

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**Efecto del acetato de gonadorelina sobre el crecimiento diario del
folículo dominante en yeguas peruanas de paso.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ANDREA ALEJANDRA VELARDE VÁSQUEZ

TRUJILLO, PERÚ

2019

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente jurado:

MV. Mg. CÉSAR LOMBARDI PEREZ
PRESIDENTE

MV. Mg. JUAN VALDIVIA PEZANTES
SECRETARIO

MV. Mg. ROBERTO BRIONES CABELLOS
VOCAL

MV. Mg. JUAN BALTODANO TELLO
ASESOR

DEDICATORIA

A mis padres, que me regalaron la maravillosa oportunidad de estudiar una carrera profesional, a su esfuerzo, dedicación y excelente crianza. Nadie mejor que ustedes, son mi ejemplo, mis ganas de salir adelante siempre.

A mis hermanos, que son el motivo más grande para ser mejor cada día pensando que dejo en ellos un precedente y un modelo a seguir, daría todo lo que fuera para siempre estén bien.

A mis abuelos, por su apoyo, su cariño y su soporte.

A mi enamorado, por su amor, paciencia, comprensión, aliento y apoyo en todo este camino.

Los amo demasiado, ¡esta meta es nuestra!

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, M.V. Mg. Juan Baltodano, por permitirme crecer profesionalmente a su lado, por ser un amigo y una persona de experiencia.

Al Ing. Mg. José Cedano, por su apoyo incondicional durante el desarrollo teórico de este trabajo.

A los criadores de caballos peruanos de paso que me permitieron realizar la parte práctica de mi investigación en sus animales, por ser verdaderos amantes de esta raza pues permiten que el conocimiento se amplíe.

A mi compañero de la universidad, por su amistad incondicional todos estos años, por su apoyo, su singular carisma. Empezamos esto juntos y así lo estamos acabando, tienes una amiga para toda la vida; ¡éxitos siempre para ti!

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
	2.1 Hormonas que controlan los procesos reproductivos.....	2
	2.2 Ovario.....	9
	2.3 Fisiología reproductiva.....	9
	2.4 Ciclo estral.....	14
	2.5 Edema uterino.....	17
	2.6 Fotoperiodo.....	18
	2.7 Efectos ambientales.....	19
	2.8 Acetato de gonadorelina.....	19
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
	3.1 Lugar de investigación.....	21
	3.2 Animales experimentales.....	21
	3.3 Tratamientos.....	21
	3.4 Variable independiente.....	22
	3.5 Variable dependiente.....	22
	3.6 Análisis estadístico.....	22
IV.	RESULTADOS.....	23
	4.1 Porcentaje de yeguas que alcanzaron folículos preovulatorios según los días monitoriados.....	23
	4.2 Crecimiento medio diario del folículo.....	23
	4.3 Supuestos del modelo.....	24
V.	DISCUSIÓN.....	26
VI.	CONCLUSIONES.....	28
VII.	RECOMENDACIONES.....	29
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	30

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Porcentaje de yeguas que alcanzaron folículos preovulatorios según los días de monitoreo.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Crecimiento medio diario de folículos de yeguas según tratamientos.....	24
Figura 2 Plot de normalidad de los residuos del modelo (Normal Q- Q Plot).....	25
Figura 3 Distribución de residuos versus valores ajustados.....	25

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar si la aplicación de un análogo de la GnRH (acetato de gonadorelina) acelera el crecimiento medio de un folículo dominante. Para el estudio se contó con 16 yeguas peruanas de paso divididas en dos grupos, los datos se registraron a partir de la presencia de un folículo entre 23 a 26 mm y se llevó el control diario hasta que alcanzara un tamaño preovulatorio ($>35\text{mm}$); el grupo control ($n=8$) solo fue monitorizado sin recibir el tratamiento, mientras que el grupo experimental ($n=8$) fue monitorizado y se le administró el tratamiento por 3 días (0.3mg el primer día y 0.2mg los dos días restantes). El crecimiento medio diario folicular resultó en $2.77 \pm 0.15 \text{ mm/día}$ y $3.96 \pm 0.15 \text{ mm/día}$ respectivamente, mostrando una ventaja de 1.18 mm/día cuando el tratamiento es aplicado; así, se logra un folículo preovulatorio como mínimo 1 día antes que de manera natural.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine if the application of an GnRH analogue (gonadorelin acetate) accelerates the average growth of a dominant follicle. For this investigation 16 Peruvian Paso mares were divided into two groups, the data were recorded from the presence of a follicle between 23 and 26 mm and obtained daily control until it reaches a size of a preovulatory follicle (>35mm). The control group (n=8) was only monitored without receiving the treatment, while the experimental group (n=8) was monitored and the treatment was administered for 3 days (0.3mg the first day and 0.2mg the two days left). The average daily growth resulted in 2.77 ± 0.15 mm / day and 3.96 ± 0.15 mm / day respectively, showing an advantage of 1.18 mm / day when the treatment is applied; Thus, a pre-follicle is achieved at least 1 day earlier than naturally.

I. INTRODUCCIÓN

El caballo peruano de paso es un ejemplar emblemático y representativo del Perú, de procedencia europea y que durante la conquista adquirió una singular y refinada manera de caminar apropiada a la geografía, motivando su denominación como caballos peruanos de paso.

Son escasos los estudios sobre el ciclo reproductivo de la yegua peruana de paso lo que conlleva a errores desde la detección del celo y por consiguiente el momento óptimo de la ovulación, hechos que incluyen la anatomía del ovario cubierto por una túnica albugínea (Davies, 2005), aspectos que dificultan el examen reproductivo. Por otro lado, la variabilidad en el crecimiento folicular de la yegua origina problemas en la sincronización de celos, así como en la relación donadora-receptora al no lograr el tamaño apropiado en el mismo día (Satué y Gardón, 2013; Paredes, 2012) con los consiguientes retrasos en la fecundación (Hafez y Hafez, 2002).

Para resolver problemas reproductivos existen diferentes protocolos entre los que se incluyen el uso de hormonas y análogos de la GnRH, cuya aplicación de manera reiterada genera efectos negativos el ciclo ovárico (Osmer, 2011), además, algunos poseen un efecto es muy corto (Campbell, 2015) y se requiere dosis elevadas para estimular la ovulación (Pinto, 2013).

La aplicación de acetato de gonadorelina, análogo de la GnRH, produce ovulación dentro de las 48 horas cuando el folículo dominante alcanza un tamaño superior a 35 mm, sin efectos negativos en el intervalo interovulatorio (Osmer, 2011); Vásquez (2014) reporta que se logra ovulación múltiple con un crecimiento folicular desde 20-25mm hasta 35-38 mm en 6.22 ± 1.70 días.

