición, condición corporal, temperatura e historia de estacionalidad en otras latitudes pueden generar cambios en la ciclicidad de las yeguas (Nagy et al., 2000).

La frecuente importación de equinos desde países estacionales hacia países tropicales como Colombia genera un cambio sobre la fisiología reproductiva de éstos, lo que puede generar periodos de anestro prolongados (Slusher et al., 2004), por lo tanto, una baja en la eficiencia reproductiva individual como del sistema productivo en general y el consecuente aumento en los costos de manejo, alimentación, tratamientos hormonales, entre otros. Por esta razón, es fundamental dilucidar aspectos con relación a los ciclos reproductivos, dinámica folicular y adaptación al medio para asegurar una introducción eficiente de estos animales en los sistemas de producción equina del país, con el fin de aprovechar al máximo su potencial genético y reproductivo, lo que se verá reflejado en el mejoramiento genético de una parte significativa de la población caballar del país.

Es por esta razón que el proyecto tiene como objetivo evaluar la tasa diaria de crecimiento folicular, diámetro máximo del folículo preovulatorio y el efecto de la aplicación intramuscular

de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH: Deslorelin, como inductor de la ovulación en 12 yeguas Silla Argentina importadas por la Policía Nacional de Colombia al criadero caballar Mancilla, ubicado dentro del municipio de Facatativá, Cundinamarca.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El conocimiento de la fisiología reproductiva de la yegua es fundamental a la hora de utilizar las biotecnologías de la reproducción, sobre todo, si se tiene en cuenta el aumento en el número de importaciones de yeguas desde países estacionales a Colombia, debido a que dichas adquisiciones generan cambios significativos en la fisiología reproductiva de estos animales con historia de estacionalidad en el ritmo circanual de su reproducción. Al realizar dichas importaciones se debe tener en cuenta que la yegua es considerada poliéstrica estacional. En función del fotoperiodo presentan cambios en la actividad ovárica. Manifiestan actividad máxima durante primavera y verano (15 a 16 horas de luz), y periodos de no actividad ovárica en los meses de invierno (Nagy et al., 2000), Dicha Situación no ocurre en países cercanos a la línea del Ecuador, como en el caso de Colombia, puesto que se presenta un patrón de luminosidad que varía muy poco durante el año, haciendo que las yeguas sin historia de estacionalidad presenten características de poliestricas anuales, siempre y cuando la alimentación se mantenga constante durante todo el año (Ramírez et al., 2010).

En el caso de las yeguas Silla Argentina importadas en el 2007 por la Policía Nacional de Colombia al Criadero Caballar Mancilla, originarias de Argentina, país que presenta una variación marcada en el fotoperiodo durante el año, con presencia de días de mayor luminosidad en los meses de octubre, noviembre y diciembre, época del año que coincide con el periodo de monta (Gigli et al., 2006). Evidenciaron que algunas de las yeguas presentaron anestros prolongados después de su llegada al país y lo atribuyeron en su momento a la historia de estacionalidad.

Por ende, se genera la necesidad de dilucidar aspectos con relación a los ciclos reproductivos, dinámica folicular, adaptación al medio y respuesta a los protocolos de inducción de ovulación puesto que la introducción de estos ejemplares provenientes de países estacionales a los distintos sistemas de producción equina del trópico se puede optimizar por medio de la reducción del posible tiempo de anestro por historia de estacionalidad que estos animales pueden presentar, lo que genera disminución en los costos de manejo, nutrición y, lo más importante, redundando en el máximo provecho del potencial reproductivo de la hembra genéticamente superior. Una de las situaciones que más preocupa a los criadores de caballos es la de poder obtener el máximo

rendimiento reproductivo de sus animales para, de esta manera, obtener el mayor número de crías en un periodo de tiempo determinado (Fragoso, 2007).

3. OBJETIVOS

3.1. General:

- ✓ Determinar la dinámica del crecimiento en folículos dominantes mayores a 35 mm de diámetro, en yeguas Silla Argentina, importadas en el año 2007 y en el ámbito de la sabana de Bogotá.

3.2. Específicos:

- ✓ Calcular la tasa diaria de crecimiento folicular, a partir de 35 mm de diámetro hasta la ovulación, en 12 yeguas Silla Argentina y en el ámbito de la sabana de Bogotá.
- ✓ Calcular el diámetro máximo del folículo preovulatorio en 12 yeguas Silla Argentina en el ámbito de la sabana de Bogotá.
- ✓ Evaluar la eficacia del análogo de GnRH: Deslorelin como inductor de la ovulación, en un programa de reproducción asistida en yeguas Silla Argentina y en el ámbito de la sabana de Bogotá.

4. HIPÓTESIS

- La aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH: Deslorelin, como inductor de la ovulación, afecta la tasa diaria de crecimiento folicular en folículos > a 35 mm de diámetro.
- La aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH Deslorelin, como inductor de la ovulación, reduce el diámetro máximo del folículo preovulatorio.
- La aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH Deslorelin, como inductor de la ovulación, reduce el tiempo entre el momento de la aplicación hasta que ocurre la ovulación (36 a 48 horas).

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Ciclo estral.

El ciclo estral es la secuencia repetida de eventos después de la pubertad, que preparan a la yegua para la concepción (Díaz et al., 2009); está determinado por el periodo entre dos ovulaciones seguidas, acompañadas de signos de estro y concentración de progesterona superior a 1 ng/ml (Raz & Raz, 2012). Es controlado por un complejo sistema neuro-endocrino donde se destaca la acción del eje hipotálamo- hipófisis-ovario, y la acción endocrina de la glándula pineal y endometrio entre otras, puesto que factores inherentes al animal, como factores medioambientales, generan señales nerviosas estimulantes o bloqueadoras de la liberación por parte del hipotálamo al sistema portal del factor estimulante de las gonadotropinas (GNRH); este decapeptido, a su vez, estimula a nivel hipofisario la liberación de gonadotrofinas (FSH y LH), que actúan directamente sobre el funcionamiento gónada (Irvine et al., 2000).

La duración media del ciclo estral en la yegua es de 21 días (19-22). Se divide en dos fases: (1) estro (fase folicular), con una duración oscilante entre 5-7 días y (2) diestro (fase lútea), que tiene una duración oscilante entre 14-15 días (Cunningham & Klein, 2009) En la fase folicular hay un aumento en la producción de estrógenos (E2) por parte de los folículos que se encuentran en crecimiento (Andrade et al., 2011), generando receptividad sexual por parte de la hembra hacia el garrón, además de la preparación del aparato genital para el transporte de los espermatozoides hacia el ampulla, región en el oviducto donde se lleva a cabo el proceso de fecundación del ovocito (Raz & Raz, 2012), liberado 12- 24 horas antes de finalizar el periodo receptivo.

Con ello se inicia la fase lútea, donde posteriormente se desarrolla el cuerpo lúteo y subsecuente secreción de progesterona (P4), preparando a la yegua para llevar a cabo la gestación. De lo

contrario, las glándulas endometriales, mediante la producción de la prostaglandina F_{2α} y el sistema de transporte contra corriente en la arteria útero ovárica, generan lisis del cuerpo lúteo en aquellas yeguas en las que no se presentó el proceso de reconocimiento materno de la gestación (Pinaffi, et al., 2012).

En la mayoría de los casos, durante el periodo de anestro, los ovarios se encuentran pequeños, lisos, útero flácido, cérvix parcialmente relajado, la hembra no es receptiva al garañón y en ausencia de cuerpo lúteo la concentración de P4 es inferior a 1 ng/dL. A medida que el fotoperiodo aumenta al principio de la primavera ocurre el período que transcurre entre el final del anestro fisiológico y el inicio de la estación reproductiva denominado período de transición. En esta etapa la receptividad sexual (estro) en la mayoría de las yeguas es errática. Las yeguas aceptan al semental durante períodos que pueden durar hasta 20 días, pero sus ovarios con aspecto de “pequeño racimo de uvas” muestran un pobre desarrollo folicular y generalmente no hay ovulación, por lo que no son calores fértiles. Esta es la razón del porqué la mayoría de los servicios o inseminaciones en esta etapa son infructuosos y los índices de concepción muy bajos o nulos. Fenómeno que ocurre nuevamente cuando el fotoperiodo disminuye y concuerda con el final de la estación de monta y el inicio del anestro estacional (Munroe & Scott, 2011). A medida que la actividad ovárica aumenta comienza a presentarse edema en el tracto, los crecientes niveles de FSH aumentan, en la etapa transicional tardía se genera un mayor desarrollo folicular (Slusher et al., 2004); este periodo es seguido por la estación reproductiva donde los niveles hormonales son los apropiados, hay ovulaciones de forma cíclica y receptividad al caballo.

En el hemisferio norte principalmente, algunas asociaciones establecen una fecha para los nacimientos que coincide con el principio del año, obligando a los criadores a preñar la mayoría de sus yeguas en la primera ovulación (Nagy et al., 2000), puesto que los potros nacidos al principio de año tienen ventaja sobre los nacidos tarde durante el año. Para esto han tenido que optar por la suplementación de luz artificial y tratamientos farmacológicos buscando anticipar la primera ovulación y concepción. Finalizando otoño el fotoperiodo disminuye y las yeguas entran

en un segundo periodo transicional, para posteriormente entrar en anestro estacional en los meses de invierno, periodo en el cual se lleva a cabo la gestación.

5.2 Eventos endocrinológicos del ciclo estral.

La función reproductiva de la hembra equina está controlada por un complejo sistema neuroendocrino determinado principalmente por el balance de las hormonas producidas por la glándula pineal, el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el endometrio (Raz & Raz, 2012). El hipotálamo es considerado como punto clave del control reproductivo debido a la acción liberadora de los gonadotropos al sistema portal hipotálamo-hipofisiario de la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH (Andrade et al., 2011), regulada a su vez por neuromediadores como la melatonina, dopamina, serotonina, leptina y opioides (Ferreira et al., 2005; Nagy et al., 2000).

Las principales hormonas reproductivas pueden ser clasificadas en gonadotropinas y esteroides; entre las gonadotropinas se encuentran principalmente la hormona foliculo estimulante (FSH), luteinizante (LH) y gonadotropina corionica equina (ECG), las dos primeras liberadas bajo estimulación de GnRH en la adenohipófisis, y actúan directamente sobre el funcionamiento y dinámica folicular, la tercera producida durante la gestación por los cálices endometriales. Por otro lado las hormonas esteroideas: estrógenos, progestágenos y andrógenos, son sintetizados en el ovario, corteza adrenal, placenta y cuerpo lúteo, responsables de la retroalimentación hipotalámica, comportamiento sexual y secreción de otras glándulas, así como cambios morfológicos y funcionales en los genitales internos y externos (Raz & Raz, 2012).

