



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO
EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**CARACTERIZACIÓN DE LA DINÁMICA OVÁRICA, TIEMPO DE
OVULACIÓN Y FERTILIDAD EN YEGUAS INSEMINADAS**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA



Presenta:

DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

GUSTAVO PÉREZ ANZÚREZ

Bajo la supervisión de: **CONSTANTINO ROMERO MÁRQUEZ, M.C.**



Chapingo, Estado de México, junio de 2019

CARACTERIZACIÓN DE LA DINÁMICA OVÁRICA, TIEMPO DE OVULACIÓN Y FERTILIDAD EN YEGUAS INSEMINADAS

Tesis realizada por **GUSTAVO PÉREZ ANZÚREZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



M.C. CONSTANTINO ROMERO MÁRQUEZ

ASESOR:



Ph.D. AGUSTÍN RUÍZ FLORES

ASESOR:



Ph.D. MAXIMINO HUERTA BRAVO

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIAS	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS.....	x
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Caracterización del ciclo estral en yeguas.....	3
2.1.1 Ciclo estral	3
2.1.2 Dinámica folicular.....	4
2.1.3 Estro.....	7
2.1.4 Ovulación	8
2.1.5 Momento de la ovulación	8
2.2 Factores que ocasionan baja fertilidad	9
2.2.1 Edad y estado reproductivo de la yegua	10
2.2.2 Problemas infecciosos del tracto reproductivo	11
2.2.3 Factor inflamatorio de la yegua.....	12
2.2.4 Ciclos estrales irregulares.....	12
2.2.5 Fotoperíodo.....	13
2.2.6 Nutrición.....	14

2.2.7	Fertilidad asociada con el semen.....	14
2.3	Herramientas utilizadas en el control reproductivo	15
2.3.1	Uso de hormonas exógenas	15
2.3.2	Uso de ultrasonografía.....	18
2.4	Literatura citada.....	19
3	CARACTERIZACIÓN DE LA DINÁMICA OVÁRICA, TIEMPO DE OVULACIÓN Y FERTILIDAD EN YEGUAS INSEMINADAS.....	27
3.1	Resumen	27
3.2	Abstract	28
3.3	Introducción	29
3.4	Materiales y métodos	30
3.4.1	Ubicación del lugar del experimento	30
3.4.2	Selección y alimentación de las yeguas.....	30
3.4.3	Recelo y evaluación de ondas foliculares	31
3.4.4	Diámetro del folículo preovulatorio y cuerpo lúteo	31
3.4.5	Extracción de semen	31
3.4.6	Inseminación artificial.....	32
3.4.7	Diagnóstico de gestación	32
3.4.8	Variables evaluadas.....	32
3.4.9	Análisis estadístico	32
3.5	Resultados y discusión.....	35
3.5.1	Efecto de edad de la yegua	35

3.5.2	Efecto de la condición corporal	36
3.5.3	Duración del celo y ciclo, y diámetro del cuerpo lúteo	37
3.5.4	Diámetros foliculares	38
3.5.5	Crecimiento folicular	38
3.5.6	Tasa de preñez	41
3.6	Conclusiones	42
3.7	Agradecimientos	43
3.8	Literatura citada	43

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Modelos finales para duración del ciclo (Dciclo), duración del celo (Dcelo), diámetro del cuerpo lúteo (DCL), inicio del celo después del día 21 (Celoh), diámetro folicular al inicio del celo (DFcelo), diámetro folicular a la inseminación artificial (DFIA) y diámetro folicular del día 7 al 21 del ciclo (DF7-21).....	33
Cuadro 2. Nivel de significancia de los efectos fijos principales y covariables para las variables: duración del ciclo (Dciclo), duración del celo (Dcelo), diámetro del cuerpo lúteo (DCL), tiempo en iniciar el celo después del día 21 (Celoh), diámetro folicular al celo (DFcelo), a la inseminación artificial (DFIA) y al día 21 (DF21).	37
Cuadro 3. Tasa de crecimiento folicular promedio de acuerdo con la edad en yeguas inseminadas artificialmente.	40
Cuadro 4. Tasa de preñez de acuerdo con la edad en yeguas inseminadas artificialmente.....	41
Cuadro 5. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente diámetro del cuerpo lúteo (DCL).	41
Cuadro 6. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente diámetro del folículo a la inseminación artificial.	42
Cuadro 7. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente tasa de crecimiento folicular.	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de decisión obtenido con el programa R, para tasa de preñez al día 16, usando el diámetro folicular a la inseminación artificial (DiamFolins) como factor.....	34
Figura 2. Efecto de la edad en la duración del celo, duración del ciclo y diámetro del cuerpo lúteo.	36
Figura 3. Curva de crecimiento folicular en yeguas, del día 7 al momento de la inseminación artificial.....	39
Figura 4. Curva de crecimiento folicular para yeguas jóvenes (3-9 años) y adultas (≥ 10 años).....	40

DEDICATORIAS

A mis padres, quienes me apoyaron en todo momento y me enseñaron que la perseverancia te lleva a cumplir las metas y objetivos que te propongas; por no dejarme solo en mi andar, a pesar de tener dificultades en el suyo.

A mis hermanos, por mostrarme los caminos adecuados y aquellos difíciles de caminar, por enseñarme que el camino fácil no siempre es el correcto, pero que con entusiasmo e ingenio se pueden librar los obstáculos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por brindarme los fondos para la realización de la investigación y estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo quien, por medio del Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, y el Posgrado en Producción Animal, me facilitó los medios para mi formación y realización de mi experimento.

Al M.C. Constantino Romero Márquez, por la dirección de la presente tesis y el apoyo para la realización del trabajo de investigación, así como por las clases impartidas y los conocimientos brindados.

Al Ph.D. Agustín Ruíz Flores, por todo el apoyo brindado en el análisis de los datos y para hacer una correcta interpretación de los resultados.

Al Ph.D. Maximino Huerta Bravo, por el apoyo en la investigación y las correcciones realizadas para un correcto desarrollo.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	Gustavo Pérez Anzúrez
Fecha de nacimiento	8 de febrero de 1993
Lugar de nacimiento	Tetela del Volcán, Morelos
CURP	PEAG930208HMSRNS02
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula profesional	11100905

Desarrollo académico

Maestría en Ciencias	Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo. 2017-2018
Licenciatura	Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. 2011-2015
Bachillerato	Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. 2008-2011

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

En la crianza equina son importantes, aspectos como: nutrición, control de enfermedades, instalaciones, así como el manejo reproductivo, siendo este un pilar fundamental para una crianza adecuada. La etapa reproductiva se considera una de las más importantes en la vida de las yeguas, puesto que el éxito se basa en su calidad reproductiva (Fernández, Hernández, Rodríguez, & Velásquez, 2008).

Una de las mayores dificultades en la reproducción equina es la baja fertilidad (Iacono et al., 2014), llegando a observarse valores de hasta 20% para tasa de preñez (Fernández et al., 2008). Esta situación se atribuye a varias causas, tales como celos silenciosos, cuerpos lúteos persistentes, quistes foliculares y lesiones en el cérvix. Se han desarrollado métodos para reducir la incertidumbre del ciclo estral de la yegua y mejorar la fertilidad, como: palpación, ultrasonografía y tratamientos hormonales con gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona luteinizante (LH), hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (Barrier-Battut et al., 2001), entre otros, hallándose con este último, resultados muy favorables, con tasa de ovulación de hasta 90% (Grimmett & Perkins, 2001) y 80% de tasa de preñez (Fernández et al., 2008).

La ecografía en tiempo real en equinos la utilizaron por primera vez Palmer y Driancourt (1980) para diagnosticar la gestación. Desde entonces se utiliza en numerosos trabajos tanto para diagnosticar preñez, como para revisar el tracto reproductivo de la yegua (Cuervo-Arango, Aguilar, & Newcombe, 2009; Lemes et al., 2017) en apoyo a la investigación y su aplicación en unidades de crianza equina. Por otra parte, la inseminación artificial se ha estudiado en aspectos como determinación de dosis adecuada (Brinsko, 2006), tiempo de inseminación (Cuervo-Arango et al., 2009), tipo de semen (Cuervo-Arango et al., 2009; Loomis & Squires, 2005) y técnica de inseminación (Brinsko et al., 2003), entre otros.

En la crianza equina, la meta es obtener una cría por yegua al año. Para lograrlo, es relevante el manejo posparto de la yegua, el adecuado uso del macho, así

como el momento de la inseminación (Lemes et al., 2017). Si bien es cierto que la ovulación ocurre entre 24 y 48 h antes del final del celo, la variabilidad en la duración del estro (Aurich, 2011) impide saber con certeza, el momento de la ovulación. Además, el diámetro folicular tiene relación directa con la ovulación y la fertilidad; la ovulación ocurre cuando el folículo preovulatorio (FP) tiene un diámetro aproximado de 40 mm (Ginther, Gastal, Gastal, & Beg, 2008). Por ello, el objetivo del presente estudio fue caracterizar la dinámica folicular en yeguas activas durante el ciclo estral, el tiempo de ovulación, así como el porcentaje de gestación con diferente tiempo de ovulación y dinámica folicular.

En el Capítulo 1 se presenta una breve introducción del tema que se desarrolla en la tesis, enfatizando la problemática y la justificación del proyecto realizado.

En el Capítulo 2 se presenta una revisión del estado de conocimiento en reproducción equina, los problemas que aquejan la fertilidad, así como los avances y estrategias para incrementarla.

El Capítulo 3 consta de un artículo científico derivado de la fase de campo, donde se caracterizó la dinámica ovárica y se obtuvieron curvas de crecimiento folicular, en la búsqueda del momento de ovulación en la yegua.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Caracterización del ciclo estral en yeguas

Las yeguas son poliéstricas estacionales de días largos (Iacono et al., 2014; Wespi, Sieme, Wedekind, & Burger, 2014); es decir, la actividad reproductiva se presenta en los días con más horas luz (Gerlach & Aurich, 2000). En esta época las yeguas presentan ciclos estrales de alrededor de 21 d (Aurich, 2011). En el hemisferio norte, las yeguas entran en anestro y la calidad del semen en machos declina agudamente a finales de otoño y durante el invierno (Gerlach & Aurich, 2000). Las yeguas son predominantemente monoovulatorias y la pubertad, inicia entre 12 y 18 meses de edad (Aurich, 2011), cuando los ovarios comienzan a interactuar con otras glándulas y ocurre la primera ovulación (Ramírez, Gutiérrez, & Ramos, 2010).

2.1.1 Ciclo estral

En las yeguas, como en otros mamíferos, el control reproductivo principalmente se lleva a cabo por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (King, Douglas, Roser, Silvia, & Jones, 2010). No obstante, es preciso conocer con certeza los eventos que ocurren durante el desarrollo folicular y la ovulación, para realizar un correcto manejo reproductivo.

De acuerdo con Aurich (2011), el ciclo estral de la yegua dura aproximadamente 21, con un intervalo de 16 a 25 d. Esta elevada variación se atribuye a la diferencia en la longitud del estro más que en la del diestro, que tiene una duración relativamente constante. Así pues, el ciclo estral se divide en dos etapas: estro o fase folicular y diestro o fase lútea.

El estro, también llamado celo, dura de 5 a 7 d, pero puede ser más largo al comienzo y final de la temporada ovulatoria (Aurich, 2011). En esta etapa la yegua es sexualmente receptiva al macho; el tracto genital está preparado para recibir y transportar el semen, y se produce la ovulación (Miro i Roig, Muñoz, Piedrafita, & Quintero-Moreno, 2004).

La fase lútea o diestro es el período en el que la yegua no acepta la monta, el tracto genital está preparado para favorecer la implantación del embrión que habría sido fecundado tras la ovulación. Al final de esta fase, si no hubo fecundación del ovulo liberado durante el celo, inicia la luteólisis, 14 o 15 d después de la ovulación (Aurich, 2011).

2.1.2 Dinámica folicular

Rodríguez et al. (2013) definen la dinámica folicular como el proceso que involucra el crecimiento continuo, la regresión de folículos antrales y el desarrollo del FP. Estos autores señalan que el desarrollo folicular depende del control endocrino, paracrino y autocrino de los ovarios, hipófisis e hipotálamo, con una combinación de hormonas, factores de crecimiento y otros componentes. La yegua, al igual que otras hembras mamíferas, tiene una reserva de ovocitos que interrumpieron su crecimiento en folículos primordiales al momento del nacimiento, para ovular durante su vida reproductiva (Espinoza-Villavicencio, Ortega-Pérez, Palacios-Espinosa, Valencia-Méndez, & Aréchiga-Flores, 2007).

Los folículos primordiales se activan por niveles altos de FSH para continuar su desarrollo; y en la yegua, esto solo ocurre en la temporada reproductiva (Gigli et al., 2006). Dicha activación da lugar a ondas foliculares, que constan del crecimiento simultáneo de un grupo de folículos, donde un par de estos (folículo dominante-FD y folículo subordinado mayor-FS) continúan creciendo hasta el momento de la diferenciación y dominancia (Gigli et al., 2006), mientras los demás se retrogradan (Ginther, 2017); en ese tiempo el FD mide alrededor de 22.5 mm de diámetro (Ginther et al., 2008).