Con el presente trabajo se buscó acelerar el crecimiento del folículo dominante utilizando acetato de gonadorelina con el propósito de adelantar y sincronizar los celos para el cubrimiento o transferencia embrionaria.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hormonas que controlan los procesos de reproductivos

2.1.1 Hormonas hipotalámicas

El hipotálamo es el órgano central más importante en el sistema neuroendocrino, posee las áreas pre-óptica y ventromedial donde se encuentran las neuronas productoras de GnRH; y el núcleo arqueado donde se hallan las neuronas productoras de dopamina; estas neurohormonas llegan a la hipófisis a través del sistema porta hipotálamo-hipofisario. Los núcleos supraóptico y paraventriculares producen oxitocina (Galina y Valencia, 2008).

a. *GnRH*

Hormona polipéptida que controla la liberación de las gonadotropinas hipofisarias (hormona folículo estimulante y hormona luteinizante). Es liberada en forma de frecuencia de pulsos (Squires, 2006; Galina y Valencia, 2008; Klein, 2013) que dependen de la época del año, etapa del ciclo estral, edad del animal, estado nutricional, entre otros (Galina y Valencia, 2008).

b. *Dopamina*

Las neuronas dopaminérgicas ubicadas en el núcleo arqueado del hipotálamo actúan como inhibidor de las células productoras de prolactina de la adenohipófisis (Galina y Valencia, 2008).

c. **Oxitocina**

Producida por neuronas hipotalámicas cuyos axones se prolongan hasta la neurohipófisis en donde son almacenadas en forma de vesículas (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008), pasa a circulación general directamente, actúa en glándula mamaria, por reflejo condicionado, provocando contracción en las células mioepiteliales requerida para producción de leche en el amamantamiento (Galina y Valencia, 2008). Produce fuertes contracciones uterinas cuando el feto se encuentra en el canal de parto (Squires, 2006), ayuda al transporte espermático e involución uterina, así mismo, es la responsable de la conexión madre-cría (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008), también es sintetizada en el ovario actuando sobre el endometrio para inducir la liberación de prostaglandina F₂α (Hafez y Hafez, 2002).

2.1.2 **Hormonas hipofisarias**

La hipófisis es una glándula que se encuentra en la base del cerebro, específicamente en la silla turca, se divide en tres partes: lóbulo anterior (adenohipófisis), lóbulo intermedio y lóbulo posterior (neurohipófisis) (Hafez y Hafez, 2002; Klein, 2013). El lóbulo intermedio está bien desarrollado en vacas y caballos (Hafez y Hafez, 2002). Posee cinco tipos de células que secretan seis hormonas: las gonadotropos, que secretan gonadotropinas; lactotropos, prolactina; somatotropos, hormona del crecimiento; tirotropos, hormona estimulante de la tiroides y corticotropos, hormona adenocorticotrópica (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008).

a. Gonadotropinas

Hormona folículo estimulante (FSH)

Hormona responsable del crecimiento y maduración del folículo. Produce la secreción de estrógenos al captar los andrógenos, provenientes de la teca, mediante la estimulación de los receptores ubicados en las células de la granulosa (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008).

También estimula la producción de inhibina, que retroalimenta negativamente en la hipófisis causando la disminución de la FSH circulante (Galina y Valencia, 2008).

Hormona luteinizante (LH)

Hormona que, secretada en forma tónica, es responsable de estimular la maduración final del folículo dominante a preovulatorio mediante los receptores para LH formados en las células de la granulosa (Squires, 2006; Galina y Valencia, 2008).

Estimula a las células de la teca interna del folículo para la producción de andrógenos, los cuales son esenciales para la formación de estrógenos (Galina y Valencia, 2008).

Su principal acción es producir la ovulación mediante un pico de liberación hormonal. Después de la ovulación, su secreción tónica contribuye a la formación del cuerpo lúteo y a la secreción de progesterona (Galina y Valencia, 2008).

A diferencia de otras especies, la yegua posee un pico de LH después de la ovulación y con frecuencia muestra signos de celo hasta 48 horas después de la ovulación (Samper, 2009).

b. Somatotropina y factores de crecimiento parecidos a la insulina:

Estas hormonas juegan un papel indirecto en el tema reproductivo. La somatotropina, u hormona de crecimiento (STH), es la encargada de estimular el crecimiento de todos los tejidos, además se encarga del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas que, según el estado nutricional de animal, produce la síntesis de factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGFs) que estimula la esteroidogénesis y el desarrollo folicular (Hafez y Hafez, 2002).

2.1.3 Hormonas de la glándula pineal

Órgano neuroendocrino cuya principal función, y la más conservada, es la de secretar melatonina en la oscuridad (Sapède y Cau, 2013) hacia el torrente sanguíneo y al líquido cefalorraquídeo (Hafez y Hafez, 2002).

a. Melatonina

Hormona derivada del triptófano (Hafez y Hafez, 2002) producida mediante el sistema nervioso central que abarca la retina, el núcleo supraquiasmático, el ganglio cervical superior y la glándula pineal (Klein, 2013; Sapède y Cau, 2016).

Esta hormona regula la liberación pulsátil de GnRH afectando el feedback negativo que los esteroides tienen con esta hormona (Squires, 2006). Así, las especies estacionales

pueden reconocer tanto hora del día como la época del año (Galina y Valencia, 2008).

2.1.4 Hormonas gonadales

Hormonas derivadas principalmente del colesterol, llamadas esteroideogénicas que circulan en el torrente sanguíneo uniéndose a proteínas transportadoras específicas (Galina y Valencia, 2008). Las secreciones de estas hormonas se encuentran bajo el control de la adenohipófisis ya que la extirpación de este lóbulo anterior causa atrofia gonadal (Hafez y Hafez, 2002).

a. Estrógenos

Producidas en las células de la granulosa derivadas de los andrógenos (Galina y Valencia, 2008).

Posee muchos efectos en el organismo, entre los que se encuentra (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008):

- Responsable de los caracteres sexuales secundarios.
- Prepara los órganos de coito y ayuda al transporte de los espermatozoides hacia el oviducto.
- Responsable de la aparición de las conductas de celo receptividad sexual.
- Desarrollo de la glándula mamaria y sus conductos.
- Retroalimentación en la liberación de FSH y LH, estimulando la foliculogénesis y desencadenando el pico preovulatorio.
- A nivel de útero, incrementa las contracciones y potencia los efectos de la oxitocina y de la prostaglandina F₂α.

b. Progesterona

Progestágeno más importante, es secretada por el cuerpo lúteo, placenta y glándula suprarrenal (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008). Se transporta en la sangre a través de una globulina. Su función, acompañado de los estrógenos, es el de inducir el manifiesto del comportamiento estral (Hafez y Hafez, 2002).