La actividad de los ovarios está regulada por la interacción de mecanismos endocrinos sistémicos y factores locales (paracrinos-autocrinos). El hipotálamo libera GnRH al sistema portal, que, de acuerdo con el patrón de secreción, produce los mecanismos moleculares necesarios para la liberación de glicoproteínas producidas por la hipófisis, FSH y LH. Los folículos se desarrollan hasta el estadio antral sin requerir de las hormonas gonadotróficas. En la yegua los folículos pueden crecer hasta 2 mm en ausencia de FSH. Es decir, que la activación inicial de folículos

primordiales es gonadotrófica independiente y comienza en la vida fetal (Gigli et al., 2006). Los factores del fluido folicular que permiten la elevada respuesta a las gonadotropinas del futuro folículo dominante durante el desvió incluyen: esteroides, factor de crecimiento insulínico tipo-1 (IGF-1), inhibina-A y activina-A entre otros (Beg & Ginther, 2006).

La acción del IGF consiste en estimular la proliferación de las células de la granulosa, la síntesis de hormonas esteroideas y también la producción de inhibinas y activinas. En otras palabras, amplifica la respuesta desencadenada por la FSH (Beg & Ginther, 2006). La acción de IGF está regulada por la enzima proteolítica PAPP-A, por sus siglas proteína plasmática asociada a la preñez, ya que aumenta la bioactividad de la IGF al degradar las proteínas de unión. Se describe en la yegua un aumento de esta enzima proteolítica en folículos preovulatorios mayores de 35 mm. Es decir que los folículos dominantes tienen mayor bioactividad de IGF traduciéndose en una mayor respuesta del estímulo de FSH (Gigli et al., 2006).

La FSH es necesaria para el reclutamiento de folículos antrales. Las células de la teca interna de los folículos terciarios responden al estímulo de la FSH produciendo andrógenos y estimulando la activación de la enzima aromatasa en las células de la granulosa y transformando a los andrógenos en estradiol. La FSH también está involucrada en el aumento de la vascularización del folículo dominante (Gigli et al., 2006). Esta hormona, junto al estradiol, estimula la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio. La FSH también cumple un rol en el proceso de ovulación al estimular la secreción del activador del plasminógeno por parte de las células de la granulosa.

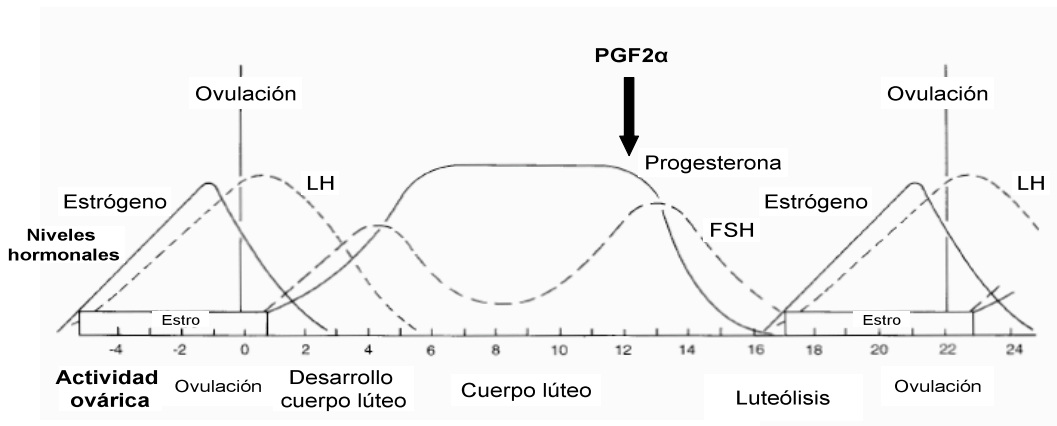
En la yegua la secreción de FSH puede ser uní o bimodal. El patrón bimodal se observa solamente en el período de transición de primavera y al inicio de la temporada reproductiva, describiendo un patrón unimodal en plena temporada reproductiva. Cuando la FSH presenta el patrón bimodal, su concentración en plasma tiene un primer pico al final del estro y un segundo pico en la mitad del diestro. En el patrón unimodal estaría ausente el primer aumento (Gigli et al., 2006).

El crecimiento del folículo dominante, después del proceso de selección, es menos dependiente de FSH, cuya concentración se mantiene en niveles basales, debido a la producción de estrógeno (E2) e inhibina, que generan una retroalimentación negativa en la hipófisis.

Sin embargo, el mantenimiento de una concentración mínima plasmática de FSH es esencial para su supervivencia y crecimiento. Las actividades del folículo pasan a ser controladas por los pulsos de LH, debido a que hay mayor número de receptores a esta hormona en las células de la granulosa (Andrade et al., 2011), la cual se encarga de reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL) (Gigli et al., 2006).

Las inhibinas y activinas son producidas por las células de la granulosa del folículo dominante; tanto las inhibinas como las activinas actúan en forma paracrina, inhibiendo o estimulando el crecimiento de los folículos subordinados respectivamente. Las inhibinas además actúan en forma sistémica inhibiendo la secreción de FSH a nivel de la hipófisis. La secreción de las inhibinas es estimulada por la FSH, formando así un circuito de regulación (Gigli et al., 2006).

Figura 1. Niveles hormonales y actividad ovárica durante el ciclo estral de la yegua.



Fuente: (Slusher et al., 2004).

5.3 Estacionalidad.

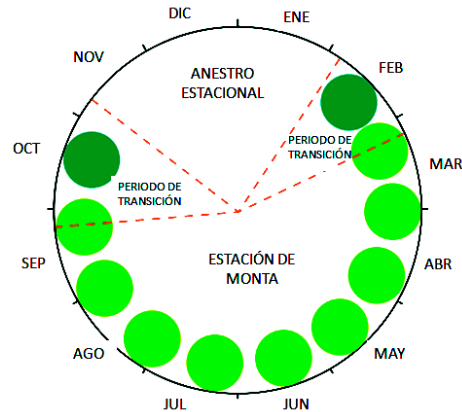
Para la mayoría de las especies, la perpetuación de su existencia constituye uno de los objetivos esenciales de la reproducción, la cual se desarrolla bajo la influencia del medio ambiente

(Chemineau, 1993). Por lo tanto, éstas han desarrollado estrategias y periodos reproductivos asegurando los nacimientos de su progenie en la época del año más apropiada (Nagy et al., 2000).

La yegua es considerada una especie poliéstrica estacional (Raz et al., 2009). En función de la latitud exhiben actividades ováricas máximas durante primavera y verano (15 a 16 horas de luz), y periodos de no actividad ovárica en los meses de invierno, periodo conocido como “anestro estacional” (Munroe & Scott, 2011; Romano et al., 1998). En el hemisferio norte la estación con mayor actividad ovárica va desde abril hasta octubre y en el hemisferio sur desde octubre hasta marzo (Williams et al., 2012), debido a la alta oscilación en la duración del día y la alta fotosensibilidad de esta especie a estos cambios. Se afecta directamente la liberación de GnRH, puesto que está regulada a través de neuromediadores como la melatonina, dopamina, serotonina y opioides (Nagy et al., 2000).

A pesar de que la yegua es poliéstrica estacional, la variación en la luminosidad diaria ejerce sus efectos más significativos en cuanto más distantes están los animales de la línea del ecuador (Ginther, 1992), presentando un ciclo reproductivo anual dividido en dos estaciones bastante marcadas debido al fotoperiodo, una anovulatoria y otra ovulatoria (Rodríguez et al., 2013). En condiciones tropicales no se ha observado anestro estacional en las yeguas sin historia de estacionalidad debido a la poca oscilación en el fotoperiodo durante el año (De Albuquerque et al., 2008; Ramírez et al., 2010). Otros factores como: la condición corporal, temperatura y la mala nutrición influyen para que en la especie equina ocurra un periodo de no actividad ovárica aunque el fotoperiodo se mantenga más o menos constante durante el año (Nagy et al., 2000).

Figura 2. Estacionalidad en hemisferio norte.



Fuente: (McGing et al., 2010).

5.4 Fotoperiodo.

Las variación en la duración del día “fotoperíodo” se considera como el factor externo más determinante en el ritmo circanual de la reproducción, afectando directamente el eje hipotálamo-hipófisis- gónada (Cunningham, 2004; De Albuquerque et al., 2008; Freire, 2011; Nagy et al., 2000). Otros factores como la nutrición, temperatura ambiental, condición corporal, estado sanitario y presencia del garañón (De Albuquerque et al., 2008; Nagy et al., 2000) determinan el correcto funcionamiento o no del eje hipotálamo- hipófisis gónada- que, en el caso de la yegua, hace referencia al ovario, permitiéndole llevar a cabo una preñez y un parto en la época más apropiada del año.

La yegua es considerada una especie de “días largos” (Chemineau, 1993) o primavera / verano y principio de otoño”, aunque alrededor de un 20 % de las yeguas siguen presentando ovulaciones durante meses de invierno, la gran mayoría presentan periodo de no actividad ovárica en los días de menor luminosidad (Munroe & Scott, 2011). Debido a que cambios en la duración del día (fotoperiodo) son captados por células especializadas en la retina, se genera una señal interneuronal por el tracto retino, hipotalámico, aumentando la actividad de N-acetiltransferasa que estimula la liberación de melatonina (ML) en la glándula pineal (Walsh et al., 2013). Ésta actúa directamente sobre receptores acoplados a una proteína G, algunos de alta afinidad (ML1) o de baja afinidad (ML2), ubicados en núcleos específicos en el sistema nervioso central entre los que se resaltan (pars tuberalis, núcleo supraquiasmático y área medio basal) (Nagy et al., 2000), generando una disminución en la liberación por parte del hipotálamo de GnRH, y como

consecuencia una baja secreción de FSH y LH por la adenohipófisis, (Boeta et al., 2006), bloqueando así la actividad ovárica, puesto que los folículos pre antrales pueden quedar retenidos en su crecimiento por largos períodos, hasta que ocurre la segunda activación denominada activación de folículos terciarios o antrales, la cual requiere niveles elevados de FSH. Esta activación en el caso particular de las especies fotoperiódicas ocurre solamente en la temporada de transición y reproductiva (Gigli et al., 2006).

El bajo o nulo desarrollo folicular en los periodos de menor exposición a la luz genera una baja significativa en producción de estrógenos y posiblemente efecto inhibitor sobre la liberación de prolactina (Munroe & Scott, 2011).