El hipotálamo es un órgano clave de la reproducción, pues los gonadotropos secretan la hormona GnRH, que se libera al sistema portal-hipotalámico-hipofisiario estimulando la síntesis y liberación de las gonadotropinas (FSH y LH), responsables de la dinámica folicular ovárica, producción de estrógeno, ovulación y luteinización del cuerpo lúteo (CL) (Aurich, 2011). Otras hormonas como el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-1) y la proteína plasmática

asociada con la preñez, afectan los principales signos externos de comportamiento del estro y los eventos que determinan la ovulación (Gigli et al., 2006).

En la yegua se considera que la FSH y LH están solo bajo el control de la GnRH, puesto que comúnmente (>80% de las veces) los pulsos de GnRH son seguidos de un pulso de LH en la hipófisis (Aurich, 2011). Además, existe un mecanismo de retroalimentación negativa con la melatonina que ocasiona que, en días largos, al secretarse menos melatonina, se favorezca la secreción de GnRH (Gigli et al., 2006). No obstante, existen otros mecanismos implicados que aún no han sido completamente explicados (Aurich, 2011).

Por otra parte, existe un patrón de divergencia en la secreción de LH y FSH, el cual es más marcado en equinos que en otras especies (Aurich, 2011). Un aumento temprano de la LH periférica, ocasiona un leve incremento de la FSH con un subsecuente declive hacia su nadir (Bergfelt, Mann, Schwartz, & Ginther, 1991), mientras la LH alcanza su máximo nivel (Aurich, 2011). A la mitad de la fase luteal, se observa un segundo gran incremento de FSH sin uno de LH, lo que ocurre en diferente momento en cada yegua (Ginther et al., 2005).

El FP sufre cambios en su forma y consistencia momentos antes de la ovulación, que pueden apreciarse con ayuda de ultrasonografía; el folículo se achata en dirección a la fosa de ovulación y se engrosa en las paredes (Gigli et al., 2006). Además, el FD tiene una tasa de crecimiento lineal, y de acuerdo con Palmer y Diancourt (1980), al acercarse a la ovulación (24-48 h previas), este crecimiento se reduce o se detiene.

Ondas foliculares

En las yeguas ocurren una o dos ondas foliculares durante el ciclo estral; una onda primaria, que concluye con la ovulación, y una secundaria en la que el FD no alcanza el tamaño suficiente para liberarse y tiene una incidencia de 25% (Ginther et al., 2004). Una asociación de la onda folicular con la FSH aparece

cuando esta hormona alcanza un pico en su liberación, alrededor de tres días antes de la desviación folicular (día 16) (Ginther et al., 2005).

En la onda folicular ovulatoria o primaria, emerge un grupo de folículos de aproximadamente 6 mm alrededor de 10 d después de la ovulación, y ocurre una fase de crecimiento común de los mismos hasta el día 16 (Gastal, Gastal, Bergfelt, & Ginther, 1997). Mientras tanto, los dos folículos más grandes, tienen un crecimiento similar entre sí, y al final de la fase de crecimiento común, surge la desviación, caracterizada por una tasa de crecimiento continuo del FD, y una reducción en la tasa de crecimiento del FS (Ginther, 2017), cuando el FD mide alrededor de 22 mm (Ginther et al., 2003).

Crecimiento folicular

En una onda folicular emergen alrededor de 12 folículos (Gastal, Gastal, Beg, & Ginther, 2004) y crecen a una tasa de 2 a 3 mm d⁻¹ (Donadeu & Pedersen, 2008). Ginther et al. (2004), encontraron una tasa de crecimiento de 3 mm durante la fase común; no obstante, el FD creció 2.7 mm d⁻¹ los tres días previos a la desviación, mientras que el FS creció 2.6 mm d⁻¹. Además, estos autores hallaron que el FD y FS tienen un diámetro a la desviación de 22.7 y 20.3 mm, respectivamente.

Gastal et al. (2004) encontraron que en 61% de las ondas foliculares, el primer folículo en emerger a los 6 mm continúa creciendo con esa ventaja sobre los demás folículos y se convierte en el FD, aunque en algunas ocasiones el folículo más grande, reduce la tasa o cesa el crecimiento y el segundo folículo más grande se convierte en el FD. Más tarde, cuando el FP alcanza de 35 a 45 mm de diámetro, es liberado o cesa su crecimiento y comienza su regresión, dependiendo de los niveles de LH (Donadeu & Pedersen, 2008).

La FSH estimula el crecimiento folicular, y alcanza su pico cuando el folículo más grande mide 13 mm (Ginther, Beg, Donadeu, & Bergfelt, 2003); a partir de ese momento desciende su liberación por acción de la inhibina (Watson & Al-Zi'abi,

2002). Esta reducción es un factor importante para el inicio de la desviación, la cual sucede tres días después del pico de FSH (Ginther et al., 2003).

Por otra parte, la fase prepuberal de las yeguas se caracteriza por la presencia de ondas foliculares menores (Donadeu & Pederson, 2008). La actividad folicular de los primeros 10 meses de edad, presenta un crecimiento de los folículos de 6 a 10 mm aproximadamente (Nogueira & Ginther, 2004)

2.1.3 Estro

El estro se caracteriza por una atracción mayor de la hembra hacia el macho, así como por la aceptación de la monta. El desarrollo del estro es inhibido por la secreción de progesterona (P₄) y promovido por el estradiol (Aurich, 2011). Algunos de los signos presentes en la yegua son: relajación de los genitales externos, incremento de la frecuencia de micción, elevación de la cola y aumento de la actividad física, entre otros (Pryor & Tibary, 2005; Samper, 2008). En presencia del macho, la yegua gira los cuartos traseros hacia este y adopta una postura característica, bajando un poco la pelvis y abriendo ligeramente las patas (Aurich, 2011).

La duración del estro es afectada por causas como raza y factores estacionales. El ciclo estral es más largo antes de la temporada reproductiva, la cual ocurre en primavera y verano; esto se asocia con una menor concentración diaria de LH (Cuervo-Arango et al., 2015). Sin embargo, el principal factor responsable de esta alta variación parece estar relacionado con la dinámica folicular (Lemes et al., 2017). El diámetro folicular en el primer día de estro, la tasa de crecimiento folicular y el diámetro del FP influyen en la duración del estro (Ginther et al., 2004).

La infertilidad de la yegua es una falla transitoria de la capacidad de concebir (Ramírez, López, & Cifuentes, 2006). Debido a la dificultad por conocer la duración exacta del estro, así como el momento preciso en que ocurre la ovulación, los índices de fertilidad son bajos (Cuervo-Arango et al., 2015). Por ello, el conocimiento de la dinámica folicular y el momento en que ocurre la

ovulación es indispensable para determinar el momento óptimo de la inseminación, ahorrando tiempo y recursos en las unidades de crianza equina.

2.1.4 Ovulación

La ovulación es el momento del ciclo cuando el oocito es liberado al tracto reproductivo, debido a cambios endócrinos (aumento gradual y progresivo de LH) (Gigli, Russo, & Agüero, 2006), bioquímicos y citológicos que ocasionan el colapso del FP; en las yeguas, esto ocurre 24 a 48 h antes del fin del celo (Miro i Roig et al., 2004).

Tras la ovulación, si la yegua no quedó preñada, el CL empieza a retraerse (regresión) por acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) producida en los pliegues del útero, ocasionando la caída de la P_4 ; dicho proceso se completa aproximadamente el día 18 (Aurich, 2011). De acuerdo con este autor, alrededor del día 13, los niveles de la hormona foliculoestimulante (FSH) aumentan, causando el crecimiento del folículo y su preparación para la ovulación del siguiente ciclo (día 19 a 22). En la yegua, la oleada de LH ovulatoria es prolongada, los niveles aumentan gradualmente a lo largo del estro hasta alcanzar un máximo al día siguiente a la ovulación (Ginther, 2000).

2.1.5 Momento de la ovulación

En equinos el diámetro folicular es el criterio más usado para determinar el momento de la ovulación (Cuervo-Arango & Newcombe, 2008); no obstante, el amplio rango de medidas dificulta su utilización como predictor (22-50 mm) (Morel, Newcombe, & Hayward, 2010). Varios factores afectan el diámetro del FP como época del año, número de folículos preovulatorios, raza, e incluso variaciones individuales dentro de raza (Cuervo-Arango & Newcombe, 2008). Además, se ha demostrado que en yeguas inducidas a la ovulación con hCG, el FP es más chico que en aquellas no tratadas (Gastal, Silva, Gastal, & Evans, 2006).

De igual modo, el edema uterino (formado por pliegues inflamados durante la fase folicular) sirve de apoyo en la predicción, pues reduce su tamaño al acercarse la ovulación; no obstante, su uso se complica al no estar presente este patrón en todas las yeguas, y en ocasiones el edema está ausente durante la fase folicular (Cuervo-Arango & Newcombe, 2008). La concentración de P₄ en sangre se ha utilizado para determinar retrospectivamente el momento de la ovulación, mostrando valores de certeza mayores que 88% (Nagy et al., 2004); aunque dicho procedimiento es de gran utilidad para los protocolos de transferencia de embriones, no lo es para predecir la ovulación siguiente.

Sumado a lo anterior, Cuervo-Arango y Newcombe (2008) mostraron que existe una correlación alta y positiva ($r=0.89$) en el tamaño del FP de dos ciclos consecutivos. Lo anterior, hace de la historia reproductiva de la yegua, así como de la determinación del diámetro folicular, grandes herramientas para predecir el momento de la ovulación.

Por otra parte, se ha investigado el tiempo de la ovulación después de administrar un tratamiento hormonal, por ejemplo, Samper, Jensen, Sergeant y Estrada (2002) encontraron que tras la aplicación de acetato de deslorelina (análogo de GnRH) o hCG, la ovulación ocurre en las siguientes 48 o 96 h, respectivamente. Más recientemente, Tazawa, Gastal, Silva, Evans y Gastal (2017) hallaron que las yeguas tratadas con hCG, ovulan en las siguientes 24 a 48 h, con más que 95% de certeza.

2.2 Factores que ocasionan baja fertilidad

La baja fertilidad de la yegua es una falla transitoria de la capacidad de concebir (Ramírez et al., 2006). Las principales causas son: edad y estado reproductivo, problemas infecciosos del tracto reproductivo, endometritis persistente, irregularidades del ciclo estral, fotoperíodo, nutrición, así como la fertilidad del semen. Sumado a estos factores, la dificultad por conocer la duración exacta del estro, así como el momento preciso en que ocurre la ovulación, reduce los índices de fertilidad (Cuervo-Arango et al., 2015).

2.2.1 Edad y estado reproductivo de la yegua

La edad de la yegua es un factor importante en la crianza equina; de acuerdo con Bosh, Powell, Shelton y Zent (2009); Morris y Allen (2002); y Nath, Anderson y Mckinnon (2010), yeguas jóvenes (2-13 años) presentan mayores tasas de preñez que aquellas de mayor edad (>14 años) en el diagnóstico de gestación al día 15. De igual modo, Morris y Allen (2002) observaron que el porcentaje de tratamientos uterinos necesarios para el total de las yeguas fue mayor en viejas que en jóvenes (9.7 y 22.3%, respectivamente).

Así mismo, Allen, Brown, Wright y Wilsher (2007) investigaron el efecto de la edad de la yegua en su desempeño reproductivo, encontrando que yeguas jóvenes (3-8 años) requieren un menor número de servicios por preñez que las de mayor edad (>9 años) (1.7 y 2.1 servicios, respectivamente); además encontraron resultados similares a los de Bosh et al. (2009) y Morris y Allen (2002), demostrando que yeguas jóvenes tienen mejores índices de preñez al día 15 comparadas con yeguas mayores (65.7 y 57.6%, respectivamente). Sumado a lo anterior, en diagnósticos de gestación posteriores (35 y 42 d), en ambos trabajos el porcentaje de preñez se redujo mayormente en yeguas viejas que en jóvenes, evidenciando la mejor eficiencia reproductiva de las yeguas jóvenes.

Por otra parte, algunos autores han estudiado el efecto del estado reproductivo de la yegua al momento del apareamiento en la tasa de preñez. Nath et al. (2010), mostraron que en potrancas es mayor que en yeguas lactando, con infertilidad persistente o aquellas que presentaron infertilidad en la estación reproductiva anterior. De manera distinta, Katila, Reilas, Nivola, Peltonen y Virtala (2010), encontraron que la tasa de preñez en potrancas es similar que la de yeguas paridas, las que fueron cruzadas y luego tuvieron un período de descanso, y aquellas que habían presentado infertilidad persistente. Sin embargo, esta situación ocurre solo en potrancas jóvenes, pues en las viejas la tasa de preñez es menor que 40%. Otros autores (Morris & Allen, 2002; Sharma, Dhaliwal, & Dadarwal, 2010) reportaron que las yeguas con infertilidad persistente y las que tuvieron un período de inactividad de crianza, tuvieron menor porcentaje de

preñez que las potrancas y yeguas paridas. Es importante mencionar que las yeguas con infertilidad se sometieron a un tratamiento previo para retornar a su ciclicidad.