Sus principales funciones son: preparar el endometrio cuando ocurra la implantación embrionaria, mantener la preñez, inhibe la aparición de conducta sexual y la movilidad uterina, estimula a los histotrofos y a los alveolos de las glándulas mamarias (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008).

c. Andrógenos

Los andrógenos son esteroides de 19 carbonos producidos por las células de la teca interna en los ovarios, precursores de los estrógenos (Hafez y Hafez, 2002; Galina y Valencia, 2008).

d. Inhibina

Hormona gonadal que, a diferencia de las anteriores, es de naturaleza glicoproteica, producida por las células de la granulosa en la hembra. Es estimulada por la FSH y secretada por vía venosa, su principal función es la de retroalimentarla negativamente a nivel hipofisario, sin perjudicar la liberación de LH. Este mecanismo es importante para el establecimiento de la dominancia folicular

y la determinación de los índices de ovulación específica según la especie (Galina y Valencia, 2008).

2.1.5 Hormonas uterinas

a. *Prostaglandina F2 α* (PGF2 α)

Hormona derivada del ácido araquidónico, un ácido graso esencial, que no se almacena después de su síntesis (Klein, 2013).

El aumento del estrógeno, que estimula el crecimiento del miometrio, promueve la síntesis y liberación de PGF2 α a través de la circulación sistémica en caso de yeguas (Galina y Valencia, 2008) para cumplir con su principal función: lisis del cuerpo lúteo, y así permitir el inicio de un nuevo ciclo estral cuando no hay fecundación (Hafez y Hafez, 2002).

La síntesis y liberación de PGF2 α también puede ocurrir en caso de alguna endometritis y/o cólico (Klein, 2013).

2.1.6 Hormonas placentarias

a. *Gonadotropina coriónica equina* (eCG)

Glucoproteína, antiguamente llamada gonadotropina sérica de la yegua gestante (PMSG). Es secretada por las células trofoblásticas a partir de los 30 días de gestación, siendo las copas endometriales su fuente de origen. En el equino, tiene un efecto esencialmente de LH ya que posee la misma secuencia de aminoácidos, lo que no pasa en especies distintas pues tiene un efecto FSH (Galina y Valencia, 2008).

2.2 Ovario

Órgano de doble función (citogénica y endócrina) pues sintetiza y secreta hormonas, y forma ovocitos (Davies, 2005; Caravaca y otros, 2016).

Están situadas ventralmente de la cuarta y quinta vértebra lumbar, sujeta por el mesovario. Pueden medir desde 2 a 4 cm de largo en diestro y de 6 a 10 cm en actividad ovárica (el último número en caso de yeguas multíparas). Poseen una superficie convexa que se une al mesovario, zona por donde es irrigada e inervada. La parte interna y cóncava no está unida al mesovario y es donde se ubica la fosa ovulatoria, la cual tampoco está cubierta por la túnica albugínea (Davies, 2005).

La formación de los folículos y del cuerpo lúteo ocurre internamente en la corteza del ovario (Witherspoon, 1975 citado por Davies, 2005); siendo esta característica la que las distingue de las otras especies y lo que hace complicado su diagnóstico sin ultrasonografía.

2.3 Fisiología reproductiva

2.3.1 Foliculogénesis

La cantidad de ovocitos presentes en el ovario está predeterminada antes del nacimiento en un estado inmaduro denominado oogonia, siendo una célula diploide, rodeada de una capa de células epiteliales, en conjunto llamado folículo primordial (Davies, 2005), que estarán inactivas hasta el inicio de la pubertad y que, algunos, sufrirán procesos de atrofia desde el nacimiento hasta la etapa senil (Davies, 2005; Caravaca y otros, 2016).

La proliferación de los ovocitos se realiza por división mitótica en la etapa fetal y termina alrededor del nacimiento. Después, debido a la influencia del factor iniciador de la meiosis, comienza el proceso de reducción cromosomal hacia un estado haploide. Esta división meiótica, por acción del factor inhibidor de la meiosis, se interrumpe en la profase I en la fase diploteno, llegando a un estadio llamado dictioteno. Es allí, cuando el folículo está rodeado de una membrana basal externa (membrana propia) secretada por las células foliculares (Klein, 2013).

El desarrollo del folículo acarrea el crecimiento del ovocito mediante una intensa actividad de síntesis. A la par, debido a la división de las células foliculares, produce la formación de una granulosa que mantiene contacto entre sí gracias a la unión en tipo gap, la cual secreta una sustancia que delimita el ovocito llamado zona pelúcida, y que están conectadas a través de prolongaciones citoplasmáticas. Alrededor de la membrana basal, se forma la capa tecal hasta completar las capas celulares foliculares; entonces se denomina *folículo primario o preantral* y que para poder pasar al siguiente estadio, los folículos primarios deben desarrollar receptores para las gonadotropinas. Los de FSH se encuentran en la granulosa y los de LH, en la teca. (Klein, 2013). La interacción de las células de la granulosa de los ovocitos con la teca es la única responsable del crecimiento folicular durante esta fase (Orisaka y otros, 2009).

Un folículo se convierte en *antral* cuando aparece el líquido folicular secretado por la capa de las células de la granulosa que las va separando, originando la cavidad antral (Klein, 2013). Aparece el *cumulus oophrous*, capa de células de la granulosa que rodean al ovocito, una vez que el oocito secundario se dispone hacia uno de los bordes internos del folículo (Davies, 2005).

La secreción de estrógenos se ve regulada mediante el *mecanismo de dos células*, donde la teca, bajo la influencia de la LH, produce andrógenos que se difunden a través de la membrana basal hasta la granulosa, donde se convertirán en estrógenos (17- β estradiol) (Davies, 2005; Klein, 2013). Estos ejercen un feedback positivo sobre la granulosa, ya que impulsa la división mitótica de las células, causando el aumento de tamaño folicular; así comenzará la formación de receptores adicionales para la FSH, resultando un folículo antral cada vez más sensible a esta hormona (Klein, 2013).

En el estadio tardío del crecimiento folicular, surgen los receptores de LH en la granulosa gracias a que la FSH y estrógenos inician su formación; en contraste, los receptores para FSH disminuyen. Entonces, se inicia el *pico ovulatorio de gonadotropinas* debido a que el folículo antral secreta estrógenos. Así, el folículo está dominado por la LH hasta alcanzar la ovulación (Klein, 2013). En esta etapa, el organismo decidirá cuál folículo en desarrollo será el designado a ovular volviendo atresicos a los otros y que, en un 75% de los casos el folículo elegido es solo uno (Davies, 2005).

2.3.2 Etapa reproductiva

Los primeros ciclos suelen ser irregulares. El efecto inhibitorio de la melatonina queda suspendido debido a la cantidad suficiente de horas luz en el día. En esta etapa solo se producen ondas foliculares mayores subdividiéndose en: onda mayor primaria, la ovulación tiene lugar en el estro, emergen a los 6mm en el día 10 u 11 y la onda mayor secundaria, en el que el folículo dominante logra su mayor tamaño en el diestro (Ginther, 2016).