5.5 Dinámica folicular.

En las yeguas, el ciclo estral se caracteriza por presentar ondas de crecimiento folicular ovárico con dos patrones típicos: Onda folicular mayor, que posee folículos dominantes y subordinados, pudiendo normalmente iniciar en la segunda mitad del ciclo estral y termina con la posterior ovulación, y una onda folicular menor, en donde el folículo mayor no alcanza el diámetro necesario para promover la divergencia entre los futuros folículos subordinados, iniciándose al final del estro hasta el inicio del diestro. Las ondas que emergen en la segunda mitad del ciclo estral y culminan con la ovulación se clasifican como foliculares primarias, y las ondas que surgen entre el final del ciclo y el inicio del diestro se denominan secundarias. El inicio de una onda de desarrollo folicular se estimula por el aumento en FSH, que en la especie equina es la responsable del reclutamiento de los folículos con diámetro de aproximadamente 13 mm. 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. En este momento, los folículos inician la divergencia en diámetro, que se caracteriza por la selección y el crecimiento continuo de un folículo mayor, que será considerado como dominante, reduciéndose el crecimiento en los folículos remanentes, tornándose como subordinados (Andrade et al., 2011)

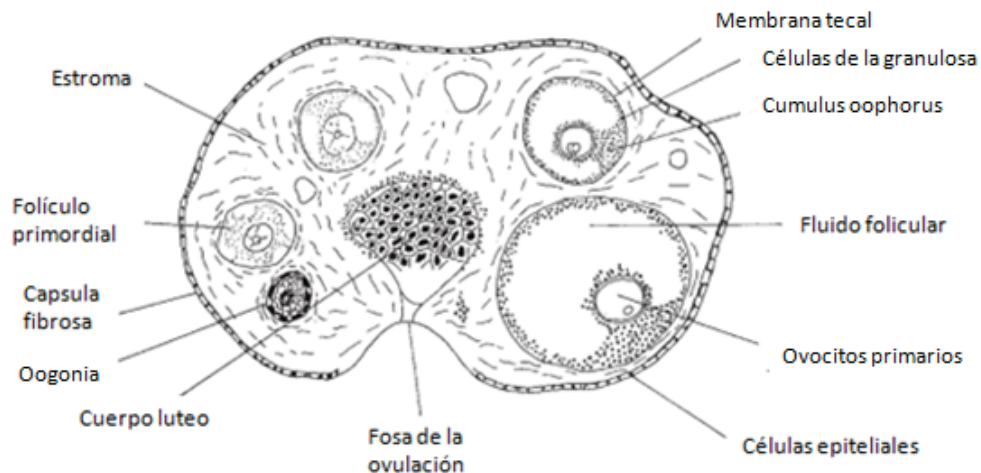
5.5.1 Fases de crecimiento folicular: Las células pre-granulosas, derivadas del epitelio ovárico, se diferencian en células granulosas, rodeando a los ovocitos I quedando así formados los folículos primordiales. Estos se caracterizan histológicamente por el ovocito I detenido en la

profase de su primera división meiótica (diploteno) rodeado por una capa plana de células de la granulosa. Estos folículos forman la reserva gametogénica o «población de folículos de reserva» que una hembra va a utilizar en toda su historia reproductiva. Se estiman entre 36.000- 46.000 folículos primordiales en el ovario de potrancas (Gigli et al., 2006).

Antes del inicio de la mitosis por parte de las células de la granulosa pasan de forma plana a cubica rodeando el ovocito I. Cuando esto sucede los folículos se clasifican en folículos primarios, el ovocito comienza a rodearse por una capa celular amorfa de glicoproteínas denominada zona pelúcida. Las células de la teca interna comienzan a rodear las células de la granulosa; a medida que éstas aumentan de tamaño y número se denomina folículo secundario, al ovocito I lo rodean varias capas de células de la granulosa. Las células tecales se diferencian en una capa externa y otra interna, rodeando por fuera a las células de la granulosa; hasta este estadio los folículos se denominan preantrales y el desarrollo no requiere de las hormonas gonadotróficas. (Gigli et al., 2006).

Los folículos terciarios o folículos antrales se caracterizan histológicamente por la presencia de la cavidad antral y por estar rodeados de varias capas cúbicas de células de la granulosa que comienzan a secretar un trasudado que se denomina líquido folicular, que al acumularse produce un reordenamiento de las mismas en células del cúmulo y murales. Este trasudado comienza en el equino en folículos de 0,2 a 0,4 mm. A nivel molecular se caracterizan por una mayor expresión de receptores para FSH en las células de la granulosa (Ginther et al., 2000), y de LH en las células de la teca; luego del crecimiento de los folículos dominantes éstos se convierten en folículos preovulatorios o folículos de Graaf, los cuales tienen la capacidad de responder al estímulo de la LH produciendo cambios morfológicos y bioquímicos que finalizarán reiniciando la meiosis y desencadenando la ovulación. En la yegua el folículo preovulatorio es mayor a 35 mm (Gigli et al., 2006).

Figura 3. Diagrama del desarrollo folicular y ovulación en el ovario de la yegua.



Fuente: (Morrel., 2003).

5.5.2 *Patrón de crecimiento folicular*: Calcular el diámetro folicular mediante la ultrasonografía es una herramienta esencial para la predicción del momento de la ovulación, ya que la inseminación artificial o monta debe ser lo más cercano a ésta para obtener mayor tasa de preñez; para esto es fundamental el conocimiento de la tasa diaria de crecimiento folicular, diámetro a la ovulación (Cuervo & Newcombe, 2008) y en general el conocimiento de la fisiología reproductiva de esta especie junto a las variaciones que pueden generar factores como individualidad, raza y medio ambiente (Raz & Raz, 2012).

Los folículos crecen 2 a 3 mm / día hasta que un folículo dominante es seleccionado para continuar su crecimiento (Bergfelt, 2000). La diferencia de diámetro entre los dos folículos mayores, al inicio de la divergencia, es equivalente a un periodo de crecimiento de aproximadamente 24 horas (2–3 mm) (Ginther et al., 2000). Aparentemente, éste es el momento en que el folículo más grande (dominante) establece el dominio en el proceso; la tasa del crecimiento de los dos folículos entre la divergencia y desviación (6 días después) no difieren (Gastal et al., 1999). Pero antes de que el folículo de tamaño inferior (secundario) pueda alcanzar un diámetro similar al dominante, el futuro folículo dominante (FD) ejerce un papel primario de supresión de la concentración de FSH circulante, generando la regresión en la mayoría de los casos de los folículos secundarios o sub-ordinados (Andrade et al., 2011). Los folículos de más de 25 mm de diámetro (dominante) crecen de 3 a 4 mm/día (Edward, 2003) hasta alcanzar el diámetro a la ovulación.

5.6 Ovulación.

Es un complejo proceso que involucra una serie de eventos que resultan en la ruptura del folículo dominante (>30 mm) en la fosa de la ovulación, y la liberación del fluido folicular, células de la granulosa y el complejo cumulus/oocito (Bergfelt, 2000). Generalmente es un proceso rápido que en el 50 a 90 % de los casos, el vaciamiento del fluido antral es de 60 segundos aproximadamente (Samper, 2000).

Predecir el momento exacto de la ovulación es difícil y requiere práctica en la palpación y observación ultrasonográfica transrectal. El folículo preovulatorio en la yegua cambia de forma y consistencia (pierde turgencia) a la palpación transrectal momentos antes de producirse la ovulación. Por ultrasonografía se puede observar que de una forma circular, el folículo comienza a achatare, haciéndose más cónico con el vértice, apuntando hacia la fosa de ovulación junto con un engrosamiento de la pared folicular (Gigli et al., 2006).

La ovulación ocurre normalmente 24–36 horas antes de terminar el estro y determina el comienzo (día 0) del ciclo estral (Morel, 2003). En promedio 4.2 días después de que el folículo ha alcanzado los 35 mm (Ginther, 1992). El diámetro del folículo a la ovulación varía en rangos normales desde 30 hasta 70 mm, generalmente aproximado a 40 - 45 mm, algunas menos y otras más pues cobra gran importancia el factor individuo y raza (Blanchard et al., 2006).

Este proceso es desencadenado en la especie equina por un aumento gradual y progresivo de LH que, debido a la concentración alta de ácido siálico, le otorga a la LH mayor vida media porque se metaboliza más lentamente en el hígado (Gigli et al., 2006), alcanzando la concentración máxima en el plasma 24-48 horas después de la ovulación. Está íntimamente asociado con los cambios locales en el flujo sanguíneo dentro de la pared del folículo preovulatorio. Estos eventos están asociados con las interacciones entre péptidos vasoactivos, prostaglandinas y esteroides que ejercen un papel clave en la cascada de la ovulación (Andrade et al., 2011).

El incremento de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (NOSe) aumenta la irrigación de los folículos 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 alteran el flujo sanguíneo folicular, contribuyendo al proceso de la ovulación.

El hecho de que el ET-1 estimule la liberación de ANP, y éste estimule la liberación de angiotensina II, indica que estos péptidos actúan localmente y semejante a una reacción en cadena. Ésta cascada puede mediar la acción de la LH para acelerar la producción de prostaglandina ovárica durante el periodo preovulatorio, la cual inicia el proceso de lisis de la pared folicular (Andrade et al., 2011).

En respuesta al incremento en la LH, ocurre una secreción concomitante de los péptidos vasoactivos, de la uroquinasa y del activador de plasminógeno, que activan las colagenasas latentes y estimulan la liberación del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) el cual, progresivamente, induce la expresión génica de las metaloproteinasas, llevando a la apoptosis y a la respuesta inflamatoria (Andrade et al., 2011).

Además del incremento en la apoptosis (muerte celular programada), sucedida por necrosis extravasación de células sanguíneas, colapso vascular e isquemia. Las colagenasas, inducidas por el TNF- α , desorganizan la red de fibras de la teca y de la túnica albugínea (vía matriz metaloproteinasa 1, MMP-1) promoviendo la digestión 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 causan un progresivo estrechamiento de la pared ovárica y consecuente ruptura del folículo en la fosa de la ovulación (Andrade et al., 2011).