2.2.2 Problemas infecciosos del tracto reproductivo

Otra causa de baja en la fertilidad, son las infecciones uterinas (Gutjahr et al., 2000), que ocasionan en muchos casos a la muerte embrionaria y a una baja en la tasa de preñez en cubriciones subsecuentes (LeBlanc & Causey, 2009). Dentro de estas, la más relevante es la metritis contagiosa equina.

La metritis contagiosa equina, es una enfermedad venérea, causada por la bacteria *Taylorella equigenitalis*. Aunque la principal vía de transmisión es durante el coito, Watson y Stokes (1990) afirman que puede transmitirse, de manera artificial, por mal manejo sanitario de la yegua y el caballo al momento del servicio, así como por guantes y otros implementos usados en las prácticas reproductivas habituales. Además, estos autores mencionan que causa infertilidad y aborto ocasional a partir de 60 d de gestación.

La metritis contagiosa equina en las yeguas ocasiona abundantes descargas mucopurulentas, vaginitis e inflamación del cérvix (Duquesne, Pronost, Laugier, & Petry, 2007). Sin embargo, algunas yeguas pueden no presentar estos signos, y junto con los machos, portadores asintomáticos y los principales diseminadores, pueden contagiar la infección durante el apareamiento (Matsuda & Moore, 2003). El diagnóstico de esta enfermedad, además de los signos clínicos, debe basarse en el cultivo y aislamiento de la bacteria en laboratorio. Adicionalmente, la técnica PCR puede usarse con éxito para identificar esta bacteria (Duquesne et al., 2007). Así pues, se ha demostrado que existe un efecto de la aplicación de algún tratamiento uterino en la tasa de preñez; Sharma, Morel y Dhaliwal (2010) demostraron que para yeguas tratadas con antibióticos, hormonas o con un lavado uterino, fue 31%, mientras que, para aquellas sin ningún tratamiento, fue 58%.

2.2.3 Factor inflamatorio de la yegua

Después de la inseminación artificial o monta natural, las yeguas presentan una endometritis transitoria en respuesta a células extrañas introducidas al tracto reproductivo (Troedsson, Loset, Alghamdi, Dahms, & Crabo, 2001; Watson, 2000a). Esta inflamación se caracteriza por la entrada rápida de neutrófilos polimorfonucleares al lumen del útero (Alghamdi, Foster, & Troedsson, 2004), y normalmente termina cinco días después para permitir la implantación del embrión (Fumuso et al., 2003).

Sin embargo, Fumuso et al. (2003) mencionan que algunas yeguas no son capaces de reducir la inflamación (yeguas susceptibles), convirtiéndose en una endometritis persistente posapareamiento (EPPA). Se ha demostrado que el proceso inflamatorio es dañino para los espermatozoides y afecta su motilidad (Alghamdi, Troedsson, Laschkewitsch, & Xue, 2001). Aunado a la inflamación, hay un incremento de $\text{PGF}_{2\alpha}$ lo que puede ocasionar luteólisis y muerte embrionaria (Palm et al., 2008).

Se ha estudiado el uso de inmunomoduladores para reducir la incidencia de EPPA en yeguas susceptibles, logrando que se comporten de manera similar a las yeguas resistentes (Fumuso et al., 2003). Portus, Reilas y Katila (2005) mencionan que el plasma seminal induce la aparición de EPPA; sin embargo, el uso de la lactoferrina aislada (proteína del plasma seminal), inhibe la expresión del factor de necrosis tumoral (TNF), un componente proinflamatorio, y reduce la aparición de EPPA en yeguas susceptibles (Fedorka et al., 2017). Similarmente, Segabinazzi et al. (2017), probaron la efectividad en la reducción de la EPPA del plasma rico en plaquetas ($250,000 \text{ plaquetas ml}^{-1}$) al aplicarse 20 ml 24 h antes o 4 h después de la IA.

2.2.4 Ciclos estrales irregulares

La regularidad del ciclo estral es determinada por niveles de las hormonas que producen la glándula pineal, hipotálamo, hipófisis, ovarios y endometrio (Ginther et al., 2008; King et al., 2010). Sin embargo, las yeguas presentan una fase

folicular variable e inconsistente, en la que la ovulación se presenta cercana al final del estro, lo que dificulta predecir de manera precisa el momento en que esta ocurre (Miro i Roig et al., 2004).

Por otra parte, aunque en yeguas viejas no hay una marcada senescencia en la actividad reproductiva, sí existe diferencia en la duración del ciclo estral cuando se comparan con yeguas jóvenes y de mediana edad; esta diferencia se debe a una tasa de crecimiento folicular mayor en estas últimas (Ginther et al., 2008). Además, la duración del ciclo cambia por el estado reproductivo, es decir, en yeguas no lactantes es más largo que en las que están lactando, sin llegar a presentar anestro lactacional como en otras especies (cerdos, vacas lecheras, humanos) (Heidler, Aurich, Pohl, & Aurich, 2004).

En reproducción equina, se usan varios parámetros para determinar el momento de la ovulación; no obstante, la complejidad de los mecanismos involucrados en la ovulación, así como la duración del estro, los signos del celo y la variación del tiempo de ovulación ocasionan que ninguno de estos parámetros brinde evidencia de que la ovulación está cerca (Miro i Roig et al., 2004). Aunque un examen continuo de la yegua brindaría información necesaria para predecirla con cierta confiabilidad, esto no es práctico ni rentable.

2.2.5 Fotoperíodo

El eje hipotálamo-hipófisis-gonadal es el encargado del desarrollo del ciclo estral y la espermatogénesis en los machos; no obstante, el fotoperíodo también afecta el ciclo estral de la yegua (Samper, 2000). La secreción de GnRH se controla por mecanismos de retroacción; en uno de ellos la melatonina se libera durante las horas sin luz, inhibiendo la secreción de GnRH, por lo que en la época de más horas luz, la secreción de GnRH se incrementa y favorece la biosíntesis y liberación de FSH y LH (Gigli et al., 2006).

2.2.6 Nutrición

Las yeguas son poliéstricas estacionales de días largos, aunque en condiciones de trópico esta estacionalidad es menos marcada o nula (Ramírez et al., 2010); no obstante, con una alimentación de baja calidad o poca cantidad, las yeguas muestran estacionalidad (Samper, 2000). Así pues, una nutrición inadecuada y deficiencia de grasa corporal, reduce la eficiencia reproductiva, ocasionando ciclos estrales anormales y dificultando el apareamiento (Huff, Thompson, Gentry, & Depew, 2008). De acuerdo con Gentry et al. (2002), una baja condición corporal se asocia con baja concentración de leptina en sangre y un extenso período anovulatorio. La leptina es una hormona que funge como señal de la grasa corporal al hipotálamo, encargado, entre otras cosas, de la secreción de GnRH (Houseknecht, Baile, Matteri, & Spurlock, 1998). En contraste, yeguas obesas presentan hiperleptinemia (Gentry et al., 2002), lo que ocasiona hiperinsulinemia e hiperglucemia (Huff et al., 2008). Además, así como una baja concentración de insulina en sangre lleva a anormalidades, una elevada concentración también trae consigo problemas reproductivos (Huff et al., 2008), por ejemplo, por inhibición en la secreción de estradiol (Spicer, 2001).

2.2.7 Fertilidad asociada con el semen

La inseminación artificial (IA) es una técnica usada comúnmente en reproducción equina, con semen fresco, refrigerado o congelado (Love et al., 2015). En la utilización de estos tipos de semen, la principal diferencia es el número de espermatozoides utilizados, pues en el semen congelado, algunos espermatozoides se dañan por los cambios de temperatura y el semen pierde calidad (Watson, 2000b). Una práctica indispensable en la IA es la evaluación del semen posterior a la colecta o después de la descongelación (Love et al., 2015).

La tasa de preñez al utilizar semen congelado es menor, comparado con semen fresco y refrigerado, debido a los daños que sufren los espermatozoides (Watson, 2000b). Esto se debe a que el plasma seminal que es retirado para la congelación participa en la protección de los espermatozoides en el tracto reproductivo de la yegua, además de que ocurren alteraciones de la membrana y daños a causa de

concentraciones altas de criopreservadores (Neira, Ramírez, García, & García, 2007; Troedsson, Alghamdi, & Mattisen, 2002).

La calidad del semen es un elemento determinante de la fertilidad del macho; factores como motilidad masal y progresiva, rapidez de los espermatozoides, así como porcentaje de espermatozoides normales, se relacionan con una mayor fertilidad. En contraparte, el porcentaje de espermatozoides con anomalías de la cabeza o cola, presencia de gota proximal o distal, y anomalía de la pieza media se asocian con baja fertilidad (Love, 2011).

2.3 Herramientas utilizadas en el control reproductivo

Debido a los problemas presentes en reproducción equina, ha sido necesario buscar alternativas para mejorar la fertilidad, como uso de hormonas exógenas y ultrasonografía.

2.3.1 Uso de hormonas exógenas

En el control y mejoramiento reproductivo, se utilizan algunas hormonas como la $\text{PGF}_{2\alpha}$ para lisis del CL, hCG y GnRH como coadyuvantes en la inducción de la ovulación y la P_4 para el reconocimiento y mantenimiento de la preñez.

Prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$

El uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue reportado por primera vez por Douglas y Ginther (1972), quienes la aplicaron el día seis del diestro, causando la lisis del CL tres o cuatro días después de su aplicación. Desde entonces, esta hormona se ha utilizado en numerosos trabajos en equinos para: manipular ciclos normales y anormales, causar abortos (Douglas, Squires, & Ginther, 1974), sincronizar ovulaciones, y en programas de transferencia de embriones, entre otros (Staempfli, 2011).

La aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ resulta igualmente eficaz por vía intramuscular, intravenosa, intrauterina o subcutánea (Douglas & Ginther, 1975). Sin embargo, esta aplicación ocasiona reacciones secundarias en 10% de los casos, como diarrea, sudoración o malestar abdominal durante más de 20 min (Staempfli,

2011). Con el afán de reducir estos malestares, algunos autores reportan dosis de aplicación de 25 µg de cloprostenol (Estrumate; Schering-Plough Animal Health Corp., Union, NJ; ahora Merck & Co., Inc.), comparado con los 250 µg usuales (Nie, Goodin, Braden, & Wenzel, 2001), y dos inyecciones de 0.5 mg de dinoprost (Lutalyse; Pfizer Animal Health, New York; ahora Zoetis Inc.), cada 24 h, comparado con 5-10 mg usados normalmente (Irvine, McKeough, Turner, Alexander, & Taylor, 2002), obteniendo buenos resultados de luteólisis y sin hallar los signos antes mencionados.

Gonadotropina coriónica humana

Por otra parte, la hCG es una hormona proteica, agonista de la GnRH, que en los primates es esencial para el mantenimiento de la preñez hasta que la placenta cumple esa labor (Stewart & Allen, 1995). En yeguas se usó por primera vez por Fred Day en 1939 y desde entonces es posiblemente la hormona más usada en reproducción equina; su función en la yegua es la aceleración de la maduración folicular y la consecuente ovulación, cuando se aplica después de la mitad del celo (Newcombe, 2011).

El tratamiento con 1500-2000 UI de hCG desencadena la ovulación del FP en las 24-48 h siguientes, ocasionando que el FP tenga un crecimiento muy pequeño o casi nulo tras la aplicación (Cuervo-Arango & Newcombe, 2008). Sin embargo, no se han encontrado diferencias consistentes en la fertilidad, en comparación con ovulaciones espontaneas; por ejemplo, Grimmatt y Perkins (2001) reportaron mejoras en la fertilidad, mientras que Morel y Newcombe (2008) mencionaron que no existe ventaja al usarse en yeguas con ciclicidad normal.

Hormona liberadora de gonadotropinas

El uso de GnRH en yeguas inició en la década de los 70, principalmente en la inducción de la ovulación (Evans & Irvine, 1977) y promoviendo la liberación de FSH y LH al usarse GnRH natural en la época de anestro (Evans & Irvine, 1976). Por su parte, Johnson (1987), indujo el desarrollo folicular, la ovulación y el desarrollo normal del CL, al aplicarla cada hora. Los implantes de análogos de

GnRH, como la buserelina también sirven en la inducción de la ovulación en yeguas en anestro (Allen et al., 1987; Harrison, Squires, Nett, & McKinnon, 1990).

Además, se ha probado la administración de GnRH mediante implantes osmóticos subcutáneos. Sin embargo, yeguas con una administración periódica, ovulan 2.8 d antes que aquellas que reciben la misma cantidad de GnRH de manera continua por medio de dichos implantes (Ainsworth & Hyland, 1991). Aunado a esto, Williams et al. (2007) demostraron la eficacia de utilizar dosis bajas de GnRH, de manera continua ($2.5 \mu\text{g h}^{-1}$), para inducir la ovulación en yeguas con anestro persistente. Por otra parte, la efectividad de la GnRH es afectada por algunos factores como edad, y fecha de utilización; Farquhar, McCue, Vanderwall y Squires (2000) encontraron que la respuesta mayor se obtiene en yeguas de 10-14, y la menor en yeguas de más de 20 años; además, la mejor época para su aplicación es de julio a octubre, con respuesta mayor que 95%.

