

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**“SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO E INSEMINACIÓN  
ARTIFICIAL EN ASNAS (*Equus africanus asinus*) EN EL  
DEPARTAMENTO DE CAJAMARCA”**

# **T E S I S**

**Para optar el Título Profesional de:**

**MÉDICO VETERINARIO**

**Presentada por los Bachilleres**

**MANUEL HUATAY CASAS  
NICOLAS CASTOPE LLASAC**

**Asesores:**

**M. Cs. M.V. Manuel Antonio Arana Sevillano**

**M.V. Glover Cornejo Rodríguez**

**CAJAMARCA – PERÚ**

**2014**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**“SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO E INSEMINACIÓN  
ARTIFICIAL EN ASNAS (*Equus africanus asinus*) EN  
EL DEPARTAMENTO DE CAJAMARCA”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de  
**MÉDICO VETERINARIO**

Presentada por los Bachilleres  
**MANUEL HUATAY CASAS**  
**NICOLÁS CASTOPE LLÁSAC**

Asesores  
**M. Cs. M.V. Manuel Antonio Arana Sevillano**  
**M.V. Glover Adelino Cornejo Rodríguez**

**Cajamarca- Perú**  
**2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA**  
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**DECANATO**

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

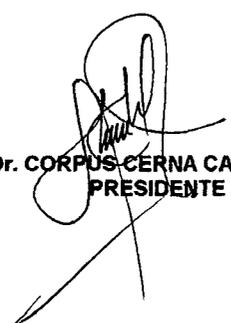
En Cajamarca, siendo las dieciséis horas y trece minutos del día veinticinco de setiembre del dos mil siete, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “César Bazán Vásquez” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada “**SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ASNAS (*Equus africanus asinus*) EN EL DEPARTAMENTO DE CAJAMARCA**”, presentada por los Bachilleres en Medicina Veterinaria: **Nicolás Castope Llásac y Manuel Huatay Casas**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

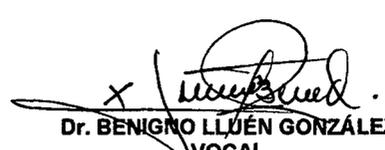
Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de las deliberaciones correspondientes el Jurado Calificador, acordó: **APROBAR POR UNANIMIDAD** la sustentación de la Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**.

Siendo las diecisiete horas con cincuenta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

  
Dr. CORPUS CERNA CABRERA  
PRESIDENTE

  
Dr. JOSÉ RAUNELLI SANDER  
SECRETARIO

  
Dr. BENIGNO LLUÉN GONZÁLEZ  
VOCAL

## DEDICATORIA

A Dios, Creador del Universo,  
quien con su infinito amor  
hace posible todas las cosas.

A mí madre de quien siempre recibo  
amor, constantes cuidados y atenciones plenas.  
Permítanme dedicarles este modesto trabajo, como muestra de mi cariño  
sincero.

A todos mis hermanos.

A mis amigos.

***El autor***

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a los Médicos Veterinarios Manuel Ntonio Arana Sevillano y Glover Adelino Cornejo Rodríguez, directores de este trabajo. Por sus múltiples enseñanzas, buenos consejos, muestras de confianza y aliento, e incontable tiempo dedicado en nuestra formación, y por todas las dificultades que han soportado durante estos años que pasamos juntos.

Al M.V. Manuel Arana, que depositó su confianza desde los lejanos años del 2002, prestándome todo el apoyo que me ha sido necesario durante estos años, y para quien no encuentro palabras de gratitud y agradecimiento por su colaboración en el presente trabajo de investigación. Al M.V. Glover Cornejo, que pacientemente me ha soportado durante estos años, apoyándome siempre, que ha sido necesario para llevar a cabo la presente tesis.

Al Dr. Pedro Ortiz y la M.V. María Cabrera, del Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias; por el apoyo brindado en la realización de los análisis de semen fresco de los potros, lo que nos permitió realizar y llevar a cabo la fase experimental de la presente investigación.

Al personal técnico de la Facultad de Ciencias Veterinarias, por atender nuestras innumerables peticiones sin reservas.

A mi Perú, país que me concedió la vida a pesar de que muy poco hago por él durante estos cortos años de vida.