Aunque las yeguas tienen un sitio único para la ovulación (fosa de la ovulación), es posible que ocurran dobles ovulaciones cuando hay la presencia de 2 folículos dominantes, generalmente en el lado contra lateral (Blanchard et al., 2006). La presencia de doble ovulación tiene una incidencia de 16%, siendo el factor racial predisponente para la presencia de ovulaciones múltiples, puesto que hay mayor incidencia en yeguas Appaloosa, Cuartó de milla y Poni; en cambio menos incidencia en yeguas árabes. J. Samper, Pycock & McKinnon (2007) sugieren que hay mayor incidencia en los meses de verano, y que la edad también es determinante pues la

incidencia de ovulaciones múltiples es de 22% en yeguas entre 2 y 4 años de edad, 51% en yeguas entre 17 a 19 años y 4,8% en yeguas entre 15 y 18 años.

5.7 Inducción de la ovulación.

El control de la ovulación es un punto clave en el manejo reproductivo de la yegua (Magee et al., 2012). Por esta razón la inducción de la ovulación es una práctica frecuente dentro del manejo reproductivo en los diferentes criaderos del país, buscando reducir el número de inseminaciones, la duración del ciclo y el intervalo hasta la ovulación, lo que aumenta las tasas de fertilidad (McCue et al., 2007).

La GnRH y la hCG son agentes frecuentemente utilizados para inducir la ovulación en la yegua. El análogo de GnRH, Deslorelin, es un producto avalado para el uso en yeguas a dosis total de 2,2 mg (Bergfelt, 2000), el cual ejerce su mecanismo de acción estimulando los gonadotropos en la adenohipófisis a liberar LH, y la posterior unión de la LH a receptores ováricos para la maduración folicular y subsecuente ovulación aproximadamente 48 horas pos aplicación intramuscular (Raz et al., 2009). En cambio, la gonadotropina corionica humana (hCG) es una hormona glicoproteica extraída del útero de mujeres gestantes que, en la yegua, al aplicarse vía intramuscular a dosis de 1500 – 4000 UI, estimula la ovulación actuando como LH, al unirse a los receptores para LH en las células de la granulosa y células tecales en el ovario. La ovulación se produce aproximadamente 36 horas pos aplicación de la hCG y su aplicación al igual que el Deslorelin debe hacerse a partir de un diámetro folicular igual o mayor a 35 mm, para obtener mejores resultados (Ferris et al., 2012). Otros factores como el momento de la aplicación influyen en el efecto de la hCG, puesto que la aplicación de 2000 UI de hCG en horas de la tarde, noche y mañana adelanta 2 horas el momento de la ovulación comparado con la aplicación de hCG al medio día en yeguas Silla Argentina durante la estación reproductiva (Azcurra et al., 2013).

Al realizar aplicaciones continuas de hCG para inducir la ovulación en yeguas, es posible que estas generen anticuerpos contra esta hormona, interfiriendo posiblemente con el proceso de la ovulación. En la Universidad de Colorado han reportado intervalos menos predecibles en la inducción de la ovulación, tras la administración de hCG en yeguas que han recibido el fármaco en más de dos periodos estrales anteriores. Aunque estudios realizados por la Universidad Estatal

de Ohio afirman que la inyección intravenosa de hCG resulta menos probable para inducir la respuesta humoral, obteniendo resultados similares en cada inyección de hCG en yeguas tratadas en un máximo de 4 ciclos estrales, dentro de la misma temporada de monta, o hasta 7 ciclos estrales diferentes en 2 años consecutivos (Brinsko et al., 2011).

El éxito de la inducción de la ovulación en yeguas cíclicas mediante la administración de dosis únicas de GnRH, no ha tenido el resultado deseado. En cambio, los análogos de la GnRH como el Deslorelin, han demostrado ser altamente exitosos para inducir la ovulación puesto que son más potentes y poseen vida media más larga, reportando mayor eficacia clínica que la hCG en folículos grandes de pared gruesa (Maturana et al., 2013).

6 METODOLOGÍA

El proyecto se llevó a cabo en el Criadero Caballar Mancilla, propiedad de la Policía Nacional de Colombia, ubicado dentro del circuito de Facatativá –Cundinamarca–, kilómetro 3 antigua vía a la Vega, con condiciones de temperatura promedio de 12 °C y altitud de 2,690 msnm (<http://oasportal.policia.gov.co>)

Se tomo una muestra de 12 yeguas (n=12), entre 40 de raza Silla Argentina importadas en el 2007 por la Policía Nacional de Colombia al Criadero Caballar Mancilla, tomando como patrón de selección condiciones similares de edad (5-15 años), manejo, nutrición, clima y presencia de uno o más folículos de un diámetro de 28 mm en ausencia de patologías reproductivas y sistémicas, selección realizada mediante las técnicas de palpación y ecografía trasrectal con un equipo (My Lab 5, Pie Medical®) con un transductor lineal multifrecuencia de 3.5, 6 y 7.5 Mhz (Mega-Hertz) y ganancia del 70%. Las evaluaciones se realizaron en modo B (brillo).

A las 12 yeguas seleccionadas se les realizó seguimiento del diámetro folicular, a través de ecografía trasrectal hasta que el folículo alcanzo el diámetro de 35 mm. En ese momento se tomó un grupo tratamiento 1 (TT1), conformado por 6 yeguas (n=6) tomadas al azar del grupo de

12 yeguas (n=12) seleccionadas anteriormente, a las cuales se les aplicó 1 mL de NaCl (solución salina) intramuscular, como placebo; el segundo grupo tratamiento 2 (TT2), conformado por las restantes 6 yeguas (n=6), se les aplicó igualmente vía intramuscular (IM) 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH, Deslorelin como inductor de la ovulación, y posterior a la aplicación se realizó el seguimiento simultaneo de ambos grupos cada 6 horas hasta el momento de la ovulación.

Se realizó la tabulación de los datos obtenidos en el programa EXCEL® calculando la tasa diaria de crecimiento folicular a partir de 35 mm de diámetro, hasta la ovulación mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Diámetro máximo del folículo preovulatorio} - \text{Diámetro inicial: 35 mm}}{\text{Tiempo en horas}}$$

Luego se efectuó un análisis descriptivo de las variables, un análisis de varianza (ANOVA) y los resultados obtenidos se expresaron como un promedio con su respectiva variación estándar para cada valor. Para establecer si hubo diferencias significativas en las interacciones, se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple T-Student y se manejaron niveles de confianza del 95%. El análisis estadístico fue realizado por medio del programa Statgraphics Centurion XVI®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El principal fin de un programa de reproducción de un criadero es la producción de embriones y de crías vivas. Es por esta razón que la implementación de biotecnologías de la reproducción ha aumentado considerablemente. Para hacer más eficiente la reproducción en los equinos, es necesario conocer la fisiología del ciclo estral y de la gestación de la yegua y así poder establecer parámetros de normalidad o anormalidad (Paredes, 2012). Uno de los desafíos para el médico veterinario en Colombia es el manejo reproductivo y la introducción de animales importados a los distintos criaderos de equinos del país, ya que estos pueden llegar a presentar historia de estacionalidad en la presentación de su ciclo reproductivo cuando provienen de países lejanos a la línea del ecuador, donde se presentan cambios marcados del fotoperiodo durante el año (Nagy et al., 2000), situación que no ocurre en los países tropicales, debido a que la duración del día es más o menos constante durante todo el año (Ramírez et al., 2010), exponiendo la yegua a condiciones medio ambientales diferentes a las de su país de origen pudiendo generar anestro prolongado y baja eficiencia reproductiva tanto del individuo como del criadero (Gigli et al., 2006).

Se realizó un seguimiento ecográfico de 12 yeguas (n=12), desde el momento en que el folículo alcanzó un diámetro de 35 mm, a partir de ese momento los animales del grupo tratamiento 2, recibieron la aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH Deslorelin, como inductor de la ovulación, simultáneamente el grupo tratamiento 1 recibió la aplicación de 1 mL de NaCl intramuscular. Los datos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

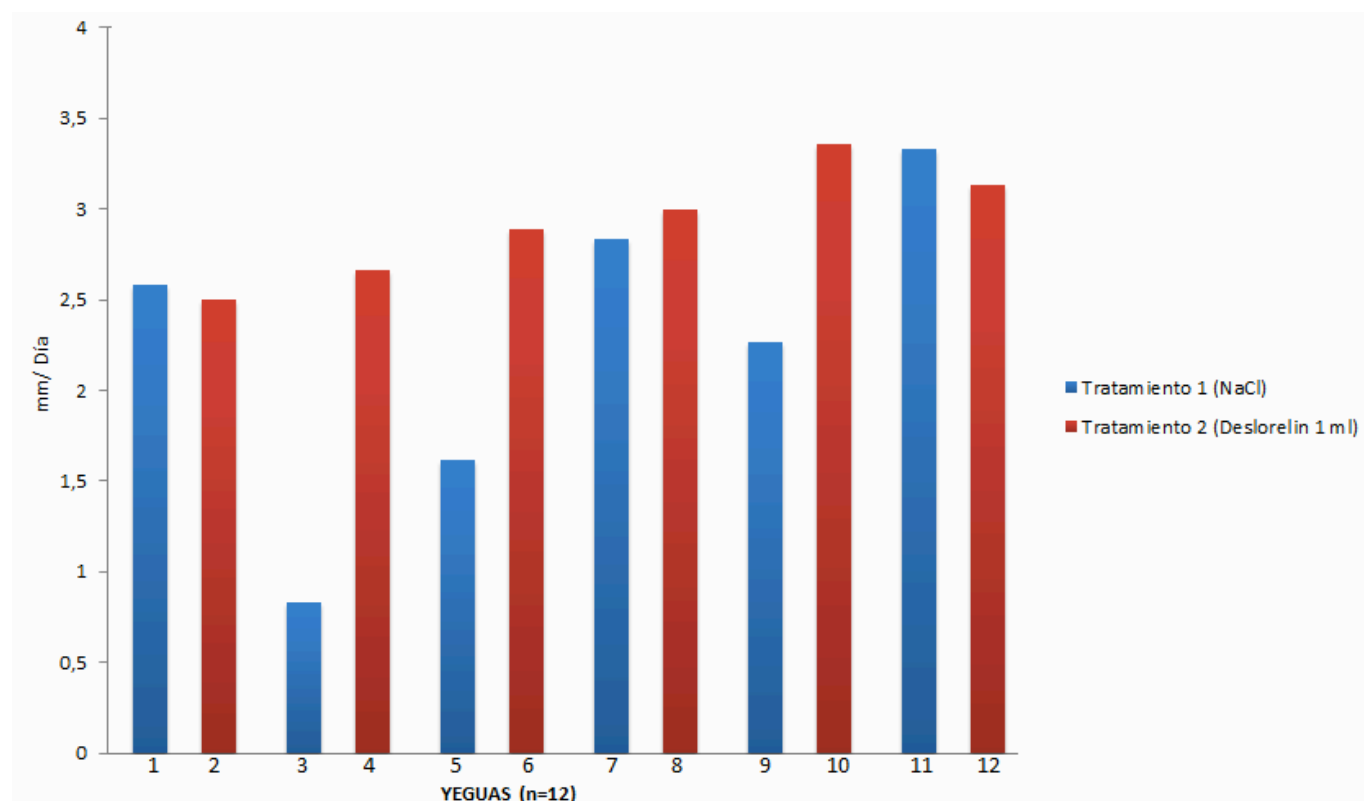
Tabla 1. Parámetros reproductivos tras la administración del placebo (NaCl) y del Deslorelin.