Progesterona

La P_4 es un progestágeno de alta efectividad usado ampliamente en el control del ciclo estral y mantenimiento de la gestación (Pinto, 2011). Ha sido reportado que adelanta el estro y la primera ovulación en época de transición (Newcombe, 2002) y en yeguas ciclando (Grimmett, Hanlon, Duirs, & Jochle, 2002). Newcombe (2002) encontró que yeguas tratadas con dispositivo intravaginal de liberación de P_4 (PRID), ovularon 10 d después de la remoción del implante. Además, existe otro dispositivo intravaginal (Cue-Mare) desarrollado inicialmente para bovinos y adaptado a yeguas. En un estudio hecho por Hanlon (2012) se encontró que las yeguas tratadas, presentaron signos de celo y ovularon en los siguientes 5 y 7 días, respectivamente; así mismo, quedaron preñadas 18 d antes que las yeguas no tratadas.

Sumado a lo anterior, la P_4 se usa como apoyo en el mantenimiento de la preñez de yeguas con historial de abortos no diagnosticados o aquellas con infertilidad después de varios servicios con semen de buena calidad (Pinto, 2011). Se ha

demostrado que la P₄ exógena es capaz de mantener la preñez en yeguas sin un CL (ovariectomizadas) o en yeguas tratadas con dosis de PGF_{2α} que ocasionan la ruptura del CL (Vanderwall, Marquardt, & Woods, 2007).

2.3.2 Uso de ultrasonografía

La ultrasonografía para examinar el tracto reproductivo en yeguas se introdujo en los años 80 (Palmer & Diancourt, 1980), para caracterizar la dinámica folicular durante la fase del estro (Ginther & Pierson, 1984), dar seguimiento a los folículos y al CL (Ginther, 2017), determinar muertes embrionarias, diagnosticar irregularidades del ovario y tracto reproductivo, y evaluar patologías uterinas (Ginther, 2017; Squires, McKinnon, & Shideler, 1988), entre otros usos.

El ultrasonido en modo B es el más usado para examinar la yegua; se basa en la formación de imágenes por medio de puntos brillantes (Pycock, 2011); se usa para medir y observar estructuras, y evaluar el estado fisiológico (Ginther & Utt, 2004). El ultrasonido Doppler es una tecnología relativamente nueva, con la cual se pueden obtener imágenes del flujo sanguíneo; algunos autores mencionan que la medición del flujo sanguíneo en la pared folicular puede ser un predictor del momento de la ovulación (Silva, Gastal, Gastal, Beg, & Ginther, 2006). El uso conjunto de los dos tipos de ultrasonido mejora la revisión del tracto reproductivo (Gastal, Gastal, & Ginther, 2006).

Así pues, el uso de la ultrasonografía es un componente fundamental en la investigación ginecológica de la yegua, no obstante, para la realización de la ultrasonografía es necesario realizar una palpación rectal previa, para eliminar materia fecal y facilitar la localización de los ovarios o estructuras a revisar (Pycock, 2011).

2.4 Literatura citada

- Ainsworth, C. G., & Hyland, J. H. (1991). Continuous infusion of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) advances the onset of oestrous cycles in thoroughbred mares on Australian studfarms. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 44, 235-240.
- Alghamdi, A. S., Foster, D. N., & Troedsson, M. H. T. (2004). Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction*, 127(5), 593-600.
- Alghamdi, A., Troedsson, M.H.T., Laschkewitsch, T., & Xue, J.L. (2001). Uterine secretion from mares with post-breeding endometritis alters sperm motion characteristics in vitro. *Theriogenology*, 55, 1019–1028
- Allen, W. R., Brown, L., Wright, M., & Wilsher, S. (2007). Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Veterinary Journal*, 39(5), 438-445.
- Allen, W. R., Sanderson, M. W., Greenwood, R. E., Ellis, D. R., Crowhurst, J. S., Simpson, D. J., & Rosedale, P. D. (1987). Induction of ovulation in anoestrous mares with a slow-release implant of a GnRH analogue (ICI 118 630). *Journal of Reproduction and Fertility*, 35, 469-478.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3), 220-228.
- Barrier-Battut, I., Le Poutre, N., Trocherie, E., Hecht, S., des Raux, A. G., Nicaise, J. L., & Renault, A. (2001). Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology*, 55(8), 1679-1695.
- Bergfelt, D. R., Mann, B. G., Schwartz, N. B., & Ginther, O. J., (1991). Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 11, 319–322.
- Bosh, K. A., Powell, D., Shelton, B., & Zent, W. (2009). Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season. *Equine Veterinary Journal*, 41(9), 883-888.
- Brinsko, S. P. (2006). Insemination doses: how low can we go? *Theriogenology*, 66(3), 543-550.
- Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Lindsey, A. C., Blanchard, T. L., Love, C. C., & Varner, D. D. (2003). Pregnancy rates in mares following hysteroscopic or transrectally-guided insemination with low sperm numbers at the utero-tubal papilla. *Theriogenology*, 59(3-4), 1001-1009.
- Cuervo-Arango, J., Aguilar, J., & Newcombe, J. R. (2009). Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. *Theriogenology*, 71(8), 1267-1275.

- Cuervo-Arango, J., Mateu-Sánchez, S., Aguilar, J. J., Nielsen, J. M., Etcharren, V., Vettorazzi, M. L., & Newcombe, J. R. (2015). The effect of the interval from PGF treatment to ovulation on embryo recovery and pregnancy rate in the mare. *Theriogenology*, 83(8), 1272-1278.
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, 69(6), 681-687.
- Donadeu, F. X., & Pedersen, H. G. (2008). Follicle development in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 224-231.
- Douglas, R. H., & Ginther, O. J. (1972). Effect of prostaglandin F2a on length of diestrus in mares. *Prostaglandins*, 2(4), 265-268.
- Douglas, R. H., & Ginther, O. J. (1975). Route of prostaglandin F2 α injection and luteolysis in mares. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 148(1), 263-269.
- Douglas, R. H., Squires, E. L., & Ginther, O. J. (1974). Induction of abortion in mares with prostaglandin F2 α . *Journal of Animal Science*, 39(2), 404-407.
- Duquesne, F., Pronost, S., Laugier, C., & Petry, S. (2007). Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction. *Research in Veterinary Science*, 82(1), 47-49.
- Espinoza-Villavicencio, J. L., Ortega-Pérez, R., Palacios-Espinosa, A., Valencia-Méndez, J., & Aréchiga-Flores, C. F. (2007). Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: una revisión. *Interciencia*, 32(2), 93-99.
- Evans, M. J., & Irvine, C. H. G. (1976). Measurement of equine follicle stimulating hormone and luteinizing hormone: response of anestrus mares to gonadotropin releasing hormone. *Biology of Reproduction*, 15(4), 477-484.
- Evans, M. J., & Irvine, C. H. G. (1977). Induction of follicular development, maturation and ovulation by gonadotropin releasing hormone administration to acyclic mares. *Biology of Reproduction*, 16(4), 452-454.
- Farquhar, V. J., McCue, P. M., Vanderwall, D. K., & Squires, E. L. (2000). Efficacy of the GnRH agonist deslorelin acetate for inducing ovulation in mares relative to age of mare and season. *Journal of Equine Veterinary Science*, 20(11), 722-725.
- Fedorka, C. E., Scoggin, K. E., Woodward, E. M., Squires, E. L., Ball, B. A., & Troedsson, M. H. T. (2017). The effect of select seminal plasma proteins on endometrial mRNA cytokine expression in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(1), 89-96.
- Fernández R., F., Hernández P., J. E., Rodríguez M., S., & Velásquez O., H. D. (2008). Fertilidad en yeguas cuarto de milla tratadas con gonadotropina

coriónica humana (hCG) utilizando semen congelado. *Revista de Salud Animal*, 30(3), 184-188.

- Fumuso, E., Giguere, S., Wade, J., Rogan, D., Videla-Dorna, I., & Bowden, R. A. (2003). Endometrial IL-1 β , IL-6 and TNF- α , mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis: effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(1-2), 31-41.
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2004). Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*, 128(4), 417-422.
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (1997). Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biology of Reproduction*, 57(6), 1320-1327.
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Ginther, O. J. (2006). Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. *Reproduction*, 131(4), 699-709.
- Gastal, E. L., Silva, L. A., Gastal, M. O., & Evans, M. J. (2006). Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Animal Reproduction Science*, 94, 186-190.
- Gentry, L. R., Thompson Jr, D. L., Gentry Jr, G. T., Davis, K. A., Godke, R. A., & Cartmill, J. A. (2002). The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2695-2703.
- Gigli, I., Russo, A., & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *Revista de Investigación Veterinaria*, 8(1), 183-204.
- Ginther, O. J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 61-79.
- Ginther, O. J. (2017). Follicle selection in mares: 90 years from observation to theory. *Journal of Equine Veterinary Science*, 54, 24-31.
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Gastal, E. L., 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. *Reproduction*, 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. *Animal Reproduction Science*, 78(3-4), 239-257.

- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., Baerwald, A. R., & Pierson, R. A. (2004). Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biology of Reproduction*, 71(4), 1195-1201.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Beg, M. A. (2008). Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones: what's new? *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(8), 454-460.
- Ginther, O. J., & Pierson, R. A. (1984). Ultrasonic anatomy of equine ovaries. *Theriogenology*, 21(3), 471-483.
- Ginther, O. J., & Utt, M. D. (2004). Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, 24(12), 516-526.
- Gerlach, T., & Aurich, J. E. (2000). Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Animal Reproduction Science*, 58(3), 197-213.
- Grimmett, J. B., Hanlon, D. W., Duirs, G. F., & Jochle, W. (2002). A new intra-vaginal progesterone-releasing device (Cue-Mare) for controlling the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, 58(2-4), 585-587.
- Grimmett, J. B., & Perkins, N. R. (2001). Human chorionic gonadotropin (hCG): the effect of dose on ovulation and pregnancy rate in Thoroughbred mares experiencing their first ovulation of the breeding season. *New Zealand Veterinary Journal*, 49(3), 88-93.
- Gutjahr, S., Paccamonti, D. L., Pycock, J. F., Taverne, M. A. M., Dieleman, S. J., & Van der Weijden, G. C. (2000). Effect of dose and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares. *Theriogenology*, 54(3), 447-456.
- Harrison, L. A., Squires, E. L., Nett, T. M., & McKinnon, A. O. (1990). Use of gonadotropin-releasing hormone for hastening ovulation in transitional mares. *Journal of Animal Science*, 68(3), 690-699.
- Heidler, B., Aurich, J. E., Pohl, W., & Aurich, C. (2004). Body weight of mares and foals, estrous cycles and plasma glucose concentration in lactating and non-lactating Lipizzaner mares. *Theriogenology*, 61(5), 883-893.
- Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L., & Spurlock, M. E. (1998). The biology of leptin: a review. *Journal of Animal Science*, 76(5), 1405-1420.
- Huff, N. K., Thompson Jr, D. L., Gentry, L. R., & Depew, C. G. (2008). Hyperleptinemia in mares: prevalence in lactating mares and effect on rebreeding success. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(10), 579-586.
- Iacono, E., Merlo, B., Rizzato, G., Mislei, B., Govoni, N., Tamanini, C., & Mari, G. (2014). Effects of repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations performed in anestrus and cyclic mares on P4 and E2 plasma levels and luteal function. *Theriogenology*, 82(2), 225-231.

- Irvine, C. H. G., McKeough, V. L., Turner, J. E., Alexander, S. L., & Taylor, T. B. (2002). Effectiveness of a two-dose regimen of prostaglandin administration in inducing luteolysis without adverse side effects in mares. *Equine Veterinary Journal*, 34(2), 191-194.
- Johnson, A. L. (1987). Gonadotropin-releasing hormone treatment induces follicular growth and ovulation in seasonally anestrous mares. *Biology of Reproduction*, 36(5), 1199-1206.
- Katila, T., Reilas, T., Nivola, K., Peltonen, T., & Virtala, A. M. (2010). A 15-year survey of reproductive efficiency of Standardbred and Finnhorse trotters in Finland-descriptive results. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 40.
- King, S. S., Douglas, B. L., Roser, J. F., Silvia, W. J., & Jones, K. L. (2010). Differential luteolytic function between the physiological breeding season, autumn transition and persistent winter cyclicity in the mare. *Animal Reproduction Science*, 117(3-4), 232-240.
- LeBlanc, M. M., & Causey, R. C. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 10-22.
- Lemes, K. M., Silva, L. A., Alonso, M. A., Celeghini, E. C. C., Pugliesi, G., Carvalho, H. F., ... & de Arruda, R. P. (2017). Follicular dynamics, ovarian vascularity and luteal development in mares with early or late postpartum ovulation. *Theriogenology*, 96, 23-30.
- Loomis, P. R., & Squires, E. L. (2005). Frozen semen management in equine breeding programs. *Theriogenology*, 64(3), 480-491.
- Love, C. C. (2011). Relationship between sperm motility, morphology and the fertility of stallions. *Theriogenology*, 76(3), 547-557.
- Love, C. C., Noble, J. K., Standridge, S. A., Bearden, C. T., Blanchard, T. L., Varner, D. D., & Cavinder, C. A. (2015). The relationship between sperm quality in cool-shipped semen and embryo recovery rate in horses. *Theriogenology*, 84(9), 1587-1593.
- Matsuda, M., & Moore, J. E. (2003). Recent advances in molecular epidemiology and detection of *Taylorella equigenitalis* associated with contagious equine metritis (CEM). *Veterinary Microbiology*, 97(1-2), 111-122.
- Miro i Roig, J., Muñoz, F., Piedrafita, J., & Quintero-Moreno, A. (2004). Prediction of the day of ovulation in mares through physiological parameters measured during estrous. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 14(1), 54-59.
- Morel, M. C. D., & Newcombe, J. R. (2008). The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Animal Reproduction Science*, 109(1-4), 189-199.