Hafez y Hafez (2002) afirman que las yeguas bien alimentadas y criadas en establos tienden a experimentar el ciclo todo el año, existiendo una estrecha relación entre la temporada reproductiva fértil y el manejo.

La fecundación puede producirse hasta 30 horas después de la ovulación (Woods, 1990) y solo pueden ser inseminadas desde 30 horas antes hasta 12 horas después de esta (Intervet, 2007).

2.3.3 Etapa Anovulatoria

El bloqueo del eje hipotalámico-hiposifario-gonadal está estrechamente relacionado con la cantidad de melatonina producida durante la época de horas luz cortas ya que genera un efecto en la GnRH la cual es liberada en grandes espacios de tiempo, pulsos débiles y cuya consecuencia nos da como resultado folículos de 15 mm de tamaño debido que la FSH y la LH no alcanzan los niveles de secreción requeridos (Ginther, 2004).

2.3.4 Dinámica folicular

Regido por ondas foliculares causadas por el aumento de FSH el cual es responsable de reclutar los folículos con un diámetro en promedio de 13mm. Cuando la FSH alcanza su valor máximo en sangre, cuatro a cinco días después del reclutamiento, los dos folículos con mayor tamaño tendrán un diámetro entre 19 a 22 mm (Ginther y otros, 2003). Se espera que la desviación en diámetro entre los dos folículos de mayor tamaño sea a partir de los 22.7 mm (Ginther y otros, 2005). Alrededor de día 17 comienza la divergencia folicular donde el dominante continúa creciendo, mientras que el secundario disminuye en tamaño (Paredes, 2013) ejerciendo la supresión de la concentración circulante de FSH (Ginther y otros, 2003).

En los estadios finales del crecimiento folicular se inicia la formación de receptores de LH en la granulosa por acción de la FSH y el estradiol, al mismo tiempo que disminuyen los receptores de la FSH; así, el crecimiento final, maduración y ovulación del folículo estarán a cargo de la LH (Klein, 2013).

2.3.5 Ondas foliculares

a. *Onda folicular mayor*

Es aquella onda que dará origen a un folículo dominante. Esta onda puede ser primaria, si la onda emerge en la mitad del ciclo y el folículo ovula en relación al estro; o secundaria, si emerge en el estro tardío o diestro temprano (Ginther y otros, 2005).

b. *Onda folicular menor*

Ondas en las que no se desarrolla un folículo dominante y cuyo diámetro máximo del folículo es de 21 mm, además las diferencia entre el segundo folículo más grande no es mayor a 3 mm debido a los niveles bajos de FSH (Bergfelt y Ginther, 1993).

2.3.6 Ovulación diestral

Una onda folicular puede emerger al final del estro, formando un folículo dominante en la mitad del diestro siendo capaz de llegar a la ovulación. Este tipo de ovulaciones solo ocurren en un 20% de todos los ciclos estrales (Galina y Valencia, 2008).

2.4 Ciclo estral

Es un periodo repetido entre celos en el cual la hembra muestra receptividad sexual o rechazo al semental (Caravaca, 2016). La duración del ciclo estral es de 21 días (Paredes y otros, 2012).

2.4.1 Fases del ciclo estral

a. *Fase folicular*

También llamado “estro” por otros autores que se subdivide en proestro, significa el comienzo del ciclo en donde ocurre el crecimiento y maduración de algunos folículos mientras se secretan hormonas preparándose para el estro; y estro propiamente dicho, es la época en la cual la hembra acepta la monta, externa sus manifestaciones de celo y ovocita (Caravaca, 2016).

Tiene un promedio de duración de 7 días (Paredes y otros, 2012). En el estro temprano encontramos un aproximado de 10 folículos antrales con diferencias graduales y que a finales del estro un folículo crecerá un 40% más que los otros (Smok y Rojas, 2010).

El promedio de cantidad de folículos durante el ciclo estral es de 3.17 ± 0.5 folículos en el ovario derecho y 2.4 ± 0.7 folículos en el ovario izquierdo; en promedio, la cantidad total de folículos en los dos ovarios es de 5.6 ± 0.7 folículos. La tasa de crecimiento del folículo dominante es de 1.62 mm/día y el folículo secundario es de 0.65 mm/día aproximadamente según Paredes y otros (2012). Gutiérrez y Ramos (2008) y Rodríguez y otros (2013) informan que el crecimiento folicular diario es de 2.04 ± 0.63 mm y 2.1 ± 0.9

mm cuando el folículo dominante alcanza los 30-35 mm; siendo el diámetro promedio del folículo a ovular de 44.3 mm y 42.5 ± 2.4 mm respectivamente. La ovulación tiene lugar 3.5 días después que el folículo dominante alcanzara los 35 mm (Paredes y otros, 2012). Un estudio realizado en yeguas peruanas de paso determinó que el crecimiento folicular desde los 20-25 mm hasta los 35-38 mm tarda un promedio de 7.20 ± 2.03 días y que, con la aplicación de un análogo de GnRH (deslorelina 1.65 mg) se reduce a 6.22 ± 1.70 días (Vásquez, 2014). Así mismo, la aplicación de buserelina logra un crecimiento diario de 6.5 mm en un folículo preovulatorio (Phetudomsinsuk, 2017).

Los folículos dominantes (FD) y secundario (FS) comienzan a diferenciarse alrededor del día 11 con una ventaja de crecimiento de 1 mm, con tamaños de 19.8 y 15.9 mm respectivamente. Alrededor del día 16-17 empieza la desviación en diámetro con 23 y 20 mm en orden de mención (Paredes y otros, 2012; Ginther, 2016).

El aumento en la prominencia de una capa anecoica, la perfusión vascular y el aumento en las concentraciones de fluido folicular de IGF-1, factor de crecimiento endotelial vascular, estradiol e inhibina-A comienza un día antes de la desviación de diámetro en el FD (Ginther, 2016).

En esta fase, el estroma del ovario presenta un aumento importante de colágeno III (relacionado con el sostén de órganos que se expanden), vinculado con el aumento de los niveles de estrógeno (Smok y Rojas, 2010).

El estudio realizado por Gutiérrez y Ramos (2008) en yeguas de paso criollo colombianas demuestra que los

folículos ubicados en el ovario derecho presentan mayor crecimiento en comparación con las del ovario izquierdo. No existen datos de esta naturaleza en yeguas peruanas de paso.

b. Fase luteal

Esta fase se divide en metaestro, intervalo en el que se produce el crecimiento del cuerpo lúteo; y diestro, es la época de inactividad sexual, comienza con la madurez del cuerpo lúteo hasta su regresión, representa la etapa más larga (Caravaca, 2016). Presenta un solo cuerpo lúteo y un grupo de 3 a 4 folículos entre 2 a 5 mm que aumentarán su tamaño para el final de la fase. En este estadio, el estroma está compuesto predominantemente de colágeno I (Stock y Rojas, 2010).