Parámetro	Placebo-Tratamiento 1 (n=6)	Deslorelin-Tratamiento 2 (n=6)	P < α
Crecimiento folicular (mm/día)	2,24 ± 0,367	2,92 ± 0,127	0,06
Diámetro folicular a la Ovulación (mm)	44,39 ± 1,288	38,83 ± 1,271	**
Tiempo a la Ovulación (h)	111 ± 15	37 ± 0,68	**

** diferencia estadísticamente significativa (P≤0,05)

Aunque se encontró diferencia en la tasa diaria de crecimiento folicular, evidenciando un crecimiento diario de 0,68 mm mayor en el grupo tratamiento 2 comparado con el grupo tratamiento 1, no hubo diferencia estadísticamente significativa ($P > 0,05$) calculado mediante el análisis estadístico T-Student. Por otra parte se evidenció que el crecimiento diario folicular a partir de los 35 mm fue más homogéneo en las yeguas del grupo tratamiento 2 tras la aplicación del inductor de la ovulación, como se evidencia en la figura 4.

Figura 4. *Tasa de crecimiento del folículo preovulatorio.*



Otros trabajos realizados bajo condiciones tropicales como el de Benites & Rojas (2013) en yeguas de raza Silla Argentina, reportan una tasa diaria de crecimiento de folículos dominantes de 2,5 mm. Suarez, Quintero & Díaz (2005) reportan un crecimiento diario folicular de 2,8 mm en yeguas PSI en la república de Venezuela. En cambio; estudios realizados bajo condiciones de estacionalidad como el de Montesinos, (2012) reporta un crecimiento diario folicular de 2,47 mm

en yeguas pura raza española; resultado similar al reportado por Dolezel, Ruzickova & Maceckova (2012) en yeguas de raza Czech Warmblood, lo que concuerda con lo descrito por Samper et al., (2007), quienes afirman que el crecimiento diario folicular es de 2-3 mm por día y que puede disminuir en los folículos preovulatorios. Carnevale, Bergfelt & Ginther (1993) plantean también que la tasa diaria de crecimiento folicular se ve afectada por la edad, puesto que las yeguas jóvenes presentan una tasa más rápida de crecimiento folicular que las yeguas mayores a 15 años, situación que se atribuye a una mayor capacidad de respuesta a los estímulos hormonales en yeguas jóvenes.

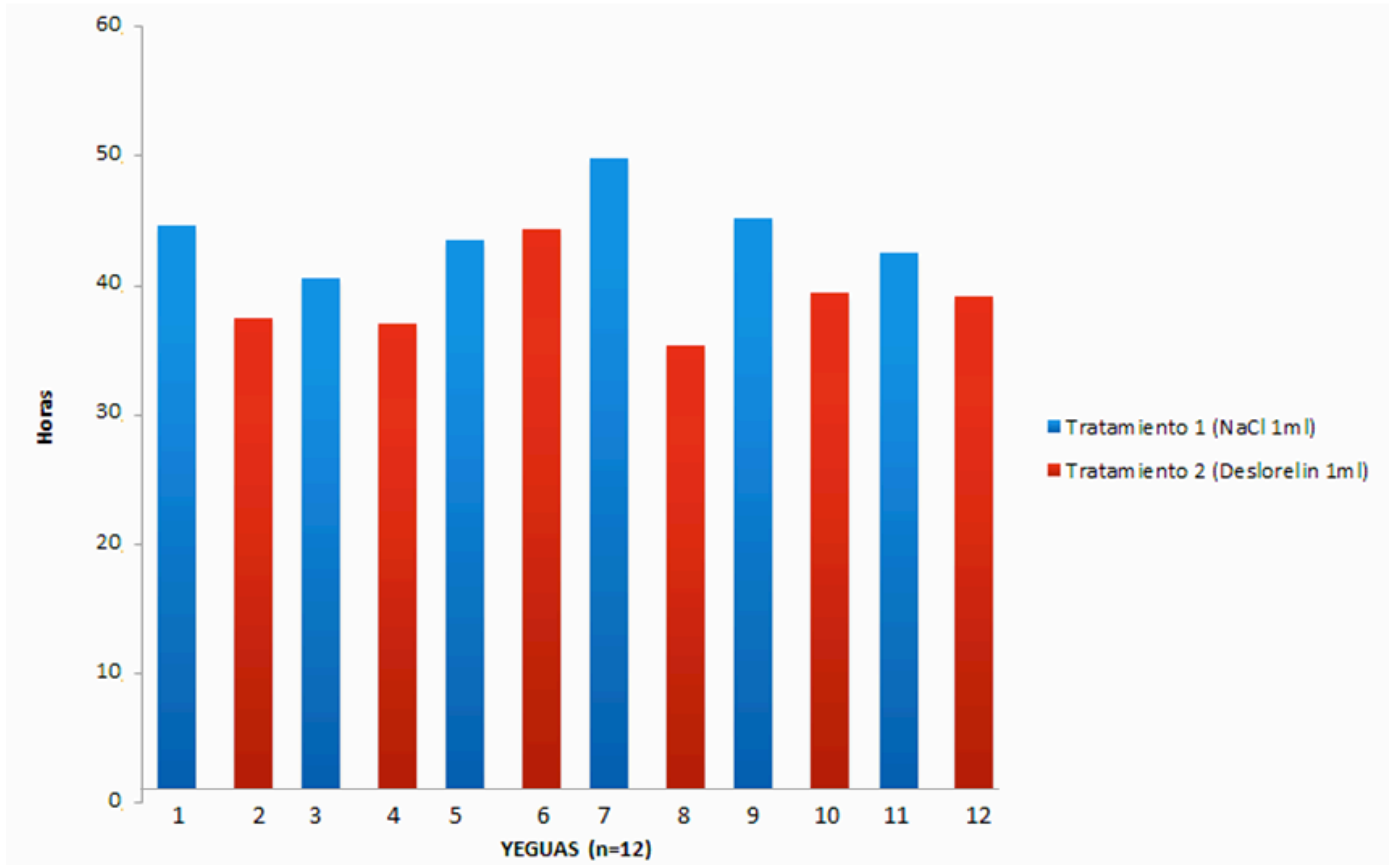
Los resultados obtenidos tras la aplicación de 1 mL del análogo de GnRH, Deslorelin, como inductor de la ovulación (tratamiento 2) concuerdan con lo dicho por Maturana et al., (2013), quienes afirma que el Deslorelin controla la liberación de las gonadotropinas hipofisarias como la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) por parte de la pituitaria anterior, induciendo no solo la ovulación sino también estimulando el crecimiento folicular, como se evidenció en el presente estudio. Pero se deben realizar más estudios al respecto puesto que no se presentó diferencia estadísticamente significativa ($P > 0,05$).

El diámetro folicular se utiliza en gran medida en la práctica, como una herramienta de guía para la predicción del momento más cercano a la ovulación en la especie equina, puesto que la monta o inseminación artificial debe hacerse lo más cercano posible al momento en que se produce este proceso. Para de esa forma obtener mayor tasa de preñez, este parámetro es el criterio clínico más simple y probablemente más utilizado. Algunos trabajos se han apoyado únicamente en el diámetro del folículo preovulatorio; sin embargo, la gran variedad de diámetro folicular preovulatorio en la yegua hace que este criterio fiable tenga un margen de error bastante amplio, debido a que factores tanto de individualidad como de medio ambiente pueden afectar este parámetro (Cuervo & Newcombe, 2008; Gigli et al., 2006). Es por esta razón que el médico veterinario actuante debe tener en cuenta no solo el diámetro del folículo preovulatorio sino también, edema uterino, consistencia del folículo, comportamiento histórico de la yegua, época del año, entre otros, para lograr obtener mayor tasa de éxito a la hora de predecir el momento más cercano a la ovulación (Gigli et al., 2006).

Se evidenció una disminución del diámetro máximo del folículo preovulatorio de 5,59 mm mayor en el grupo tratamiento 2 comparado con el grupo tratamiento 1, generando una diferencia

estadísticamente significativa ($P < 0,05$) calculada mediante análisis de varianza (ANOVA), como se muestra en la figura 5.

Figura 5. *Diámetro folículo preovulatorio.*



Cuervo & Newcombe, (2008) reportan que un diámetro de folículo preovulatorio ideal en la yegua, entre las 24 horas antes de la ovulación, debe oscilar desde 34 hasta 70 mm, aunque yeguas de talla grande ovulan con mayor tamaño como lo afirma Rodríguez et al., (2001) al reportar que las yeguas Pura Raza Española que pesan entre 400-500 kg suelen ovular a partir de folículos entre 45-65 mm de diámetro, mientras que las más pequeñas, con un peso entre 225-350 kg, ovulan con folículos entre 35-45 mm de diámetro. En este orden de ideas Samper et al., (2007) plantean que el diámetro máximo del folículo preovulatorio varía según la raza (aproximadamente 3 mm de diferencia entre yeguas de tipo paseo, 5 mm más pequeño en yeguas miniatura, y 10 mm mayor en yeguas de tiro pesado). En el caso de los animales que se encuentran más lejos de la línea del Ecuador, la temporada genera variaciones significativas en el

diámetro máximo del folículo preovulatorio, que puede variar entre 5 a 8 mm, mayor en la primavera frente al verano y al otoño.