- Morel, M. D., Newcombe, J. R., & Hayward, K. (2010). Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology*, 74(7), 1241-1247.
- Morris, L. H. A., & Allen, W. R. (2002). Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Veterinary Journal*, 34(1), 51-60.
- Nagy, P., Huszenicza, G., Reiczigel, J., Juhász, J., Kulcsár, M., Abaváry, K., & Guillaume, D. (2004). Factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. *Theriogenology*, 61(2-3), 203-214.
- Nath, L. C., Anderson, G. A., & McKinnon, A. O. (2010). Reproductive efficiency of Thoroughbred and Standardbred horses in north-east Victoria. *Australian Veterinary Journal*, 88(5), 169-175.
- Neira, J. A., Ramírez, G. F., García L., S. A., & García M., D. A. (2007). Efecto de la asociación L-glutamina–Etilenglicol en la criopreservación de semen equino. *Revista de Medicina Veterinaria*, 14, 93-105.
- Nie, G. J., Goodin, A. N., Braden, T. D., & Wenzel, J. G. (2001). Luteal and clinical response following administration of dinoprost tromethamine or cloprostenol at standard intramuscular sites or at the lumbosacral acupuncture point in mares. *American Journal of Veterinary Research*, 62(8), 1285-1289.
- Newcombe, R. J. (2011). Human Corionic Gonadotropin. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). *Equine reproduction*. (pp 1914-1921) Oxford, United Kingdom. John Wiley & Sons.
- Nogueira, G. P., & Ginther, O. J. (2000). Dynamics of follicle populations and gonadotropin concentrations in fillies age two to ten months. *Equine Veterinary Journal*, 32(6), 482-488.
- Palm, F., Walter, I., Budik, S., Kolodziejek, J., Nowotny, N., & Aurich, C. (2008). Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1 β , IL-6, TNF- α and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, 70(5), 843-851.
- Palmer, E., & Driancourt, M. A. (1980). Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*, 13(3), 203-216.
- Pinto, C. R. F. (2011). Progestagens and progesterone. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). *Equine reproduction*. (pp 1914-1921) Oxford, United Kingdom: John Wiley & Sons.
- Portus, B. J., Reilas, T., & Katila, T. (2005). Effect of seminal plasma on uterine inflammation, contractility and pregnancy rates in mares. *Equine Veterinary Journal*, 37(6), 515-519.

- Pryor, P., & Tibary, A. (2005). Management of estrus in the performance mare. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4(3), 197-209.
- Pycock, F. J. (2011). Ultrasonography. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). *Equine reproduction*. (pp 1914-1921) Oxford, United Kingdom. John Wiley & Sons.
- Ramírez, G., Gutiérrez, C., & Ramos, M. (2010). Dinámica folicular en yeguas Paso Fino Colombiano medido por ultrasonografía en la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, (19), 21-35.
- Ramírez, G., López, G., & Cifuentes, E. (2006). Involución uterina en yeguas Paso Fino Colombiano medida por ultrasonografía y citología endometrial. *Revista de Medicina Veterinaria*, 11, 25-33.
- Rodríguez G., A., Bazán G., A., Rodríguez G., J., Espinoza B., J., Vásquez C., M., Lucas L., J., & Huanca L., W. (2013). Evaluación del folículo ovárico de yeguas criollas post-administración de hCG. *Revista de Investigación Veterinaria*, 24, 189-193.
- Samper, J. C., (2000). Uterine edema in the mare. In Samper, J. C. (Eds). *Equine breeding management and artificial insemination*. (pp 133-138). Philadelphia, USA: Editorial Saunders.
- Samper, J. C. (2008). Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, 70(3), 445-447.
- Samper, J. C., Jensen, S., Sergeant, J., & Estrada, A. (2002). Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. *Journal of Equine Veterinary Science*, 22(7), 320-323.
- Segabinazzi, L. G., Friso, A. M., Correal, S. B., Crespilho, A. M., Dell'Aqua Jr, J. A., Miró, J., ... & Alvarenga, M. A. (2017). Uterine clinical findings, fertility rate, leucocyte migration, and COX-2 protein levels in the endometrial tissue of susceptible mares treated with platelet-rich plasma before and after AI. *Theriogenology*, 104, 120-126.
- Sharma, S., Dhaliwal, G. S., & Dadarwal, D. (2010). Reproductive efficiency of Thoroughbred mares under Indian subtropical conditions: A retrospective survey over 7 years. *Animal Reproduction Science*, 117(3-4), 241-248.
- Sharma, S., Morel, M. D., & Dhaliwal, G. S. (2010). Factors affecting the incidence of postpartum oestrus, ovarian activity and reproductive performance in Thoroughbred mares bred at foal heat under Indian subtropical conditions. *Theriogenology*, 74(1), 90-99.
- Silva, L. A., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2006). Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. *Animal Reproduction*, 3(3), 339-346.
- Spicer, L. J. (2001). Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Domestic Animal Endocrinology*, 21(4), 251-270.

- Squires, E. L., McKinnon, A. O., & Shideler, R. K. (1988). Use of ultrasonography in reproductive management of mares. *Theriogenology*, 29(1), 55-70.
- Staempfli, S. A. (2011). Prostaglandins. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). *Equine reproduction*. (pp 1914-1921) Oxford, United Kingdom: John Wiley & Sons.
- Stewart, F., & Allen, W. R. (1995). Comparative aspects of the evolution and function of the chorionic gonadotrophins. *Reproduction in Domestic Animals*, 30(4), 231-239.
- Tazawa, S. P., Gastal, M. O., Silva, L. A., Evans, M. J., & Gastal, E. L. (2017). Preovulatory follicle dynamics, and ovulatory and endometrial responses to different doses of hCG and prediction of ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 56, 40-51.
- Troedsson, M. H. T., Alghamdi, A. S., & Mattisen, J. (2002). Equine seminal plasma protects the fertility of spermatozoa in an inflamed uterine environment. *Theriogenology*, 58(2-4), 453-456.
- Troedsson, M. H. T., Loset, K., Alghamdi, A. M., Dahms, B., & Crabo, B. G. (2001). Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Animal Reproduction Science*, 68(3-4), 273-278.
- Vanderwall, D. K., Marquardt, J. L., & Woods, G. L. (2007). Use of a compounded long-acting progesterone formulation for equine pregnancy maintenance. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27(2), 62-66.
- Watson, P. F. (2000b). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60, 481-492.
- Watson, E. D., & Al-Zi'abi, M. O. (2002). Characterization of morphology and angiogenesis in follicles of mares during spring transition and the breeding season. *Reproduction*, 124(2), 227-234.
- Watson, E. D., & Stokes, C. R. (1990). Effect of susceptibility to endometritis on specific antibody in the endometria of mares. *Theriogenology*, 34(1), 39-45.
- Watson, E. D. (2000a). Post-breeding endometritis in the mare. *Animal Reproduction Science*, 60, 221-232.
- Wespi, B., Sieme, H., Wedekind, C., & Burger, D. (2014). Exposure to stallion accelerates the onset of mares' cyclicity. *Theriogenology*, 82(2), 189-194.
- Williams, G. L., Amstalden, M., Blodgett, G. P., Ward, J. E., Unnerstall, D. A., & Quirk, K. S. (2007). Continuous administration of low-dose GnRH in mares: I. Control of persistent anovulation during the ovulatory season. *Theriogenology*, 68(1), 67-75.

3 CARACTERIZACIÓN DE LA DINÁMICA OVÁRICA, TIEMPO DE OVULACIÓN Y FERTILIDAD EN YEGUAS INSEMINADAS

3.1 Resumen

Los objetivos del presente estudio fueron caracterizar la dinámica ovárica y predecir el momento de la ovulación. Se estudió la evolución del diámetro folicular (DF) y del cuerpo lúteo durante un ciclo estral en 43 yeguas de 3 a 11 años, sin problemas reproductivos o sanitarios. El recelo y la medición del DF se realizaron cada 24 h. Aquellas con DF >38 mm se inseminaron, el diagnóstico de gestación se hizo 16 d postinseminación. Se evaluó la duración del celo (Dcelo) y ciclo estral (Dciclo); el DF al día 21 (DF21), inicio del celo (DFcelo) e inseminación artificial (DFIA); diámetro del cuerpo lúteo (DCL); y tasa de preñez (TP16). Para cada variable se determinó el modelo más adecuado; usando algunas variables como efectos en el análisis de otras, dependiendo de su relación biológica. Para determinar el modelo para TP16 se usó la herramienta árboles de decisión de R. Los análisis estadísticos se realizaron con los procedimientos MIXED y GLIMMIX de SAS. Los efectos considerados en el modelo general fueron edad y condición corporal. La edad y Dcelo resultaron significativas ($p < 0.05$); las yeguas de 9 a 11 años tuvieron los mayores Dciclo, DCL y DF, mientras que Dcelo afectó a Dciclo, DCL, DFcelo y DFIA. Además, el DFcelo y DF21 fueron covariables altamente significativas ($p < 0.01$) para Celoh, DFcelo y DFIA. El crecimiento folicular tuvo tendencia cúbica, con una reducción en la tasa de crecimiento en los días previos a la ovulación. En conclusión, la edad, el DF21 y DFcelo, son factores que ayudan a predecir la cercanía del celo. El conocimiento de la dinámica ovárica puede favorecer el correcto apareamiento en yeguas.

Palabras clave: fertilidad, tasa de crecimiento folicular, estro.¹

¹ Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Gustavo Pérez Anzúrez

Director de tesis: M.C. Constantino Romero Márquez

CHARACTERIZATION OF OVARIAN DYNAMICS, OVULATION TIME AND FERTILITY IN INSEMINATED MARES

3.2 Abstract

This study aimed to characterize ovarian dynamics and to determine ovulation time in mares. The follicle (FD) and corpus luteum diameter (DCL) were measured during an estrus cycle in 43 mares (3-11 years old, without reproductive or health issues). Mares were examined every 24 h, those with >38 mm of FD were inseminated, and day-16 gestation diagnostic was performed. The variables evaluated were: lengths of inter-ovulatory interval (LIOI) and estrus (Lestrus), FD at day 21 (FD21), at the beginning of estrus (FDestrus), and at time of artificial insemination (FDAI), corpus luteum diameter (CLD), beginning of estrus (Estrush), and pregnancy rate at day 16 (PR16). The most appropriate model was built for each variable. Some response variables were used as independent variables in the analysis of others, depending on their biological relationship. To determine the model for PR16, a decision tree tool of R program was used. The statistical analyses were carried out with MIXED and GLIMMIX procedures. The effects considered in the general model were age and body condition of the mare. Age and Lestrus were important factors; mares from 9 to 11 years had the greatest Lcycle, CLD and FDestrus ($p < 0.05$), while Lestrus affected at Lcycle, CLD, FDestrus and FDAI. Besides, FDestrus and FD21 were highly significant ($p < 0.01$) covariables for FD and CLD. Follicular development had a cubic trend, with a minor growth rate in the days near ovulation. In conclusion, age, FD21 and FDestrus help to define the closeness of ovulation. Knowledge of ovarian dynamics would help to determine the best moment for breeding in mares.

Key words: *fertility, follicular growth rate, estrus.*²

² Master of Science Thesis, Master in Livestock Innovation, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Gustavo Pérez Anzúrez

Advisor: Constantino Romero Márquez, M.C.

3.3 Introducción

En la crianza equina son importantes, aspectos como: nutrición, control de enfermedades, instalaciones, y manejo reproductivo; este último es un pilar fundamental para la crianza adecuada. La etapa reproductiva se considera una de las más importantes en la vida de las yeguas, puesto que el éxito se basa en su desempeño reproductivo (Fernández, Hernández, Rodríguez, & Velásquez, 2008).

Una de las mayores dificultades en la reproducción equina es la baja fertilidad (Iacono et al., 2014), observándose valores hasta de 20% en la tasa de preñez (Fernández et al., 2008). Esta situación se atribuye a celos silenciosos, cuerpos lúteos persistentes, quistes foliculares y lesiones en el cérvix, entre otras causas. Con el fin de reducir la incertidumbre del ciclo estral de la yegua y mejorar la fertilidad, se han desarrollado métodos como: palpación, ultrasonografía y tratamientos hormonales con gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona luteinizante (LH), hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (Barrier-Battut et al., 2001), entre otros. En este último se han obtenido resultados favorables, con tasa de ovulación hasta de 90% (Grimmett & Perkins, 2001) y tasa de preñez de 80% (Fernández et al., 2008).