A mis hermanos, quienes me inspiraron para desarrollarme y convertirme en un ser humano de bien, y dejarles un ejemplo de lo que la vida nos depara.

A Todas aquellas personas que de una u otra forma han contribuido a la consecución de esta tesis.

***El autor***

## RESUMEN

Esta investigación sobre sincronización del estro e inseminación artificial en asnas (*Equus africanus asinus*), se realizó en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, con la finalidad de evaluar su tasa de fertilidad. Se utilizó prostaglandina efe dos alfa (PGF2 $\alpha$ ) para la sincronización del estro, y Hormona Coriónica Humana (HCG) para inducir la ovulación. En ambos casos la vía de aplicación fue intramuscular. El semen, para la inseminación artificial, fue obtenido de un potro. Se trabajó en 16 asnas aptas para la reproducción (provenientes de la provincia de Contumazá), con edades entre 4,0 y 4,6 años y un peso vivo entre 196,00 y 278,75 Kg. Los tratamientos experimentales fueron T<sub>1</sub>=PGF2 $\alpha$  y T<sub>2</sub>=PGF2 $\alpha$ +HCG, con dos y tres inseminaciones en ambos tratamientos. La aparición del estro varió entre 54 y 84 horas post tratamiento. La tasa de fertilidad se incrementa desde el 25% en las asnas del T<sub>1</sub> con dos inseminaciones y hasta el 100% en las asnas del T<sub>2</sub> con tres inseminaciones.

**Palabras clave:** Fertilidad en asnas, prostaglandinas, inseminación artificial.

## ABSTRACT

This research on estrus synchronization and artificial insemination in asses (*Equus africanus asinus*), was held at the Faculty of Veterinary Science, National University of Cajamarca, in order to assess their fertility. We used two alpha efe prostaglandin (PGF<sub>2</sub>α) for synchronization of estrus, and hormone Human Chorionic (HCG) to induce ovulation. In both cases the application was intramuscular route. Semen for artificial insemination was obtained from a foal. Worked on 16 donkeys suitable for reproduction (from the province of Contumazá), aged 4.0 to 4.6 years and a body weight between 196.00 and 278.75 Kg. The experimental treatments were T<sub>1</sub>=PGF<sub>2</sub>α y T<sub>2</sub>=PGF<sub>2</sub>α+HCG, with two and three inseminations in both treatments. The onset of estrus varied between 54 and 84 hours post treatment. The fertility rate is increased from 25% in the asses of T<sub>1</sub> with two inseminations, up to 100% in the asses of T<sub>2</sub> with three inseminations.

**Keywords:** Fertility asses, prostaglandins, artificial insemination.

## ÍNDICE

DEDICATORIA  
AGRADECIMIENTO  
RESUMEN  
ABSTRACT

**Pág.**

### **CAPÍTULO I**

INTRODUCCIÓN

01

Objetivos

05

### **CAPÍTULO II**

MARCO TEÓRICO

06

### **CAPÍTULO III**

MATERIALES Y MÉTODOS

57

### **CAPÍTULO IV**

RESULTADOS

65

### **CAPÍTULO V**

DISCUSIÓN

89

### **CAPÍTULO VI**

CONCLUSIONES

100

<b>CAPÍTULO VII</b>	
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO</b>	<b>105</b>

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Los animales han desarrollado estrategias de reproducción estacional que aseguren que las crías nazcan en el momento apropiado del año. En los equinos, como en muchas otras especies, el ritmo circanual de reproducción es regulado por las variaciones del fotoperiodo. Esta señal ambiental se traduce en una señal endocrina a nivel de la glándula pineal, secretando melatonina durante la fase oscura del día. En la yegua, los días decrecientes se asocian a una disminución de la secreción de gonadotropinas y de la actividad ovulatoria. El mecanismo por el que las gonadotropinas, y probablemente la secreción de GnRH, disminuyen durante el período de inactividad ovulatoria estacional, no es bien conocido en la yegua. Es posible que la ausencia de la actividad cíclica sea resultado de la falta de señales estimulantes, por ejemplo: días cortos, condiciones climáticas y alimenticias desfavorables, la ausencia del semental que estimule la secreción GnRH y gonadotropinas. En la yegua, el ritmo de reproducción circanual endógeno parece ser sincronizado, por las variaciones estacionales del fotoperiodo, al invierno y al verano. La yegua es poliéstrica estacional, con el inicio de la estación de reproducción en primavera ligada al aumento en la duración del día, la temperatura y la disponibilidad de alimento. La estación de reproducción sucede entonces de abril a septiembre en el hemisferio Norte (Hughes y col., 1975).