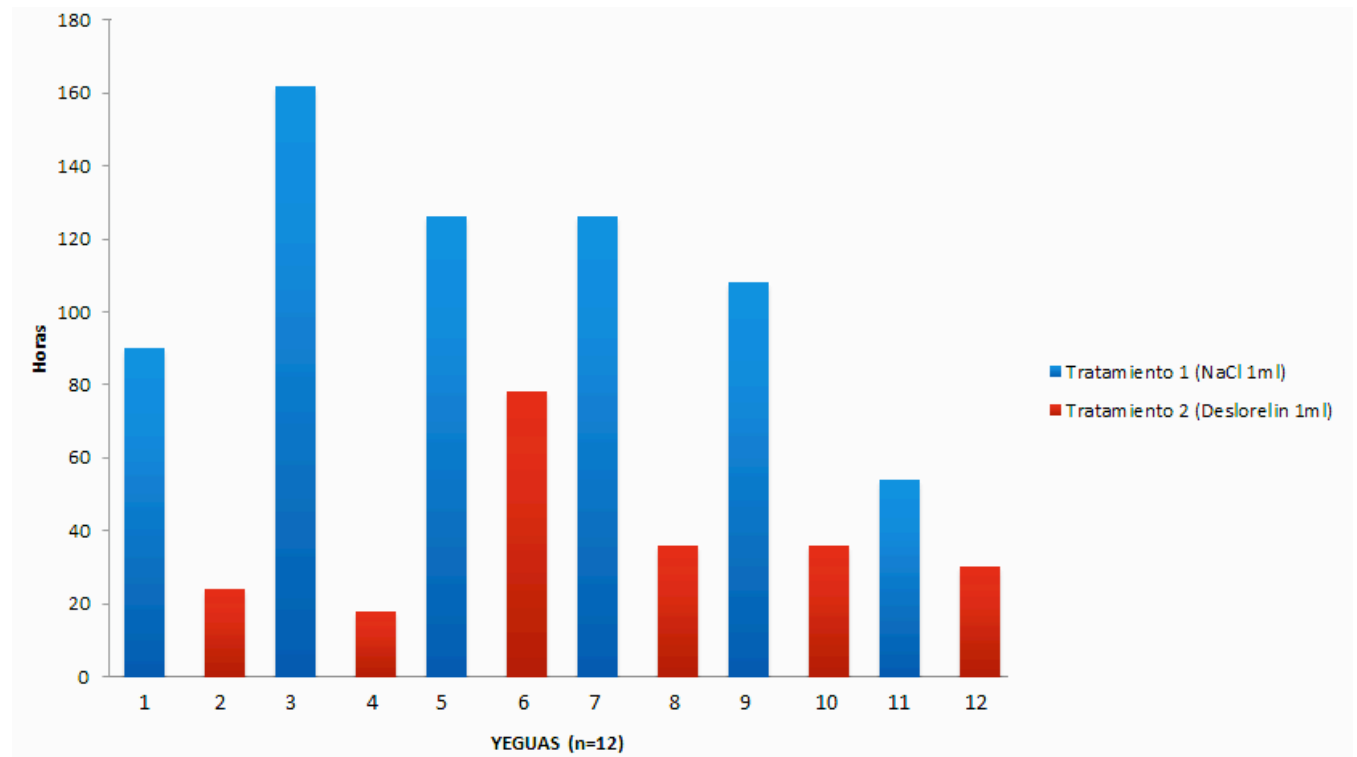
Para el grupo tratamiento 2 tras la aplicación de 1 mL del análogo de GnRH vía intramuscular, los resultados obtenidos se asemejan con los resultados reportados en un estudio similar realizado por Mumford et al., (1995), quienes reportan en yeguas mestizas un diámetro máximo del folículo preovulatorio de 38 mm, tras la aplicación de una dosis única de 2,2 mg de Deslorelin, cuando el folículo alcanzó los 35 mm, comparado con el grupo control al cual le aplicaron NaCl como placebo, llegando al diámetro máximo de 45,8 mm. Situación que concuerda con lo descrito por McCue, (2003) y McKinnon et al., (1993), quienes afirman que, al inducir la ovulación utilizando agentes hormonales exógenos, se genera una disminución en el diámetro máximo del folículo preovulatorio en comparación con las yeguas en las que no se induce la ovulación.

La predicción de la ovulación en yeguas es un objetivo deseable para la industria equina y para fines de investigación. Actualmente hay agentes hormonales tales como hCG, hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y la LH equina recombinante, que pueden inducir la ovulación en la mayoría (del 60 al 90 %) de las yeguas, dentro de un tiempo predecible entre 24 y 48 horas (Gastal & Gastal, 2011).

La aplicación del análogo de la GnRH, Deslorelin como inductor de la ovulación se realizó en el grupo tratamiento 2, a dosis única de 2,2 mg intramuscular, cuando el folículo alcanzó el diámetro de 35 mm, debido a que los receptores de LH en folículos < de 35 mm no son suficientes para obtener la mayor tasa de ovulaciones en el tiempo deseado (Cox et al., 2009).

Al aplicar vía intramuscular 1 mL del análogo de GnRH Deslorelin como inductor de la ovulación, se reduce el tiempo entre el momento en que el folículo tiene un diámetro de 35 mm hasta la ovulación, siendo estadísticamente significativo ($P < 0,05$), calculado mediante el análisis de varianza (ANOVA). Y se encontró una diferencia de 74 horas menos en el grupo tratamiento 2 en comparación con el grupo tratamiento 1; aunque el 16,6% de las yeguas (1/6), no respondieron al protocolo de inducción de ovulación entre las 36 a 48 horas pos aplicación, ovulando a las 78 horas, como se muestra en la figura 6.

Figura 6. Rango de Ovulación en el tiempo por tratamiento.

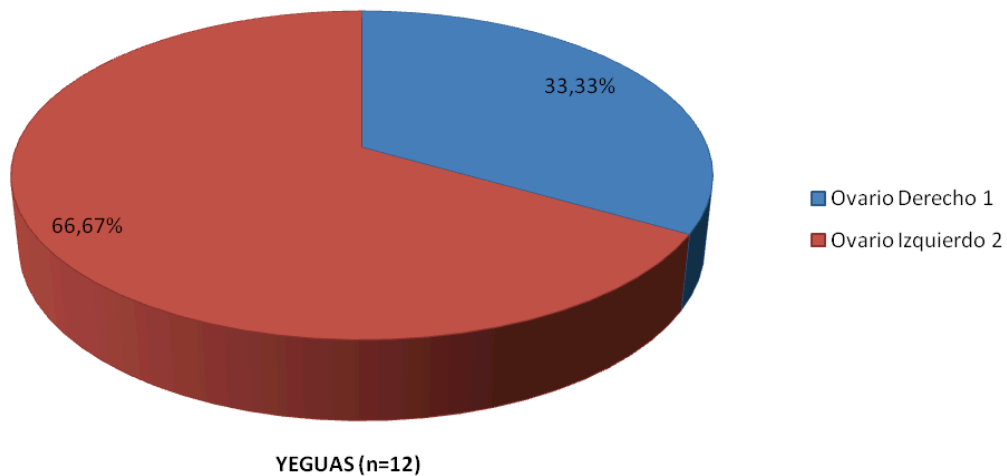


Bajo condiciones fisiológicas Ginther, (1992) afirma que en promedio la ovulación ocurre 4,2 días (100,8 h) después de que el folículo ha alcanzado los 35 mm; bajo la inducción de ovulación con el análogo de GnRH, otros autores como Figueiredo et al., (2011) reportan en yeguas de raza Cuarto de Milla, un intervalo promedio entre el tratamiento hasta la ovulación de 41,4 horas; igualmente Cuervo & Newcombe, (2008) reportan en yeguas de razas Pura Sangre Inglés, Trotones, Irlandeses, yeguas miniatura y caballos de sangre caliente, intervalos entre el tratamiento con Deslorelin hasta la ovulación de 39,7 h, lo que concuerda con lo descrito por Gastal & Gastal, (2011) quienes afirman que la ovulación debe ocurrir después de la aplicación del análogo de GnRH, como inductor de la ovulación dentro de un tiempo predecible entre 24 y 48 horas. Similar a lo descrito por Samper, Jenesen, & Sergenat, (2002), quienes observaron un corto intervalo de 36 a 42 horas con el uso del Deslorelin, corroborando los datos del presente estudio. Por otra parte otros autores como McCue et al., (2007), tras la aplicación del mismo inductor de la ovulación encontraron que el 8,9% de las yeguas tratadas de raza Árabe, Cuarto de Milla y Pinto Americano no ovularon dentro de la 48 horas posteriores a la aplicación, mientras otros autores como Gastal & Gastal, (2011) reportan que existe una porción del 10 al 40 % de las

yeguas que no responden de manera oportuna a la administración de los inductores de la ovulación y presumiblemente ovulan por su cuenta.

Tras el análisis de un ciclo estral, en 12 yeguas de raza Silla Argentina importadas por la Policía Nacional de Colombia al Criadero Caballar Mancilla, se evidenció que el 66,6% de las yeguas (8/12) ovularon por el ovario izquierdo, mientras el 33,3% de las yeguas (4/12) ovularon por el ovario derecho, lo que evidencia mayor actividad folicular del ovario izquierdo que del ovario derecho, como se muestra en la figura 7.

Figura 7. *Incidencia de ovulaciones por ovario.*



Es similar a lo encontrado por Morel & O'Sullivan, 2001), quienes después de estudiar 2,181 ciclos en 1,136 yeguas Pura Sangre Inglés, encontraron mayor incidencia de ovulaciones, 50,5 % por el ovario izquierdo y 49,5 % por el derecho; Ramírez et al., (2010) reportaron en yeguas de raza Criolla Colombia que el 60% de las yeguas ovularon por el ovario izquierdo, y el 40 % por el derecho. Igualmente Ginther, (1995) estableció que un 56 % de las yeguas ovularon por el ovario izquierdo y el 44,4 por el derecho, lo que difiere con lo reportado por Gastal, (2009), quien reportó mayor presencia de folículos dominantes en el ovario derecho, 61 %, comparado con el izquierdo, 39 %. Igualmente Paredes, (2012) reportó en yeguas de raza Criolla

Colombiana una mayor presencia de folículos dominantes, 63 % en el ovario derecho y un 37% en el ovario izquierdo. Ésta diferencia en el porcentaje puede ser un hallazgo incidental y requiere estudios complementarios para determinar los posibles factores que puedan determinar la presencia del folículo preovulatorio en uno u otro ovario.

8. IMPACTO E INDICADORES

Caracterizar la dinámica de folículos dominantes ($>$ a 35 mm), aporta al conocimiento del ciclo estral, sobre todo a la predicción del momento más cercano a la ovulación en yeguas de raza Silla Argentina, bajo condiciones tropicales; dándole herramientas al médico veterinario actuante para mejorar la eficiencia reproductiva de los criaderos que incorporan estos animales. Es necesario realizar estudios complementarios en mayor número de yeguas y ciclos estrales, para determinar si la historia de estacionalidad en animales importados afecta su ciclicidad normal bajo condiciones tropicales.