La fase luteal es de 14-16 días aproximadamente (Paredes y otros, 2012). El CL alcanza su mayor tamaño en el día 2 postovulación con 26.5 mm aproximadamente; el diámetro final es de 8.5 mm. Del día 0 al 16 del ciclo estral, los valores de progesterona (P4) son superiores a 1 ng/ml (Paredes y otros, 2012). Según Smok y Rojas (2010) en el diestro temprano, las medidas del cuerpo lúteo pueden ser desde 43 mm hasta 60 mm ocupando casi todo el volumen del ovario sin sobresalir del órgano.

La secreción de LH aumenta gradualmente y se mantiene en un nivel alto por un tiempo de 5 a 6 días antes y después de la ovulación (Davies, 2005).

La concentración sérica de LH aumenta de forma lenta y llega a su punto máximo 24 horas después de la ovulación (Ginther, 2000).

Al final del diestro encontraremos un promedio de 11 folículos antrales con un diámetro homogéneo. Estos niveles de estrógenos (alto) pueden inducir la liberación de oxitocina por el cuerpo lúteo (Smok y Rojas, 2010) que estimulará la producción de prostaglandinas por el útero y como consecuencia tendremos la caída de progesterona debido a la lisis del cuerpo lúteo después de la ovulación (McCracken y otros, 1999). A su vez, los estrógenos liberarán la LH y madurarán los receptores de LH en la teca folicular (Galina y Valencia, 2008).

2.5 Edema uterino

El aumento del estrógeno es la responsable de incrementar el edema en todo el tracto reproductivo (Samper, 2009). El edema del útero es uno de los signos importantes para la determinación de celo, esta se manifiesta como forma de una llanta de carro cuando se ecografía.

Cuando el estrógeno alcanza su máximo nivel y la yegua se encuentra próxima a ovular, la intensidad del edema comienza a disminuir, algunas llegan incluso a ovular con un edema casi indetectable. Samper (2009) nos proporciona un puntaje numérico subjetivo de los grados de edema uterino que podemos encontrar en una yegua:

- a. **Edema uterino 0.** Se caracteriza por la homogeneidad de la pared del útero. La presencia de un cuerpo lúteo y la cervix cerrada son característica en este grado.
- b. **Edema uterino 1.** Se forma cuando la yegua recién está entrando en calor y se caracteriza por tener una cervix suave a palpación y un folículo de 25-35 mm dependiendo de la raza y tamaño de la yegua. Los pliegues uterinos pueden ser complicados de detectar.
- c. **Edema uterino 2.** El primer signo real de edema uterino será encontrado mayormente en la cervix en forma de esqueleto de pez

al ultrasonografiar. Los folículos estarán a mayor de 35 mm y los pliegues uterinos se podrán distinguir.

- d. **Edema uterino 3.** Los folículos se encontrarán a 38 mm y los pliegues uterinos serán fáciles de reconocer ya que estarán más gruesos que en la clasificación anterior. A veces se puede encontrar un edema de un grado mayor en este estadio.
- e. **Edema uterino 4.** Se espera la presencia de folículo mayores a 40 mm y un incremento en el ancho de los pliegues uterinos, teniendo bordes hiperecoicos y centro hipoecogénico. Aún se puede encontrar la forma de llanta.

En una yegua sana, este es el punto donde el edema comienza a disminuir, sin afectar el tamaño del folículo directamente, el cual puede variar de forma durante su migración a la fosa ovulatoria.

- f. **Edema uterino 5 o hiperedema.** Los pliegues endometriales están anormalmente gruesos perdiendo la estructura de llanta del útero con edema. Es persistente después de la ovulación y, aunque es más frecuente en folículos grandes y preovulatorios, puede aparecer en presencia de folículos de cualquier tamaño. La presencia de este problema es evidente cuando aparece un edema prematuro y un folículo grande a los 14-15 días post ovulación.

2.6 Fotoperiodo

La provincia de Trujillo tiene un promedio anual de 12 horas luz.

Según Palmer y Driancourt (1981), las yeguas necesitan un promedio de 14,5 horas de luz para estimular la actividad ovárica y que menos de 12 horas logran inhibirla. Sin embargo, Ramirez (2006), reporta que en Guatemala la mayoría de las yeguas ciclan durante todo el año, esto debido a que es un país sin estaciones marcadas.

Utilizando la luz artificial se puede lograr estimular el inicio de la temporada ovulatoria en 60 días. Se debe proporcionar 16 horas de luz al día con una intensidad de 500 a 1000 lúmenes (Galina y Valencia, 2008).

2.7 Efectos ambientales

2.7.1 Latitud

La provincia de Trujillo se encuentra en una latitud de $S8^{\circ}6'57.56''$.

Boeta y otros (2006) reportan que en latitudes cercanas al Ecuador, las yeguas ciclan durante los meses de invierno y que un porcentaje menor presenta dicha época anovulatoria; Caravaca y otros (2016) afirman que las yeguas que se encuentran cerca al Ecuador tienen poca variación estacional en la duración del ciclo estral, y que, según Ginther y otros (2004), los patrones estacionales influyen en la incidencia mensual de ovulaciones en latitudes incluso tan bajas como 10° donde la duración del día más largo puede ser menor a 13 horas. Este estudio coincide con Ramírez (2006), quien realizó su investigación en Guatemala, y que a pesar de que el coeficiente de correlación diera negativo, se demostró que en los meses de menor iluminación había menor porcentaje de yeguas ciclando.

2.8 Acetato de gonadorelina

El acetato de gonadorelina (250ug) induce un pico de LH y FSH indistintamente del día del ciclo en que se encuentre la hembra; sin embargo, depende de la presencia del folículo dominante (Galina y Valencia, 2008).

Osmers (2011) realizó un estudio en 100 yeguas tratando de averiguar si solo una dosis de 100 ug de gonadorelina era capaz de inducir la ovulación dentro de las 48 horas post aplicación, debido a las desventajas observadas respecto a la hCG y los implantes de GnRH. Sus datos se recolectaron una vez que las yeguas alcanzaron un diámetro folicular mayor a 35 mm, dando como resultado la ovulación dentro de las horas deseadas en un 85% en las yeguas del tratamiento (n=82) frente a un 38% del grupo control (n=18).

2.8.1 Farmacocinética

Hormona de rápida absorción tras la aplicación intramuscular que alcanza su concentración máxima a los 17.5 minutos cuya biodisponibilidad alcanza los 35.6% respecto a su administración endovenosa; se distribuye en la hipófisis, ovarios, hígado y riñón; es metabolizada rápidamente en péptidos inactivos y aminoácidos; finalmente se excreta por vía renal (Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2018).