La ecografía en tiempo real en equinos la utilizaron por primera vez Palmer y Driancourt (1980) para diagnosticar la gestación. Desde entonces se utiliza en numerosos estudios tanto para diagnosticar preñez, como para revisar el tracto reproductivo de la yegua (Cuervo-Arango, Aguilar, & Newcombe, 2009; Lemes et al., 2017) en apoyo a la investigación y su aplicación en unidades de crianza equina. Por otra parte, de la inseminación artificial en equinos se han estudiado aspectos como dosis adecuada (Brinsko, 2006), tiempo de inseminación (Cuervo-Arango et al., 2009), tipo de semen (Cuervo-Arango et al., 2009; Loomis & Squires, 2005) y técnica de inseminación (Brinsko et al., 2003), entre otros.

En la crianza equina la meta es obtener una cría por yegua al año. Para lograrlo, es relevante el manejo de la yegua en el período posparto, el adecuado uso del

macho, así como el momento de la inseminación (Lemes et al., 2017). Si bien la ovulación ocurre entre 24 y 48 h antes del final del celo, la variabilidad en la duración del estro impide determinar con certeza el momento preciso en que sucede (Aurich, 2011). El diámetro folicular tiene relación directa con la ovulación y la fertilidad; la ovulación ocurre cuando el folículo preovulatorio (FP) tiene un diámetro aproximado de 40 mm (Ginther, Gastal, Gastal, & Beg, 2008).

Por lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron caracterizar la dinámica ovárica en yeguas activas durante el ciclo estral, determinar las variables que ayuden a predecir la ovulación y estudiar algunos factores que influyen algunas variables del ciclo estral y el porcentaje de gestación 16 d después del servicio.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Ubicación del lugar del experimento

El experimento se realizó en el criadero caballar de la Unidad de la Policía Metropolitana Montada de la Ciudad de México (CDMX), la cual dirige la operatividad de los destacamentos a caballo de la Secretaría de Seguridad Pública de la CDMX, como apoyo a los elementos de a pie y grupos móviles. Está ubicada en la alcaldía de Iztapalapa en la CDMX, México, con coordenadas 19°22'19.4" N y 99°02'38.1" O, a 2232 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano; con 17.3 °C de temperatura media anual (1981-2010), mayo es el mes más cálido (19.7 °C), y enero el más frío (13.9 °C); la precipitación media anual es 608.2 mm (SMN, 2018).

3.4.2 Selección y alimentación de las yeguas

Se seleccionaron 43 yeguas aptas para la reproducción, con peso vivo promedio de 500 kg y condición corporal (CC) moderada (4-5, escala 1 a 5). Las yeguas estuvieron confinadas y consumieron una dieta forraje-grano con 12% PC y 2.0 Mcal EM kg⁻¹ MS y agua fresca y limpia a libre acceso. Además, fueron seleccionados cuatro sementales del criadero, en buenas condiciones, para la colecta de semen y el recelo de las yeguas.

3.4.3 Recelo y evaluación de ondas foliculares

Diariamente, entre las 7:00 y 10:00 h, se realizó el recelo de las yeguas. Se midió el diámetro de los dos folículos de mayor tamaño cada 24 h durante un ciclo estral completo, con el propósito de caracterizar el desarrollo de las ondas foliculares, establecer el diámetro del FP y determinar el momento para servir la yegua. El diámetro ideal del FP para el servicio se consideró entre 38 y 40 mm (Donadeu & Pedersen, 2008; Ginther et al., 2008).

3.4.4 Diámetro del folículo preovulatorio y cuerpo lúteo

El diámetro folicular preovulatorio se midió en cada una de las yeguas. El diámetro del CL se determinó al momento del diagnóstico de gestación (16 d post-IA); ambas mediciones se realizaron con un ultrasonido con transductor rectal de 7.5 MHz (Sunway Medical, Hand Scan V8, Malasia). Además, se midió el diámetro folicular al día 21 y al inicio del celo.

3.4.5 Extracción de semen

La colecta de semen se realizó por las mañanas, tras la revisión de las yeguas. Antes de la colección, los sementales se estimularon con la presencia de una yegua en celo; también se hicieron labores de higiene en el pene para evitar la contaminación del semen. La recolección del semen se hizo con una vagina artificial tipo Colorado, que consta de una cubierta de material plástico duro y dos camisas de látex que componen una cámara de agua, favoreciendo el mantenimiento de la temperatura. La vagina se preparó a una temperatura entre 42 y 45 °C, lubricada con gel no espermicida. En la extracción se utilizó como maniquí una yegua en celo.

Posteriormente se evaluaron las muestras de semen. Se hizo prueba de motilidad, movilidad y conteo espermático en la cámara Neubauer. De acuerdo con la calidad, volumen y concentración espermática del eyaculado, se prepararon las dosis con semen fresco de 4 mL (400 millones de espermatozoides con motilidad progresiva), las que se almacenaron a 5 °C hasta su uso.

3.4.6 Inseminación artificial

Previo a la IA se sujetó la cola y lavó la zona perianal de la yegua, para evitar la contaminación de los genitales y reducir la posibilidad de infecciones inducidas. La inseminación artificial se realizó con la técnica transvaginal usando un aplicador de semen tipo americano, flexible, con semen fresco, entre 3 y 4 d después de iniciado el celo. El aplicador se pasó a través del cérvix hasta el cuerpo del útero, dirigiéndolo con el dedo de manera suave, una vez pasado el cérvix se depositó el semen.

3.4.7 Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se hizo 16 d después de la IA con ultrasonografía en tiempo real por medio de palpación rectal, utilizando un transductor de 7.5 MHz. Treinta y cinco días después del servicio se repitió el diagnóstico para confirmar la preñez y asegurarse que no se presentara reabsorción embrionaria.

3.4.8 Variables evaluadas

En el estudio se evaluaron variables continuas y categóricas; las variables continuas fueron: duración del ciclo estral (Dciclo, d), duración del celo (Dcelo, d), diámetro del CL (DCL, mm), diámetro folicular (determinado cada 24 h del día 7 al 21; DF7-DF21, mm), tiempo que tardó en presentarse el celo después del día 21 (Celoh, h), diámetro folicular al inicio del celo (DFcelo, mm) y al momento de la inseminación (DFIA, mm), y tasa de crecimiento folicular (TC; mm d^{-1}). La variable categórica evaluada fue tasa de preñez a los 16 d (TP16).

3.4.9 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de la información primeramente se determinó el modelo más adecuado para cada variable de respuesta, considerando los aspectos biológicos de las variables en adición a aspectos estadísticos. Algunas variables de respuesta fueron consideradas como efectos fijos o covariables en el análisis de otras. Los efectos fijos considerados en el modelo inicial general fueron edad de la yegua, CC, Dciclo, Dcelo, número de folículos (NF), Celoh,

DFcelo, y DF21. El efecto de yegua se consideró como aleatorio. En los análisis preliminares se utilizó el procedimiento GLM de SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Algunos efectos principales o sus interacciones se eliminaron del modelo considerando el nivel de significancia ($p > 0.05$) y la biología de la variable de respuesta. El modelo final incluyó los efectos fijos e interacciones significativas ($p < 0.05$) o que se consideró debían estar por la relación biológica con la variable de respuesta. La edad de la yegua y su CC fueron efectos fijos que se incluyeron en el modelo para cada variable de respuesta. En los análisis para determinar el mejor modelo y en los finales para cada variable se utilizaron los procedimientos MIXED y GLIMMIX. Los criterios de información de Akaike y Bayesiano se utilizaron en la determinación del mejor modelo de análisis. Los modelos finales para cada variable analizada se muestran en el **Error! Reference source not found..** En todos los análisis se asumió una distribución normal de los datos y la función liga identidad, con excepción de TP16, para la que se asumió una distribución binomial y logit como función liga.

Cuadro 1. Modelos finales para duración del ciclo (Dciclo), duración del celo (Dcelo), diámetro del cuerpo lúteo (DCL), inicio del celo después del día 21 (Celoh), diámetro folicular al inicio del celo (DFcelo), diámetro folicular a la inseminación artificial (DFIA) y diámetro folicular del día 7 al 21 del ciclo (DF7-21).

Variable de respuesta	Edad	CC ¹	Dciclo	Dcelo	NF ²	Celoh	DFcelo	DF21
Dciclo	√ ³	√		√	√	C ⁴		
Dcelo	√	√	C		C	√		
DCL	√	√		C		C	C	
Celoh	√	√	√	√	√			C
DFcelo	√	√	C	√	√	C		C
DFIA	√	√	√	√	√			C
DF 7, 8, 9, 11-17	√	√	√					
DF 10	√	√	√			C		
DF 10, 19, 20, 21	√	√	√			C	C	

¹CC, condición corporal; ²NF, número de folículos; ³√, efecto fijo principal en el modelo; ⁴C, efecto incluido como covariable en el modelo.

El diámetro folicular (DF) se analizó por medio de medidas repetidas usando el procedimiento MIXED; el término repetido fue día de la medición (DM). El modelo se definió de manera similar que para las demás variables de respuesta e incluyó

los efectos principales edad, CC y Dciclo. Adicionalmente, se incluyeron las interacciones dobles edad×DM y Dciclo×DM. Para edad de la yegua se crearon las subclases 3 a 5, 6 a 8 y 9 a 11 años, para Dciclo las subclases fueron 19 a 23, 24 a 27 y 28 a 32 d. Esto se hizo para evitar subclases vacías o con pocas observaciones.

El crecimiento folicular fue analizado con modelos de regresión lineal, cuadrática y cúbica en SAS, utilizando aquel con mejor ajuste. Posteriormente se calculó la pendiente de la curva (TC) en los días 10, 15 y 21. Adicionalmente, se usó la herramienta de árboles de decisión del programa R (R Core Team, 2017) para determinar el mejor modelo para TP16; en un primer análisis el programa arrojó al DFIA como mejor variable para describir esta variable. En un segundo análisis se encontró DFcelo como variable que permite predecir TP16 (Figura 1). Utilizando estos resultados como preámbulo y con el apoyo de los criterios estadísticos de ajuste de AIC y BIC, se construyó el modelo para el análisis de TP16, incluyéndose DFIA como covariable y el efecto de yegua como aleatorio. El análisis se hizo con el procedimiento GLIMMIX, asumiendo una distribución binomial de la variable de respuesta y la función liga logit.

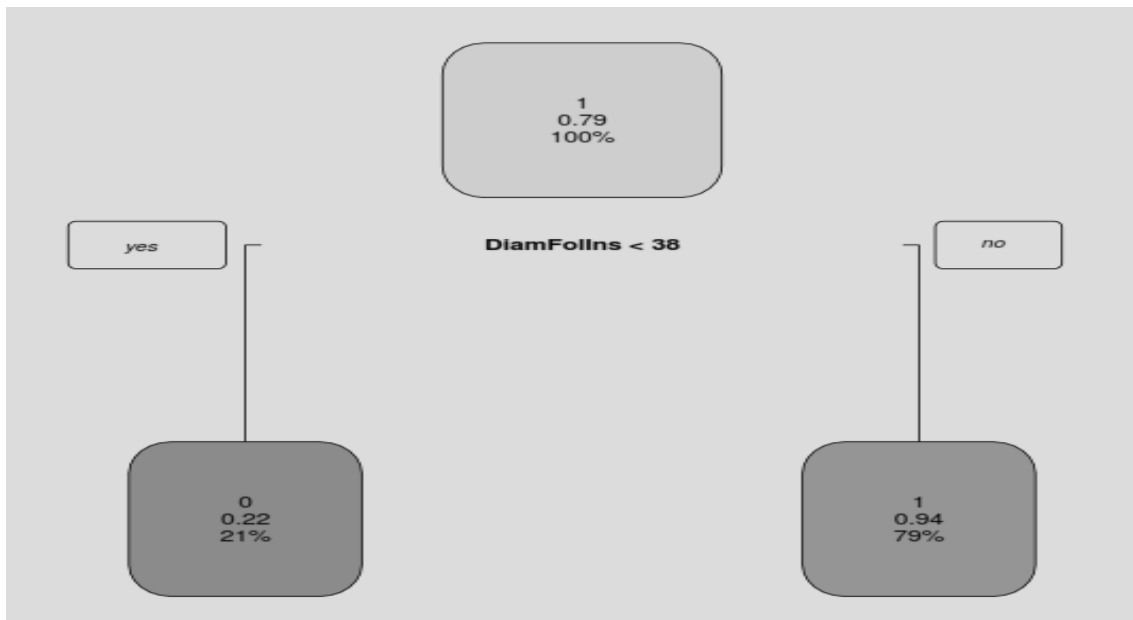


Figura 1. Árbol de decisión obtenido con el programa R, para tasa de preñez al día 16, usando el diámetro folicular a la inseminación artificial (DiamFolins) como factor.