Se establece que el crecimiento diario de folículos dominantes ($>$ a 35 mm) en yeguas de raza Silla Argentina ubicadas en la sabana de Bogotá, es de 2,24 (\pm 0,367), y tras la aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH, Deslorelin, como inductor de la ovulación aumenta la tasa diaria de crecimiento folicular, pero no es estadísticamente significativo. Por lo tanto es necesario realizar más investigaciones aumentando el número de yeguas y ciclos estrales evaluados, para establecer si realmente el Deslorelin aumenta la tasa diaria de crecimiento folicular.

Se establece que el diámetro máximo de folículo dominante es de 44,39 (\pm 1,28) para yeguas de raza Silla Argentina ubicadas en la sabana de Bogotá, y tras la aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH, Deslorelin, como inductor de la ovulación reduce hasta 5,59 mm el diámetro máximo del folículo preovulatorio.

La aplicación intramuscular de 1 mL (2,2 mg) del análogo de GnRH, Deslorelin, como inductor de la ovulación tiene un efecto deseado en las yeguas de raza Silla Argentina ubicadas en la sabana de Bogotá puesto que las yeguas ovulan en su mayoría entre las primeras 48 horas pos aplicación, en promedio 37 horas a partir de que el folículo alcanza un diámetro de 35mm.

9. LISTA DE REFERENCIAS

- Andrade, F., Pérez, J., D'Oliveira, A., Ribeiro, V., Marc, H., Chacón, L., & Arias, S. (2011). Foliculogénesis y ovulación en la especie equina. *Revista de Medicina Veterinaria, Bogotá*, 22, 43-50.
- Azurra, M., Mora, M., Vlek, J., Olivera, M., Morete, M., & de La sota, R. (2013). Administration of hCG at different times of the day effects the interval to ovulation in mares. *Argentine congress on equine reproduction III, 1*, 127-129.
- Beg, M., & Ginther, O. (2006). Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Society for Reproduction and Fertility*, 132, 365–377.
- Benites, O., & Rojas, J. (2013). *Relación entre la vascularización del folículo preovulatorio, la fertilidad y la perdida embrionaria temprana en yeguas silla de raza Silla Argentina en la sabana de Bogotá empleando ecografía doppler color*. para obtener el título de Magister en Ciencias Veterinarias., Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
- Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C., Brinsko, S., & Rigby, S. (2006). *Manual of equine reproduction* (2da ed.). United States of America.
- Boeta, M., Porras, A., Zarco, L., & Aguirre, R. (2006). Ovarian Activity of the Mare During Winter and Spring at a Latitude of 19° 21' North. *Scientific Papers*, 26 (2), 55-58.
- Brinsko, S., Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C., Hinrichs, K., & Hartman, D. (2011). Manipulation of Estrus in the Mare. In Mosby (Ed.), *Manual of Equine Reproduction* (3rd ed., pp. 19-38). Saint Louis.
- Carnevale, E., Bergfelt, D., & ginther, D. (1993). Agin effect of follicular activity and concentrations of FSH, LH, and progesterone in mares. *Animal reproduction science*, 31(3-4), 287-299.
- Cox, T., Squires, E., & Carnevale, E. (2009). Effect of follicle size and follicle-stimulating hormone on ovulation induction and embryo recovery in the mare. *Equine Vet Sci* . 29(4), 213-218.
- Cuervo, J., & Newcombe, J. (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(6), 681-687.

- Cunningham, J. (2004). Controle do desenvolvimento gonadal e dos gametas. In Guanabara (Ed.), *Tratado de Fisiologia Veterinária* (pp. 579). Rio de Janeiro.
- Cunningham, J., & Klein, B. (2009). Ciclos reproductivos. . In ELSEVIER (Ed.), *Fisiología veterinaria* (4ta ed., pp. 482-490). Barcelona, España.
- Chemineau, P. (1993). Influence of climate on livestock breeding. *World Animal Review*, 77(1).
- De Albuquerque, T., Dos Anjos, A., Flor, J., De Albuquerque, L., Batista, C., Naves, P., (2008). Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da raça mangalarga marchador no estado de Sergipe. *Acta Veterinaria Brasilica*, 2(2), 39-43.
- Díaz, A., Pérez, E., Hernández, T., Torres, J., & Puzo, A. (2009). *Fisiología animal aplicada*. Medellín, Colombia.: Universidad de Antioquia.
- Dolezel, R., Ruzickova, K., & Maceckova, G. (2012). Growth of the dominant follicle at endometrial folding after administration of the hCG in mares during oestrus. *Vet. Met.*, 57(1), 36-41.
- Edward, E. (2003). Use of Ultrasound to Stage Estrus and Predict Ovulation. In SAUNDERS (Ed.), *Current Therapy in Equine Medicine* (5 ed.). United States of America.
- Ferreira, G., Claudino, F., Carvalho, H., Alpoim, J., & Robalo Silva, J. (2005). Seasonal reproduction in the mare: possible role of plasma leptin, body weight and immune status. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(1), 203-213.
- Ferris, R., Hatzel, J., Lindholm, A., Scofield, D., & McCue, P. (2012). Efficacy of Deslorelin Acetate (SucroMate) on Induction of Ovulation in American Quarter Horse Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32, 285-288
- Figueiredo, T., Paiva, R., Ernandes, L., Kaercher, F., Romualdo, R., Dos Santos, I., & Ricabone, P. (2011). Induction of ovulation in Quarter Horse ares through the use of Deslorelin acetate and human chorionic Gonadotrophin (hCG) *BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY* 54(3), 517-521.
- Fragoso, C. (2007). *Inducción al estro en yeguas por medio de prostaglandinas*. Para obtener el título de: Médico Veterinario y Zootecnista, Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, Mexico.
- Freire, D. (2011). *Fotoperíodo artificial no verão pode evitar anestro estacional na égua?* Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Gastal, E. (2009). Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. *Anim Reprod.*, 6(1), 144-158.

- Gastal, E., & Gastal, M. (2011). Equine preovulatory follicle: blood flow changes, prediction of ovulation and fertility. *Rev Bras. Reprod. Anim*, 35(2), 239-252.
- Gastal, E., Gastal, M., Wiltbank, M., & Ginther, O. (1999). Follicle Deviation and Intrafollicular and Systemic Estradiol Concentrations in Mares. *Biology of reproduction*, 61, 31-39.
- Gigli, I., Russo, A., & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet* 8(1), 183-204.
- Ginther, O. (1992). Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects. *Equiservices Publishing, Second edition*.
- Ginther, O. (1995). *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses* (2 ed.). Wisconsin: Equiservices publishing.
- Ginther, O., Bergfelt, D., & Donadeu, F. (2000). Follicular waves and selection of follicles in mares. In H. Foundation (Ed.), *Proceedings of the 5th International Symposium on equine embryo transfer* (Vol. Monograph Series No. 3). Saari, Finland.
- Irvine, C., Alexander, S., & McKinnon, A. (2000). Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *Journal of reproduction and fertility*, 118(1), 101-109.
- Magee, C., Bruemmer, J., Nett, T., Squires, E., & Clay, C. (2012). Kisspeptide in the estrous mare: Is it an appropriate ovulation-inducing agent? *Theriogenology* 78, 1987–1996.
- Maturana, J., Droguett, N., & Ramirez, H. (2013). Comparación entre gonadotropina corionica humana (hCG) y deslorelina en sus tiempos de acción, eficacia en inducir ovulación e incidencia de ovulaciones multiples en yeguas de la raza Chilena. *Argentine congress on equine reproduction III, 1*, 162-165.
- McCue, P. (2003). Induction of Ovulation. In SAUNDERS (Ed.), *Current therapy in equine medicine* (5 ed., pp. 240-242). United States of America.
- McCue, P., Magee, C., & Gee, E. (2007). Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares *Equine Vet Sci* . 27, 58-61.
- McGing, B., Bucca, S., Duggan, V., Roche, T., Yeomans, J., & Emerson, L. (2010). Reproductive cycle of the mare. In Factsheet (Ed.), *Equine reproduction, A guide for farmers and breeders* (pp. 52). Irlanda.

- McKinnon, A., Nobelius, A., Tarrida del Marmol Figueroa, S., Skidmore, J., Vasey, J., & Trigg, T. (1993). Precitable of ovulation in mares teated whit an implant of GnRH analoge Deslorelin. *Equine Vet. J*, 25, 321-323.
- Montesinos, P. (2012). *Sistema renina angiotensina aldosterona durante el ciclo estral en la yegua Pura Raza Española: interrelaciones con otras hormonas y con el estado hidroelectrolítico*. Tesis Doctoral., Universidad Cardenal Herrera., Valencia, España.
- Morel, D. (2003). Endocrine Control of Reproduction in the Mare. In C. International (Ed.), *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management* (2nd ed., pp. 28-39). UK.
- Morel, D., & O'Sullivan, J. (2001). Ovulation rate and distribution in the thoroughbred mare, as determinated by ultrasonic scanning: the efect of age. *Anim Reprod.*, 66(1-2), 59-70.
- Mumford, E., Squires, E., Jöchle, E., Harrison, L., Nett, T., & Trigg, T. (1995). Use of the deslorelin short-term implants to iduce ovulation in cycling mares during three concecutive estrus cycles. *Animal reproduction science*, 39, 129-140.
- Munroe, G., & Scott, J. (2011). Famale reproductive tract. In M. PUBLISHING (Ed.), *Eqine clinical medicine, surgery and reproduction*. (pp. 242-246). Barcelona, Spain.
- Nagy, P., Guillaume, D., & Daels, P. (2000). Seasonality in mares. *Animal reproduction science*, 60, 245-262.
- Paredes, M. (2012). *Características del ciclo estral, desarrollo embrionario y determinación de la tasa de preñez en yeguas criollas colombianas*. Para optener el título de Magister en Salud Animal., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia.
- Pinaffi, F., Khan, F., Silva, L., Beg, M., & Ginther, O. (2012). Ovarian and PGF2 α responses to stimulation of endogenous PRL pulses during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, 78(6), 1252-1261.
- Ramírez, G., Gutiérrez, C., & Ramos, M. (2010). Dinámica folicular en yeguas Paso Fino colombiano medido por ultrasonografía en la Sabana de Bogotá. *Rev Med Vet*, 19, 21-35.
- Raz, T., Carley, S., & Card, C. (2009). Comparison of the effects of eFSH and deslorelin treatment regimes on ovarian stimulation and embryo production of donor mares in early vernal transition. *Theriogenology*, 71, 1358–1366.
- Raz, T., Hunter, B., Carley, S., & Car, C. (2009). Reproductive performance of donor mares subsequent to eFSH treatment in early vernal transition: Comparison between the first,