2.8.2 Farmacodinámica

Estimula la síntesis y liberación de las hormonas gonadotropas como la LH y la FSH (Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de investigación

La fase experimental se realizó en la provincia de Trujillo, región La Libertad, en los criaderos de los distritos de Moche, Huanchaco, Salaverry y Trujillo, durante los meses de mayo a julio del año 2019. La provincia de Trujillo registra una temperatura promedio de 17°C, una media anual de doce horas luz y no presenta estaciones marcadas.

3.2 Animales experimentales

Se seleccionaron dieciséis yeguas peruanas de paso entre 4 a 14 años de edad, reproductivamente hábiles con una condición corporal entre 3 a 3.5.

3.3 Tratamientos

La parte experimental inició cuando las yeguas presentaron folículos entre 23 a 26 mm y un edema uterino de 2 en la evaluación con ultrasonografía.

T0: SIN APLICACIÓN DE HORMONA. Evaluación por vía transrectal cada 24 horas el crecimiento diario de un folículo dominante hasta preovulatorio.

T1: CON APLICACIÓN HORMONAL. Evaluación transrectal y aplicación de acetato de gonadorelina durante 3 días en dosis decreciente de 3 cc (0.3 mg) el primer día y 2 cc (0.2 mg) los dos días restantes cada 24 horas.

3.4 Variable independiente

Acetato de gonadorelina

3.5 Variable dependiente

Crecimiento folicular diario (mm)

3.6 Análisis estadístico

Los animales fueron asignados aleatoriamente a cada tratamiento. Se consideró el factor criadero como bloque para el análisis de los datos, utilizando un diseño de bloques completamente al azar. Los datos se analizaron a través del estadístico F para análisis de la varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias estadísticas entre tratamientos, los análisis de los datos se realizaron utilizando el software InfoStat. El modelo estadístico lineal utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : el crecimiento medio diario del folículo en el i ésimo bloque para el j taésimo tratamiento.

μ : media general.

B_i : i ésimo efecto del criadero (bloque).

T_j : j taésimo efecto del tratamiento hormonal.

e : error experimental.

IV. RESULTADOS

4.1 Porcentaje de yeguas que alcanzaron folículos preovulatorios según los días monitoreados.

El cuadro 1, muestra que el mayor porcentaje de hembras que han conseguido tener un folículo preovulatorio en menor tiempo (2-3 días) se logró mediante la aplicación de acetato de gonadorelina (75% - 6/8), frente al tratamiento control donde solo se obtuvo un 12.5% (1/8) de yeguas que lograron tener folículos preovulatorio hasta el día 3 de monitoreo ecográfico.

Como se observa, en dos casos de yeguas sometidas al tratamiento hormonal solo hizo falta dos días de tratamiento para que el folículo alcanzara el tamaño objetivo.

Cuadro 1. Porcentaje de yeguas que alcanzaron folículos preovulatorios según los días de monitoreo.

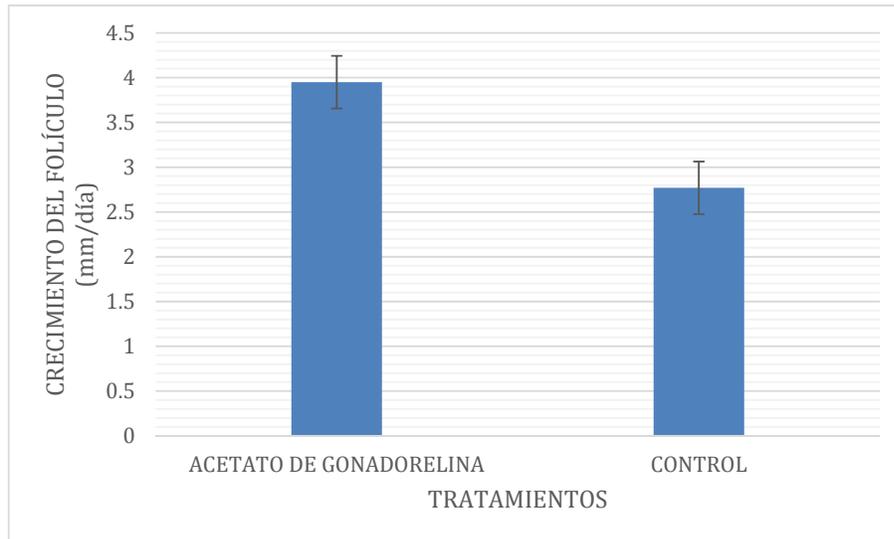
Tratamiento	Número de yeguas	Días de monitoreo	Porcentaje (%)
Con hormona	8	2	25
		3	50
		4	25
Sin hormona	8	3	12.5
		4	62.5
		5	25

4.2 Crecimiento medio diario del folículo

La figura 1, muestra el crecimiento medio diario de los folículos según los tratamientos, observándose diferencias estadísticas (p-valor= 0.0004) entre los tratamientos, teniendo un mayor efecto en el crecimiento del folículo cuando a las yeguas se les aplica 0.7 mg de acetato de gonadorelina frente al

tratamiento control; resultando una media de 3.95 ± 0.15 mm/día y 2.77 ± 0.15 mm/día, respectivamente.

Figura 1. Crecimiento medio diario de folículos de yeguas según tratamientos.



Sin embargo, el factor bloque (criadero) no mostro tener efecto sobre el crecimiento folicular medio diario (p - valor =0,1836).

4.3 Supuestos del modelo

4.3.1 Normalidad y homocedasticidad del modelo

La figura 2, muestra la distribución de los residuos bajo el modelo empleado para el análisis de los datos, mostrado a través de los residuos ordenados (sample Quantiles) versus los cuantiles correspondientes a una normal (Theoretical Quantiles). Observándose la distribución de los puntos alineados con la diagonal.

Por otro lado, en la Figura 3 se observa la distribución de los residuos estandarizados con los valores ajustados, según el modelo empleado, reflejando el ajuste de dicho modelo a la variación existente en los datos,

además se puede apreciar en la gráfica que existe homocedasticidad (homogeneidad de varianza).