3.5 Resultados y discusión

Las yeguas utilizadas en el experimento tuvieron los siguientes promedios (\pm desviación estándar): edad, 6.00 ± 2.30 años; CC, 4.42 ± 0.39 ; Dciclo 24.11 ± 3.02 d y Dcelo 5.67 ± 1.55 d; los DCL, DF21, DFcelo y DFIA fueron 43.07 ± 3.62 , 36.01 ± 2.43 , 37.22 ± 1.35 y 39.92 ± 2.39 mm, respectivamente. Las yeguas tardaron 9.91 ± 13.96 h en entrar en celo después del día 21. La tasa de preñez obtenida en el estudio fue 79.06% (34 yeguas preñadas/43 yeguas totales inseminadas).

3.5.1 Efecto de edad de la yegua

El efecto de la edad en la reproducción de las yeguas se ha estudiado anteriormente (Allen, Brown, Wright, & Wilsher 2007; Bosh, Powell, Shelton, & Zent 2009; Morris & Allen 2002, Nath, Anderson, & McKinnon, 2010). Estos autores observaron que yeguas viejas (>8 años) tienen menor tasa de preñez y mayor incidencia de infecciones del tracto reproductivo. De acuerdo con Ginther et al. (2008), aunque no existe una notoria senescencia reproductiva en yeguas adultas, tienen mayor Dciclo que las jóvenes, debido a la tasa de crecimiento mayor de estas últimas. En la presente investigación, además de la fertilidad, se relacionó la edad con la dinámica ovárica; las yeguas jóvenes (3 a 7 años) tuvieron menor Dciclo ($p < 0.05$) que las adultas (8 a 11 años). Así mismo, para Dcelo existieron diferencias ($p < 0.05$) entre yeguas jóvenes (6 a 8 años) con las adultas (10 años ($p < 0.05$); los valores menores son para yeguas de 9 a 11 años, aunque no se encontraron diferencias de estas últimas con las de 3 a 5 años (Figura 2).

El DCL fue mayor en yeguas de 9 a 11 años que en las de menor edad (Figura 2). Las yeguas de siete tuvieron mayor DFcelo que las de tres, cinco y seis años; por su parte, Morel, Newcombe y Hayward (2010), encontraron diferencias en el diámetro del FP entre yeguas jóvenes (2-7 años) y viejas (>19 años). Así mismo, para DF, analizada con medidas repetidas, se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.0397$) para edad. Morris y Allen (2002), y Nath, Anderson y Mckinnon (2010), mencionan que yeguas jóvenes (<13 años) presentan mayor TP que yeguas viejas (>14 años) en el diagnóstico de gestación al día 15 y que

en estas últimas la TP se reduce mayormente en diagnósticos posteriores. Sin embargo, en el presente estudio no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) de TP16 para edad, lo que fue apoyado por los resultados del análisis con árboles de decisión de R, donde no fue un factor importante y se excluyó del modelo. Lo anterior demuestra que en las yeguas utilizadas (3-11 años) la edad no fue un factor relevante.

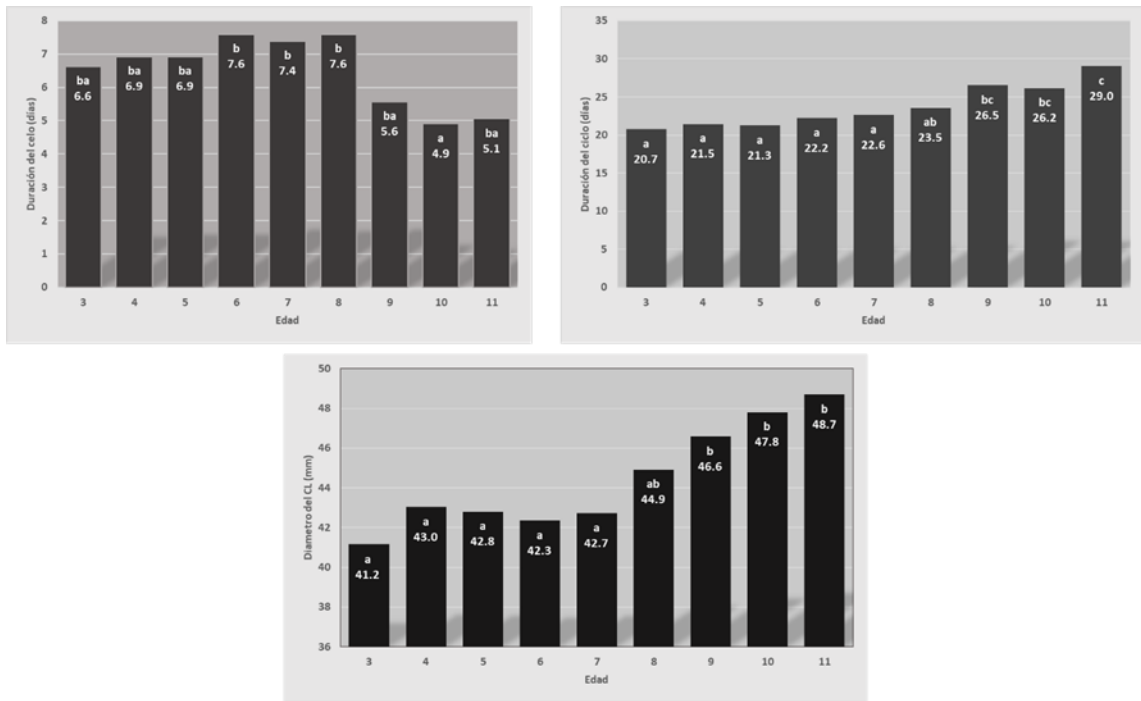


Figura 2. Efecto de la edad en la duración del celo, duración del ciclo y diámetro del cuerpo lúteo.

3.5.2 Efecto de la condición corporal

Aunque la nutrición de la yegua es un factor relevante en su reproducción, afectando a yeguas con baja y alta CC (Gentry, Thompson, Gentry Jr, Davis, Godke, & Cartmill, 2002; Huff, Thompson, Gentry, & Depew, 2008). Este efecto no fue significativo ($p>0.05$) para la mayoría de las variables analizadas en el presente estudio (Cuadro 2), afectando solamente a Dcelo que fue mayor ($p<0.05$) en yeguas con menor CC. Los resultados observados en el presente trabajo pueden atribuirse a que las yeguas de este estudio tuvieron una alimentación adecuada.

3.5.3 Duración del celo y ciclo, y diámetro del cuerpo lúteo

La Dciclo se atribuye, en gran medida, al largo del celo, tal como lo han mencionado algunos autores (Aurich, 2011; Ginther et al., 2008). Esto se confirmó en este experimento, donde Dciclo fue afectada por Dcelo y viceversa ($p \leq 0.0012$). Además, la edad fue un factor importante para estas variables ($p \leq 0.05$; Cuadro 2); la CC afectó ($p < 0.05$) a Dcelo. Algunos factores que se ha reportado que afectan a Dcelo son el DFcelo, TC y DFIA (Ginther et al., 2004); no obstante, en este trabajo esos factores no resultaron significativos ($p > 0.1$) en el análisis. Por otra parte, Lemes et al. (2017) mencionan que el principal factor que afecta a Dcelo es la dinámica folicular.

El DCL fue influido por Dcelo y DFcelo; el incremento de un día en Dcelo se asoció con un aumento de 0.97 mm en DCL ($r = 0.70$; $p < 0.001$). Lo encontrado en el presente estudio es similar a los resultados obtenidos por Ishak (2019), quien menciona que FP grandes tienen potencial para producir CL mayores y con mayor flujo sanguíneo, lo que conlleva a un mejor mantenimiento de la preñez.

Cuadro 2. Nivel de significancia de los efectos fijos principales y covariables para las variables: duración del ciclo (Dciclo), duración del celo (Dcelo), diámetro del cuerpo lúteo (DCL), tiempo en iniciar el celo después del día 21 (Celoh), diámetro folicular al celo (DFcelo), a la inseminación artificial (DFIA) y al día 21 (DF21).

Variable	Edad	CC ³	Dciclo	Dcelo	NF ⁴	Celoh	DFcelo	DF21
Dciclo	<0.0001	0.577		0.0012	0.363	0.628		
Dcelo	0.0221	0.0256	0.0012		0.282	0.333		
DCL	<0.0001	0.203		0.0005		0.129	0.0056	
Celoh	0.412	0.715	0.204	0.338	0.236			<0.0001
DFcelo	0.075	0.657	0.043	0.035	0.036	0.030		<0.0001
DFIA	0.022	0.501	0.164	0.036	0.082			<0.0001
DF21	0.348	0.524	0.344			<0.0001	<0.0001	

³CC, condición corporal; ⁴NF, número de folículos.

3.5.4 Diámetros foliculares

Cuervo-Arango y Newcombe (2008) mencionan que el diámetro del FP es influido por factores como raza, número de folículos y época del año. En el presente estudio no se registró la raza. Con respecto a los diámetros foliculares cercanos a la ovulación que se estudiaron, NF fue importante para el DFcelo ($p \leq 0.036$) y mostró cierta tendencia a serlo para DFIA ($p \leq 0.082$) pero no fue significativo su efecto sobre DF21, como puede observarse en el Cuadro 2.

Cuando el DF21 se analizó como variable de respuesta, no fue influido por la edad, ni la CC de la yegua, pero fue importante el efecto de Celoh y DFcelo; la entrada en celo se redujo 0.11 h al incrementar 1 mm el DF21 ($p < 0.001$), y el DFcelo fue 0.86 mm mayor al incrementar 1 mm el DF21 ($p < 0.001$). La edad tendió a ser significativa para DFcelo ($p = 0.075$), mientras que la CC no tuvo relevancia ($p \geq 0.657$). La Dcelo ($p \leq 0.043$) y Dciclo ($p \leq 0.035$) afectaron a DFcelo, siendo mayor en yeguas con una Dcelo mayor, y menor en aquellas con menor duración (Cuadro 2). En suma, la Celoh, fue importante para DFcelo ($p \leq 0.035$). Así mismo, el DFIA fue afectado por la Dcelo ($p \leq 0.036$), y por el DF21 ($p \leq 0.001$), asociándose un incremento de 0.76 mm de DF21 con un incremento en 1 mm en DFIA. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que hay otros factores como el control endocrino y paracrino, que afectan al diámetro del FP (Rodríguez et al., 2013) y que no fueron estudiados en este trabajo.

3.5.5 Crecimiento folicular

Aunque se ha estudiado el crecimiento folicular en yeguas (Gastal, Gastal, Beg, & Ginther, 2004), hallándose tasas de crecimiento de 2 a 3 mm d⁻¹ (Donadeu & Pedersen, 2008), no se han relacionado los diámetros foliculares de distintos momentos importantes en la dinámica ovárica, como se hizo en el presente estudio.

En la Figura 3 se muestra que el crecimiento folicular tuvo una tendencia cúbica. Las TC en el día 10 y 15 fueron de 1.89 y 1.79 mm d⁻¹. Estos resultados son menores que los reportados por otros autores (2-3 mm d⁻¹; Donadeu & Pedersen,

2008), debido posiblemente a la época del año, pues, aunque en la latitud del lugar del estudio no hay estacionalidad marcada en las yeguas, la duración del ciclo es mayor en la época de transición de invierno a primavera. No obstante, el comportamiento del crecimiento folicular es semejante al publicado por Ginther et al. (2004), quienes reportan una mayor tasa de crecimiento en la fase de crecimiento común y una menor en el momento de la diferenciación. Además, la TC se redujo en los días previos a la ovulación (1.01 mm d^{-1}), lo que concuerda con lo mencionado por Palmer y Diancourt (1980), y Tazawa, Gastal, Silva, Evans y Gastal (2017).

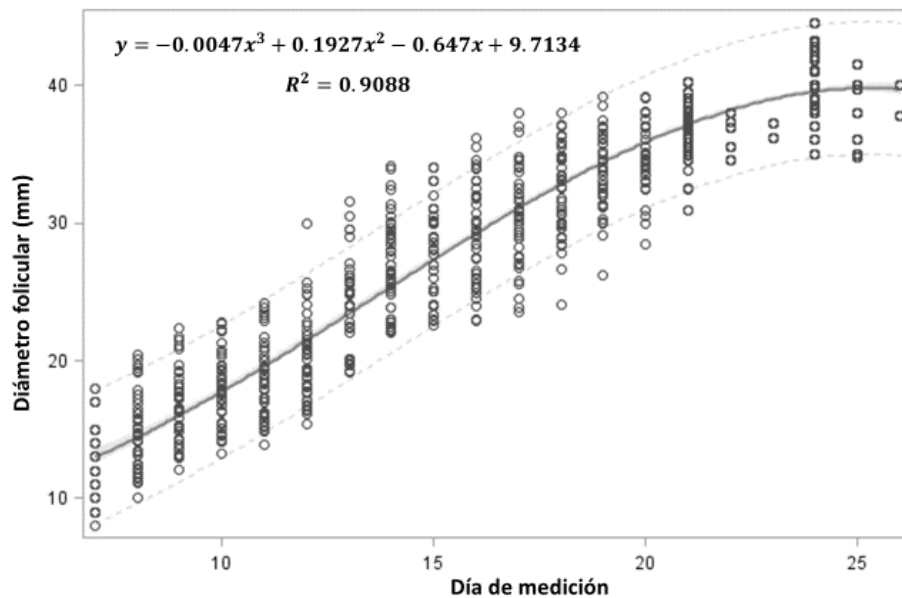


Figura 3. Curva de crecimiento folicular en yeguas, del día 7 al momento de la inseminación artificial.