- second, and mid-season estrous cycles of the breeding season. *Animal Reproduction Science* 116, 107-118.
- Raz, T., & Raz, K. (2012). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the mare. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67 (1), 11-18.
- Rodríguez, A., Bazán, A., Rodríguez, J., Espinoza, J., Vásquez, M., Lucas, J., & Huanca, A. (2013). Evaluación del folículo ovárico de yeguas criollas post-administración de hCG. *Rev Inv Vet Perú* 24(2), 189-193.
- Rodríguez, I., Hidalgo, M., Pérez, C., Dorado, J., Corral, S., & Sanz, J. (2001). Diámetro del Folículo Preovulatorio, Cohorte Folicular y Fertilidad en la yegua de raza Pura Española. España: Dpto. de Medicina y Cirugía Animal.
- Romano, M., Mucciolo, R., & Feliciano, A. (1998). Biología reproductiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci*, 35(1), 25-28.
- Samper, J., Jenesen, S., & Sergenat, J. (2002). Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. *Equine Vet Sci* . 22, 320-323.
- Samper, J., Pycock, J., & McKinnon, A. (2007). the normal female reproductive system. In SAUNDERS (Ed.), *Current therapy in equine reproduction* (pp. 1-24). United States of America.
- Bergfelt, D (2000). Anatomy and physiology of the mare *EQUINE BREEDING MANAGEMENT AND ARTIFICIAL INSEMINATION* (pp. 141 -164). United States of America: SAUNDERS.
- Slusher, S., MacAllister, C., & Freeman, D. (2004). *Reproductive Management of the Mare* (Vol. F-3974). United States of America.: Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University.
- Suarez, N., Quintero, B., & Díaz, T. (2005). Dinámica folicular en yeguas bajo condiciones tropicales *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 10(2), 129-135.
- Walsh, C., Prendergast, R., Sheridan, J., & Murphy, B. (2013). Blue light from light-emitting diodes directed at a single eye elicits a dose-dependent suppression of melatonin in horses. *The Veterinary Journal*, 196, 231–235.
- Williams, G., Thorson, J., Prezotto, L., Velez, I., Cardoso, R., & Amstalden, M. (2012). Reproductive seasonality in the mare: neuroendocrine basis and pharmacologic control. *Domestic Animal Endocrinology*, 43(2), 103-115.

10. ANEXOS

Anexo: Crecimiento Folicular (T-Student)

Comparison of Means

95,0% confidence bound for mean of TT1: $2,24467 + 0,739726$ [2,98439]

95,0% confidence bound for mean of TT2: $2,92483 + 0,256251$ [3,18108]

95,0% confidence bound for the difference between the means

not assuming equal variances: $-0,680167 + 0,75095$ [0,0707832]

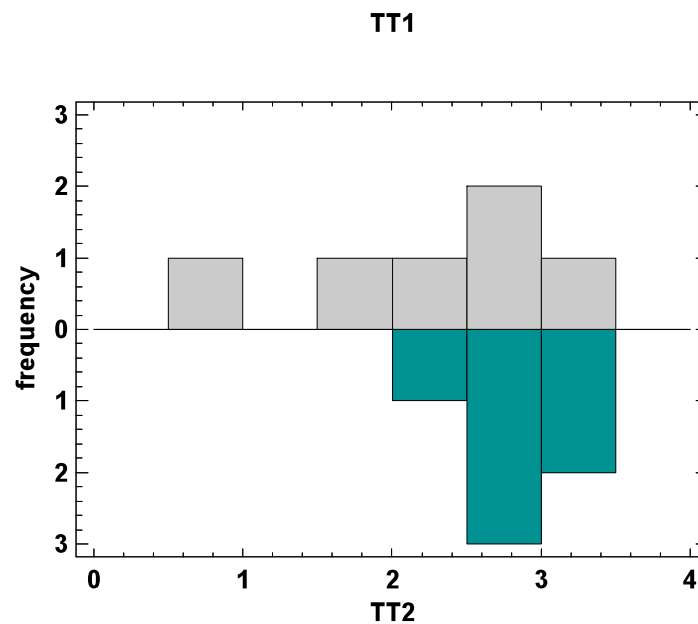
t-test to compare means

Null hypothesis: $\text{mean1} = \text{mean2}$

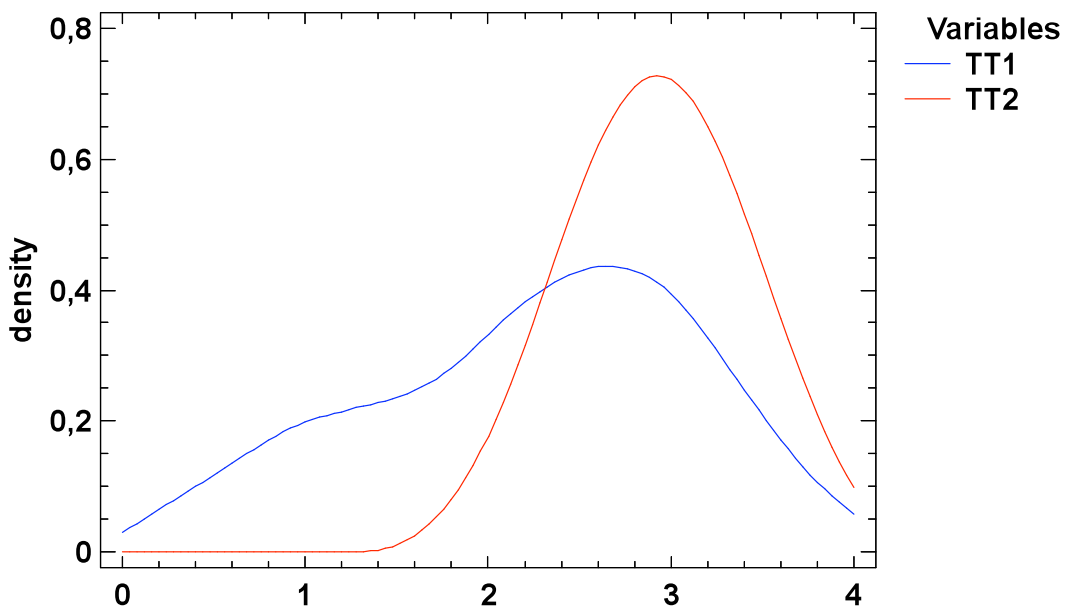
Alt. hypothesis: $\text{mean1} < \text{mean2}$

not assuming equal variances: $t = -1,75074$ P-value = 0,0645456

Do not reject the null hypothesis for $\alpha = 0,05$.



Density Traces



Anexo: Diámetro Folicular a la Ovulación (ANOVA)

One-Way ANOVA - D.F.O. (mm) by Tratamientos

Dependent variable: D.F.O. (mm)

Factor: Tratamientos

Number of observations: 12

Number of levels: 2

Summary Statistics for D.F.O. (mm)

<i>Tratamientos</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Standard error</i>	<i>Minimum</i>
TT1	6	44,3967	3,15684	7,11054%	1,28878	40,6
TT2	6	38,8333	3,11427	8,01957%	1,27139	35,4
Total	12	41,615	4,16886	10,0177%	1,20345	35,4

<i>Tratamientos</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. kurtosis</i>
TT1	49,9	9,3	1,00077	0,889284
TT2	44,4	9,0	1,23003	1,01955
Total	49,9	14,5	0,510895	-0,149517

ANOVA Table for D.F.O. (mm) by Tratamientos

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	92,852	1	92,852	9,44	0,0118
Within groups	98,3217	10	9,83217		
Total (Corr.)	191,174	11			

Multiple Range Tests for D.F.O. (mm) by Tratamientos

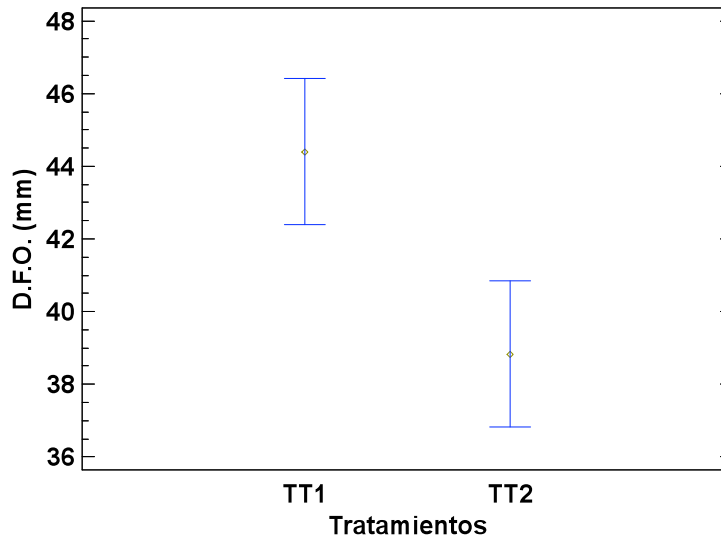
Method: 95,0 percent Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
TT2	6	38,8333	X
TT1	6	44,3967	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
TT1 - TT2	*	5,56333	4,03373

* denotes a statistically significant difference.

Means and 95,0 Percent LSD Intervals



Anexo: Tiempo a la Ovulación (ANOVA)

One-Way ANOVA - Tiemp a Ovul (h). by Tratamientos

Dependent variable: Tiemp a Ovul (h).

Factor: Tratamientos

Number of observations: 12

Number of levels: 2

Summary Statistics for TiempaOvul (h).

<i>Tratamientos</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Standard error</i>	<i>Minimum</i>
TT1	6	111,0	36,7423	33,1012%	15,0	54,0
TT2	6	37,0	21,2697	57,4857%	8,68332	18,0
Total	12	74,0	48,0908	64,9876%	13,8826	18,0

<i>Tratamientos</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. kurtosis</i>

TT1	162,0	108,0	-0,333131	0,25824
TT2	78,0	60,0	1,85567	1,98316
Total	162,0	144,0	0,697182	-0,765537

ANOVA Table for Tiempo a Ovul (h). by Tratamientos

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	16428,0	1	16428,0	18,23	0,0016
Within groups	9012,0	10	901,2		
Total (Corr.)	25440,0	11			

Multiple Range Tests for Tiempo a Ovul (h). by Tratamientos

Method: 95,0 percent Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
TT2	6	37,0	X
TT1	6	111,0	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
TT1 - TT2	*	74,0	38,6183

* denotes a statistically significant difference.

Means and 95,0 Percent LSD Intervals