Figura 2. Plot de normalidad de los residuos del modelo (Normal Q-Q Plot)

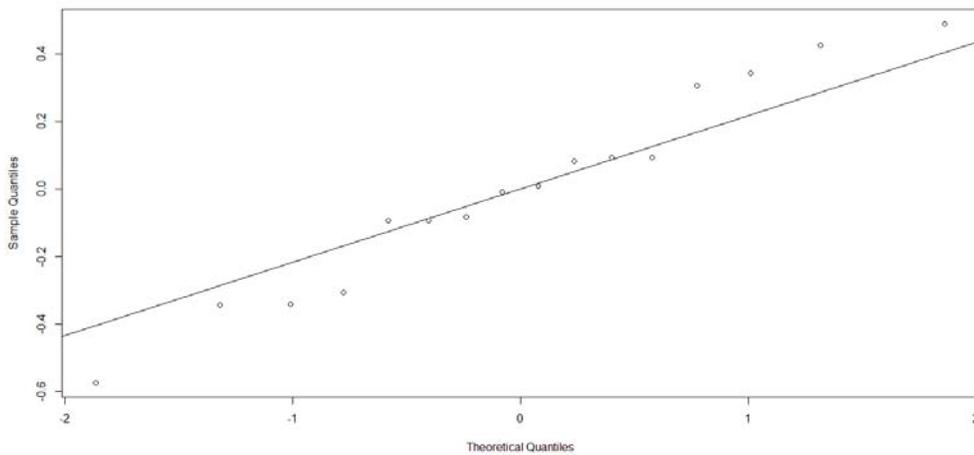
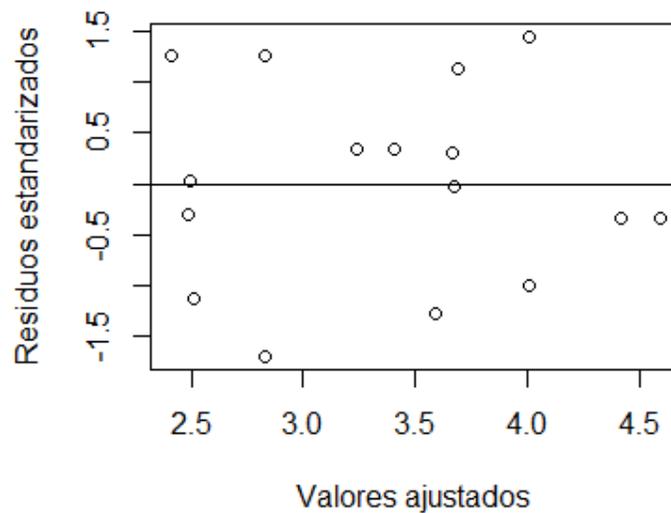


Figura 3. Distribución de residuos versus valores ajustados



El test de Levene corrobora lo mostrado en la Figura 3, debido a que se obtiene con este un p-valor de 0.64.

V. DISCUSIÓN

La provincia de Trujillo se encuentra en una latitud cercana al Ecuador; por ello, no presenta estaciones marcadas lo que nos permite tener suficiente cantidad de horas luz para que las yeguas ciclen durante todo el año, por tal motivo, a pesar de que el índice de preñez baja, no poseemos una etapa anovulatoria. Información y situaciones similares se reportan en distintos trabajos (Ginther y otros, 2004; Ramirez, 2006; Boeta y otros, 2006; Caravaca y otros, 2016). Debido a que el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal está activo siempre en la mayoría de las hembras, la aplicación de un análogo de la GnRH en esta y en cualquier época del año muestra resultados.

Orisaka (2009) manifiesta que la fase sensible a las gonadotropinas empieza en el folículo preantral y es donde se decide el destino del folículo (dominancia versus atresia); por ello, diversos autores coinciden en que el tamaño de un folículo seleccionado dominante es a partir de los 23 mm aproximadamente, este debe estar acompañado de un edema endometrial grado 2 indicativo de inicio de celo (Ginther y otros, 2005; Samper, 2009; Orisaka y otros 2009; Paredes y otros, 2012; Ginther, 2016). Esta información es similar a lo encontrado en el presente trabajo, y así confirmamos que los folículos de ese tamaño responden al tratamiento hormonal.

El crecimiento natural de un folículo dominante por día, según lo reportan diversos autores, es de 2.04 ± 0.63 mm (Gutierrez y Ramos, 2008), 3 mm (Samper, 2009; Jennings, 2009), y 2.1 ± 0.9 (Rodriguez y otros, 2013), datos que coinciden con el 2.77 ± 0.15 mm/día observado en los animales control de nuestro trabajo; con esta información básica, encontramos que con la aplicación del tratamiento evaluado se obtuvo un 3.95 ± 0.15 mm/día, resultando un crecimiento de 1.18 mm/día mayor, debido a que la aplicación de 0.7 mg de gonadorelina potencia el proceso natural del crecimiento folicular.

Aparentemente no existen estudios sobre acelerar el crecimiento diario folicular en yeguas, mas podemos comparar nuestro resultado sobre crecimiento en días desde un folículo dominante hasta preovulatorio con

estudios realizados mediante el uso de otras hormonas; así, Nagao y otros (2012) obtuvieron 3.5 ± 0.9 días con la aplicación de otro análogo de la GnRH, resultado similar al nuestro, esto puede deberse a que ellos solo evaluaron hasta que el folículo alcanzó los 33mm; además nuestro estudio muestra mejores resultados que con los 5.3 ± 0.5 días y 6.22 ± 1.7 días reportado por Raz y otros (2009) y Vásquez (2014) respectivamente, al igual que mediante la aplicación de eFSH donde reportan 5.3 ± 1.3 días (Niswender y otros, 2004) y 4.5 ± 0.4 días (Raz y otros, 2009), esto, a causa de que tuvieron varios folículos en crecimiento.

VI. CONCLUSIONES

- La aplicación de 0.7mg de acetato de gonadorelina intramuscular administrado en 3 días consecutivos acelera el crecimiento medio diario del folículo en 1 a 3 días, sin generar crecimiento folicular múltiple.
- La administración de acetato de gonadorelina en yeguas peruanas de paso permite un incremento del crecimiento folicular de 1.18 mm/día sobre el crecimiento obtenido en condiciones naturales (control).

VII. RECOMENDACIONES

- Una vez que el folículo ha alcanzado el tamaño pre ovulatorio se puede utilizar los protocolos conocidos para asegurar la ovulación dentro de las 48h.
- Realizar trabajos similares en los meses de verano donde la intensidad de las horas luz permite un excelente manejo reproductivo, por lo que sería, muy interesante conocer el efecto del crecimiento folicular frente a la aplicación de la hormona.
- Realizar trabajos similares con distintas dosis hormonales.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- BERGFELT, DR., GINTHER, OJ. 1993. Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycles in mare. *Theriogenology*. v. 30(4): 781-796.
- BOETA, M., PORRAS, A., ZARCO, L., AGUIRRE-HERNANDEZ, R. 2006. Ovarian activity of the mare during winter and spring at a latitude of 19°21' North. *J Equine Vet Sci* 26(2): 55-58.
- CAMPBELL, M. 2015. It's all in the timing: ovulation induction in the mare. *Research*. Recuperado de <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/170/21/538>
- CARAVACA, F.P., CASTEL, J.M., GUZMÁN, J.L. DELGADO, M., MENA, Y., ALCALDE, M.J. GONZÁLEZ, P. 2016. Bases de la reproducción animal. 1era edición. Córdoba, España, Universidad de Sevilla. 512p.
- CLASEN, K., ELST, P. 2008. Efficacy of human chorionic gonadotropin (hCG) administration for ovulation induction in spontaneous cycles. Elsevier, Bélgica. 90(Supplement):S119.
- DAVIES, M.M. 2005. Fisiología de la Reproducción de los équidos, cría y manejo de la yeguada. Zaragoza, Editorial Acribia S.A. 417p.
- GALINA, C., VALENCIA, J. 2008. Reproducción de los Animales Domésticos. Tercera Edición. México D.F: Editorial Limusa S.A.
- GINTHER, D.O., BEG, M.A., GASTAL, M.O., BAERWALD, A.R., PIERSON, R.A. 2005. Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *CIHR IRSC*. 130(3): 379-388.