Arbitrariamente, se ha establecido como la fecha oficial de nacimiento para los potros el uno de enero en el hemisferio norte, y un periodo de reproducción oficial de febrero a junio. Como resultado, la edad oficial es la misma para todos los potros que nacen durante la estación. Esto genera una

presión económica para que los criadores de caballos reproduzcan sus yeguas lo más temprano en el año y tener una ventaja de edad fisiológica sobre los potros nacidos más tarde. Los potros que nacen al inicio del año presentan ventajas y se realizan mejor que los potros que nacen después (Langlois y Blouin, 2004).

Esta normatividad ha estimulado la investigación para entender los mecanismos de la estacionalidad reproductiva y desarrollar métodos para adelantar el inicio, cada vez más temprano, de la estación de reproducción. Se ha demostrado que el fotoperiodo artificial, simulando días largos, puede utilizarse para avanzar la fecha de la primera ovulación (Palmer y Guillaume, 1992).

Estos estudios han aumentado la comprensión de los mecanismos y las limitaciones de este regulador importante en la función reproductiva estacional y se han desarrollado métodos más eficaces usando luz artificial. A pesar de la efectividad de la fotoestimulación, para inducir la actividad ovulatoria cíclica, este método requiere que se inicie en diciembre y existe además una variación en el intervalo de inicio de la fotoestimulación a la primera ovulación. La mayoría de las yeguas, en las zonas templadas, presenta el periodo de reposo sexual de octubre a mayo. Este periodo de inactividad ovulatoria es más frecuente y más largo en las yeguas de dos a tres años y en las yeguas adultas (Palmer y Guillaume, 1992).

En la explotación agrícola y ganadera existe un renglón muy importante, la posibilidad económica de producir híbridos equinos, que tienen menos exigencias forrajeras y mayor rusticidad, cuya demanda en el mercado es muy grande en todas las regiones del Perú, especialmente en la zona alta de la cordillera andina, así como en la selva. En algunas regiones del Perú, al mulo también se designa con el nombre de macho. Cuando proviene de la fecundación de la asna por el potro, se dice "burdégano" o "romo", agregando la palabra macho o hembra, para diferenciar el sexo (Luna de la Puente, 1986).

La sincronización del celo en hembras, juega un papel muy importante en la reproducción, por la cual los animales según su especie dan origen a otros seres, permitiendo la perpetuación de la misma. La sincronización del celo se encuentra dentro de la hormonoterapia reproductiva que actúa sobre el control del estro en conjugación con la inseminación artificial y la estimulación de la contractibilidad del útero. Donde la estacionalidad reproductiva ha sido retenida en muchas razas de equinos (Malpaux y col., 1988).

La técnica de sincronización del celo en equinos, consiste en el tratamiento de dos secuencias de prostaglandina efe dos alfa ( $PGF_{2\alpha}$ ) administrada por vía parenteral no importando en qué momento del ciclo se encuentre la hembra. Posteriormente se administra la hormona coriónica humana (HCG) y luego se realiza la inseminación sin ser necesaria la detección del celo (Palmer y Guillaume, 1992).

Las prostaglandinas son lípidos denominados hormonas, son secretados por una glándula, liberados a la sangre y actúan cerca del lugar de síntesis; no siendo trasladadas por la circulación sanguínea. Por lo que, en equinos la sincronización puede ser una medida muy utilizada si se practica la inseminación artificial, donde los animales presentan frecuentes anestros por persistencia de cuerpo lúteo. Estos animales reaccionan muy bien frente al tratamiento con prostaglandinas, manifestando celo a los 3-6 días post aplicación (Jaffe, 2003).