El análisis del diámetro folicular con el enfoque de medidas repetidas mostró que la edad fue un factor importante ($p < 0.05$), mientras que CC no lo fue ($p > 0.05$). Adicionalmente, la Dciclo y las interacciones dobles edad x día de medición y Dciclo x día de medición fueron altamente significativos ($p < 0.01$). En el Cuadro 3 se observa que la TC promedio es mayor en yeguas de 3 a 9 años que en las de 10 o más ($p < 0.05$), lo que concuerda con lo reportado por Ginther et al. (2008), que mencionan que las yeguas adultas tienen una menor TC.

Cuadro 3. Tasa de crecimiento folicular promedio de acuerdo con la edad en yeguas inseminadas artificialmente.

Edad (años)	n	Crecimiento total (mm; día 7-IA)	Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)
3-9	39	27.8	1.6a ²
≥10	4	22.9	1.3b

²Medias con diferente letra dentro de la misma columna, son diferentes ($p < 0.05$).

En la Figura 4 se observa que las yeguas jóvenes tienen diferente curva de crecimiento folicular al compararse con yeguas adultas. Las yeguas jóvenes tienen un mayor crecimiento folicular total, es decir, a los siete días tienen un DF menor, el folículo crece más rápido y al final del ciclo tienen DF similar al de las adultas. Con esto se puede afirmar que las yeguas de diferente edad y Dciclo, presentan distinta curva de crecimiento.

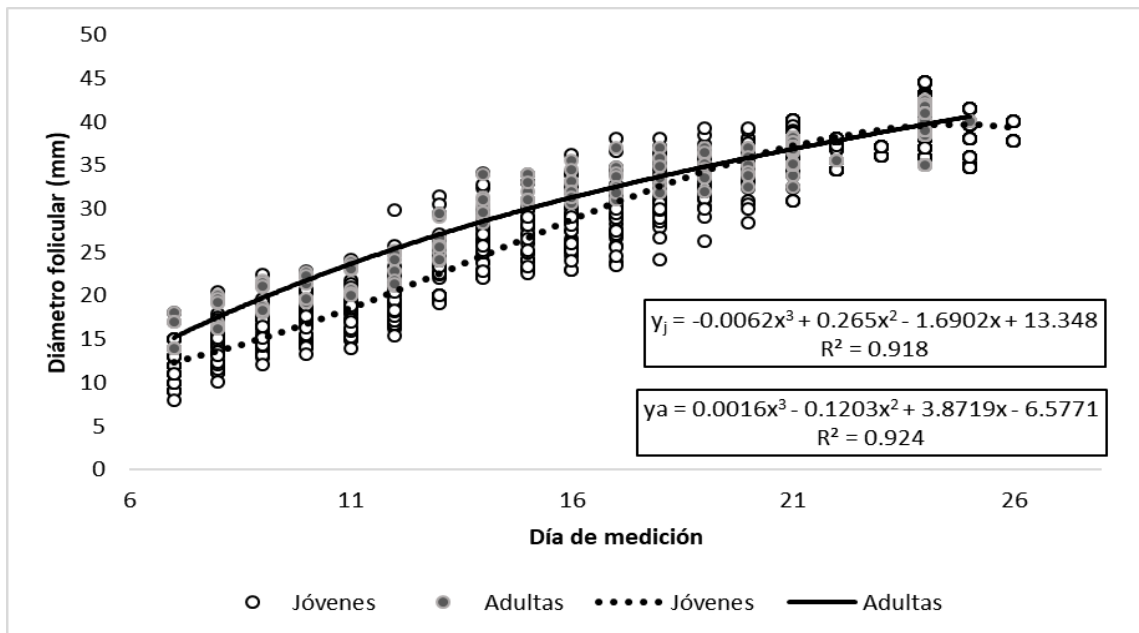


Figura 4. Curva de crecimiento folicular para yeguas jóvenes (3-9 años) y adultas (≥10 años).

3.5.6 Tasa de preñez

El análisis de los datos con la herramienta arboles de decisión de R, permitió determinar que solo DFIA y DFcelo se relacionan con la tasa de preñez en yeguas, lo que permite predecir con 94% de confianza que aquellas con DFIA mayor que 38 mm, queden preñadas; por otra parte, DFcelo mayor que 36 mm predice gestación con 86% de confianza.

Cuadro 4. Tasa de preñez de acuerdo con la edad en yeguas inseminadas artificialmente.

Edad (años)	n	Gestantes	Tasa de preñez
3-9	39	31	0.79a ^y
≥10	4	3	0.75a

^yMedias seguidas por diferente letra dentro de la misma columna, son diferentes ($p < 0.05$)

El análisis mostró que la edad y el diámetro del CL no fueron factores importantes ($p \geq 0.05$) en la TP16 de las yeguas (Cuadro 4Cuadro 5), aunque sí lo fueron DFIA y TC (Cuadro 6Cuadro 7; $p < 0.05$). Algunos estudios han demostrado que la edad es un factor importante en la fertilidad de las yeguas (Bosh et al., 2009; Katila, Reilas, Nivola, Peltonen, & Virtala, 2010; Morris & Allen 2002; Nath et al., 2010); no obstante, en el presente estudio no se alcanzaron a detectar diferencias en TP16, debido posiblemente a que no hubo un gran número de yeguas adultas, siendo la mayoría jóvenes.

Cuadro 5. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente diámetro del cuerpo lúteo (DCL).

DCL (mm)	n	Gestantes	Tasa de preñez
<42	16	13	0.81a ^x
≥42	27	21	0.78a

^xMedias seguidas por diferente letra dentro de la misma columna, son diferentes ($p < 0.05$)

Las yeguas con DFIA < 38 mm tuvieron TP16 de 0.14, mientras que aquellas con DFIA ≥ 38 mm de 0.92 (Cuadro 6); la TP16 en yeguas con TC < 1.6 mm d⁻¹ fue 0.57 y para TC ≥ 1.6 mm d⁻¹ fue 0.83 (Cuadro 7). Estos resultados concuerdan con lo hallado por otros autores, quienes mencionan que el diámetro adecuado del FP está entre 35 y 40 mm (Donadeu & Pedersen, 2008; Ginther et al., 2008).

Cuadro 6. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente diámetro del folículo a la inseminación artificial.

Diámetro folicular (mm)	n	Gestantes	Tasa de preñez
<38	7	1	0.14a ^w
≥38	36	33	0.92b

^wMedias seguidas por diferente letra dentro de la misma columna, son diferentes (p < 0.05)

Cuadro 7. Tasa de preñez en yeguas inseminadas artificialmente con diferente tasa de crecimiento folicular.

Tasa de crecimiento (mm d ⁻¹)	n	Gestantes	Tasa de preñez
<1.6	17	11	0.57a ^v
≥1.6	26	23	0.83b

^vMedias seguidas por diferente letra dentro de la misma columna, son diferentes (p < 0.05)

3.6 Conclusiones

La edad de la yegua fue un factor importante en la dinámica ovárica. Las yeguas de 3 a 7 años tuvieron menores diámetros foliculares al celo y a la inseminación artificial que las de mayor edad. Así mismo, el ciclo fue más largo en yeguas mayores de 7 años. Las correlaciones encontradas, apoyadas con la tasa de crecimiento folicular, ayudan a predecir la cercanía de la ovulación, sobre todo el diámetro folicular al momento del inicio del celo; así mismo, la medición del diámetro del folículo al inicio del celo permite determinar el tiempo que tardará en ovular la yegua y realizar la inseminación en el momento adecuado. La tasa de

preñez puede predecirse con la ayuda de los diámetros foliculares al inicio del celo y a la inseminación artificial.

3.7 Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo brindado para el correcto desarrollo de la investigación; a la Dirección General de Investigación y Posgrado, por el apoyo otorgado para la realización del proyecto; al criadero de La Policía Montada de la CDMX, por los animales y el equipo facilitado para el trabajo.

3.8 Literatura citada

- Allen, W. R., Brown, L., Wright, M., & Wilsher, S. (2007). Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Veterinary Journal*, 39(5), 438-445.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3), 220-228.
- Barrier-Battut, I., Le Poutre, N., Trocherie, E., Hecht, S., des Raux, A. G., Nicaise, J. L., & Renault, A. (2001). Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology*, 55(8), 1679-1695.
- Bosh, K. A., Powell, D., Shelton, B., & Zent, W. (2009). Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season. *Equine Veterinary Journal*, 41(9), 883-888.
- Brinsko, S. P. (2006). Insemination doses: how low can we go? *Theriogenology*, 66(3), 543-550.
- Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Lindsey, A. C., Blanchard, T. L., Love, C. C., & Varner, D. D. (2003). Pregnancy rates in mares following hysteroscopic or transrectally-guided insemination with low sperm numbers at the utero-tubal papilla. *Theriogenology*, 59(3-4), 1001-1009.
- Cuervo-Arango, J., Aguilar, J., & Newcombe, J. R. (2009). Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. *Theriogenology*, 71(8), 1267-1275.
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, 69(6), 681-687.
- Donadeu, F. X., & Pedersen, H. G. (2008). Follicle development in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 224-231.

- Fernández R., F., Hernández P., J. E., Rodríguez M., S., & Velásquez O., H. D. (2008). Fertilidad en yeguas cuarto de milla tratadas con gonadotropina coriónica humana (hCG) utilizando semen congelado. *Revista de Salud Animal*, 30(3), 184-188.
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2004). Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*, 128(4), 417-422.
- Gentry, L. R., Thompson Jr, D. L., Gentry Jr, G. T., Davis, K. A., Godke, R. A., & Cartmill, J. A. (2002). The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2695-2703.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., Baerwald, A. R., & Pierson, R. A. (2004). Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biology of Reproduction*, 71(4), 1195-1201.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Beg, M. A. (2008). Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones: what's new? *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(8), 454-460.
- Grimmett, J. B., & Perkins, N. R. (2001). Human chorionic gonadotropin (hCG): the effect of dose on ovulation and pregnancy rate in Thoroughbred mares experiencing their first ovulation of the breeding season. *New Zealand Veterinary Journal*, 49(3), 88-93.
- Huff, N. K., Thompson Jr, D. L., Gentry, L. R., & Depew, C. G. (2008). Hyperleptinemia in mares: prevalence in lactating mares and effect on rebreeding success. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(10), 579-586.
- Iacono, E., Merlo, B., Rizzato, G., Mislei, B., Govoni, N., Tamanini, C., & Mari, G. (2014). Effects of repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations performed in anestrus and cyclic mares on P4 and E2 plasma levels and luteal function. *Theriogenology*, 82(2), 225-231.
- Ishak, G. (2019). In vivo antral follicle wall biopsy: a new research technique to study ovarian function using the horse as a model. (Doctor of philosophy thesis, Southern Illinois University Carbondale, USA)
- Katila, T., Reilas, T., Nivola, K., Peltonen, T., & Virtala, A. M. (2010). A 15-year survey of reproductive efficiency of Standardbred and Finnhorse trotters in Finland-descriptive results. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 40.
- Lemes, K. M., Silva, L. A., Alonso, M. A., Celeghini, E. C. C., Pugliesi, G., Carvalho, H. F., ... & de Arruda, R. P. (2017). Follicular dynamics, ovarian vascularity and luteal development in mares with early or late postpartum ovulation. *Theriogenology*, 96, 23-30.
- Loomis, P. R., & Squires, E. L. (2005). Frozen semen management in equine breeding programs. *Theriogenology*, 64(3), 480-491.

- Morel, M. D., Newcombe, J. R., & Hayward, K. (2010). Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology*, 74(7), 1241-1247.
- Morris, L. H. A., & Allen, W. R. (2002). Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Veterinary Journal*, 34(1), 51-60.
- Nath, L. C., Anderson, G. A., & McKinnon, A. O. (2010). Reproductive efficiency of Thoroughbred and Standardbred horses in north-east Victoria. *Australian Veterinary Journal*, 88(5), 169-175.
- Palmer, E., & Driancourt, M. A. (1980). Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*, 13(3), 203-216.
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available at: <https://www.R-project.org/>. Accessed on November 12th, 2018.
- Rodríguez G., A., Bazán G., A., Rodríguez G., J., Espinoza B., J., Vásquez C., M., Lucas L., J., & Huanca L., W. (2013). Evaluación del folículo ovárico de yeguas criollas post-administración de hCG. *Revista de Investigación Veterinaria*, 24, 189-193.
- Tazawa, S. P., Gastal, M. O., Silva, L. A., Evans, M. J., & Gastal, E. L. (2017). Preovulatory follicle dynamics, and ovulatory and endometrial responses to different doses of hCG and prediction of ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 56, 40-51.
- SMN. (2018). Normales climatológicas. Servicio Meteorológico Nacional. Consultado en <http://smn.cna.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=df>.