- GINTHER, O.J, BEG M.A., DONADEU, F.X, BERGFELT, D. R. 2003. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. Anim. Reprod. Sci. 78:239-257.
- GINTHER, O.J., GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., BEG, M.A. 2004. Seasonal influence on equine follicle dynamics. Anim Reprod. 1:31-44
- GINTHER, O. J. 2000 Selection of the dominant follicle in cattle and horses. Animal Reproduction Science, 60- 61, 61-79.
- GINTHER, O.J. 2016. Systemic and intrafollicular components of follicle selection in mares. Domest Anim Endocrinol, Madison. 59:116-133
- GUTIÉRREZ, C., RAMOS, J. 2008. Seguimiento de la dinámica folicular en yeguas de paso criollo colombiano en la sabana de Bogotá. Tesis Med. Vet. Bogotá. Universidad de la Salle. 108p.
- HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. 2002. Reproduction in farm animals. South Carolina, USA, Lippincott Williams and Wilkins Inc.
- INTERVET. 2007. Compendio de reproducción. 9na edición. Uruguay-Paraguay. 439p.
- JENNINGS, M., BOIME, I., DAPHNA-IKEN, D., JABLONKA-SHARIFF A., CONLEYC, A., COLGIND, M., BIDSTRUPA, L., MEYERS-BROWNA, G., FAMULAA, T., ROSER J. 2009. The efficacy of recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) to promote follicular growth in mares using a follicular suppression model. Animal Reproduction Science 116. USA. 116:291–307.
- KLEIN, B. G. 2013. Cunningham: Fisiología Veterinaria. 5ta edición. Virginia, EEUU, Elsevier Saunders. 607 p.
- MCCRACKEN, J. A., CUSTER, E. E., LAMSA, J. C. 1999. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. Physiol. Rev. 79(2):263-323.

- McCUE, P., HUDSON, J., BRUEMMER, J., SQUIRES, E. 2004. Efficacy of hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue. *Amer. Assoc. of Equ. Pracct, Lexington*. 510-513p ref. 12.
- MINISTERIO DE SANIDAD, CONSUMO Y BIENESTAR SOCIAL. 2018. Ficha técnica o resumen de las características del product. Recuperado de: https://www.msd-animal-Health.es/binaries/Fertagyl_SPC_181016_tcm101-168634.pdf
- NAGAOA, J., NEVES, J., PAPA, F., ALVARENGAA, M., FREITAS-DELL'AQUAA, C., DELL'AQUA J. 2012. Induction of double ovulation in mares using deslorelin acetate. *Animal Reproduction Science. Brazil*. 136: 69-73.
- NISWENDER, K., MCCUE, P., SQUIRES, E. 2004. Effect of purified equine follicle-stimulating hormone on follicular development and ovulation in transitional mares. *Journal of Equine Veterinary Science. Colorado, USA*. 24(1): 37-39.
- ORISAKA, M., TAJIMA, K., TSANG, B.K., KOTSUJI, F. 2009. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *Journal of Ovarian Research. South Korea*. 2:9.
- OSMERS, J., MARTINSSON, G., KLEWITZ, J. 2011. A single intramuscular injection of gonadorelina [6-D-Phe] induces ovulation in the mare. *Pferdeheilkunde* 27(3):220-223.
- PALMER, E., DRIANCOURT, M.A. 1981. Stimulation photopériodique de la jument en anœstrus hivernal: qu'est-ce qu'un jour court? En *Photoperiodism and reproduction*, Nouzilly. Les Colloques de l'INRA. Ed. INRA Publ. Paris. (6):67-85.

- PAREDES, M. 2013. Características del ciclo estral, desarrollo embrionario y determinación de la tasa de preñez en yeguas criollas colombianas. Tesis Mg en Salud Animal. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 142p.
- PAREDES, M. P, JIMÉNEZ, C, & HERNÁNDEZ, A. 2012. Estudio del intervalo interovulatorio en yeguas criollas colombianas. Rev. Med. Vet. Zoot., Bogotá. 59(1):32-48.
- PHETUDOMSINSUK, K. 2017. Investigation into the effect of prostaglandin F2a, GnRH analogue and hCG on induction of ovulation in mares. Thai J. of Vet. Med., Thailand. 47(4):493-499.
- PINTO, C. Hormones and breeding. *In: Annual Convention of American Association on Equine Practitioners (59., 2013, Nashville, USA). 2013. Proceedings. 59v.*
- RAMIREZ, J. 2006. Determinación del fotoperiodo sobre la actividad ovárica en yeguas durante el año, en diferentes horas, en los departamentos de Guatemala, Sacatepequez y Escuintla. Tesis Méd. Veterinario. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 97p.
- 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, Canadá. 1358-1366.
- RODRIGUEZ, A., BAZÁN, A., RODRIGUEZ, J., ESPINOZA, J., VÁSQUEZ, M., LUCAS, J., HUANCA, W. 2013. Evaluación del folículo ovárico de yeguas criollas post-administración de hCG. Rev. Inv. Vet., Lima. 24(2): 189-193.
- SAMPER J. 2009. Equine breeding management and artificial insemination; *In: Uterine edema in the mare. Ed. por J. Samper. 2ed. Misuri, EEUU, Saunders Elsevier. p. 133-138.*

- SAPÈDE, D., CAU, E. 2013. The pineal gland from development to function. *Curr Top Dev Biol.*, Francia. 106:171-215.
- SATUÉ, K., GARDÓN, J.C. 2013. A review of the estrous cycle and the neuroendocrine mechanisms in the mare. *J Steroids Horm Sci*, España. (2):115
- SMOK, C., ROJAS, M. 2010. Follicular-Stromal Interaction in Mare Ovary During the Reproductive Cycle. *Int. J. Morphol.*, 28(3):697-701
- SQUIRES, E.J. 2006. *Endocrinología animal aplicada*. 1era edición. Canadá. Ed. Acribia S.A. 265p.
- VÁSQUEZ, A. 2014. Acetato de deslorelina para estimular el crecimiento folicular múltiple en yeguas de raza peruano de paso- Criaderos Montalván y Fesa. Lurin-Lima. 2012. Tesis Med. Veterinario. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. 83p.
- WOODS, J., BERGFELT D., GINTHER O. 1990. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. *Equine Vet J., Wisconsin*. 22(6):410-5.