La difusión de la sincronización de celo e inseminación artificial está ligada al desarrollo de los medios de dilución y conservación de semen. El éxito de la inseminación depende, en gran medida, del desarrollo de diluyentes satisfactorios de semen. Un eyaculado de semen de potro, de acuerdo a su volumen, puede ser utilizado por lo menos en cinco inseminaciones; favoreciendo significativamente su capacidad aplicativa. Los adelantos científicos en el campo de la reproducción equina en las últimas décadas han

permitido la obtención de híbridos equinos, mediante el uso de prostaglandinas, con las que se sincroniza el celo para luego ser servidas, ya que siguiendo el método tradicional, en la actualidad es difícil obtener y mantener un potro que sirva a la asna (Arana, 1987).

El Perú cuenta con una población total de 1 113 576 equinos, entre asnos e híbridos, los que se encuentran mayormente distribuidos en la región de la sierra, con un 77,7% de la población total de esta especie. En el Departamento de Cajamarca, y en especial en sus provincias, con difícil acceso a su comunidades por la falta de carreteras o trochas carrozables, se ha visto la imperiosa necesidad de proveer de estos animales a los agricultores y ganaderos, ya que la explotación del ganado asnal presenta diversos problemas para su mejoramiento. Una de ellas es la limitada información científica ya que se han encontrado estudios sobre sincronización e inseminación en animales domésticos: como en vacas, yeguas y ovejas, pero sobre sincronización e inseminación artificial en asnas, todavía no se han encontrado algún tipo de estudio (Arana, 1987).

En la actualidad la densidad demográfica, la urbanización, los avances tecnológicos, incremento de máquinas motorizadas, han ido quitándole espacio e interés a los equinos, sin embargo, en las zonas alto andinas y en la selva; por su gran capacidad de carga (150 Kg) para el transporte, por ser un animal rústico, dócil en su comportamiento, menos exigente en su alimentación y adaptarse airesamente a los climas más diversos de nuestra región; son preferidos para las explotaciones agrícolas, comerciales y forestales en terrenos duros, rocoso y accidentados, en donde no se cuenta con vías carrozables los equinos conservan su valor, favoreciendo ampliamente el comercio y las actividades agropecuarias cotidianas, demostrándose así su importancia social y económica en la población que no tiene acceso al transporte carrozable (Arana, 1987).

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la tasa de fertilidad en asnas (*Equus africanus asinus*), utilizando sincronización del estro e inseminación artificial.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de la Prostaglandina efe dos alfa ( $PGF_{2\alpha}$ ) en la sincronización del estro en asnas y la Hormona coriónica humana (HCG) en la ovulación de las mismas.
2. Evaluar el semen fresco de potro (*Equus caballus*).
3. Evaluar la eficacia de la inseminación artificial con semen fresco de potro (*Equus caballus*) en asnas (*Equus africanus asinus*).
4. Determinar la tasa de preñez en asnas (*Equus africanus asinus*), sometidas a sincronización de celo y servidas con inseminación artificial.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. ÓRGANOS SEXUALES DE LA ASNA**

Los ovarios de la hembras equinas tienen forma de alubia, su tamaño varía mucho en distintos sujetos, normalmente son mayores en los animales jóvenes que en viejos, un ovario es a menudo mayor que el otro, miden aproximadamente de 7 a 8 cm de longitud y de 3 a 4 cm de grosor, el peso es de 70 a 80 gramos. Los ovarios están situados y localizados debajo de la cuarta o quinta vértebra lumbar. Están en contacto con la pared lumbar del abdomen. La distancia promedio del orificio vulvar al ovario es aproximadamente de 50 a 55 cm en la yegua de talla mediana. La mayor parte de la superficie del ovario está cubierta por el peritoneo. El ovario está encerrado en una parte del ligamento ancho llamado mes ovario. La fosa de ovulación está cubierta por una capa de células poligonales cortas.

Las trompas uterinas o de Falopio son conductos excretores de los ovarios, pues conducen los óvulos desde las glándulas de la reproducción hasta el útero. Son 2 tubos flexuosos de 20 a 30 cm de longitud.

El útero es un órgano muscular hueco, que se continúa por delante con las trompas uterinas y se abre por detrás con la vagina. Situado principalmente en la cavidad abdominal, pero se extiende una corta

distancia en el interior de la cavidad pelviana. El cuello del útero o cervix es la porción estrecha posterior que se une con la vagina y mide de 5 a 7,5 cm de longitud y de 3,5 a 4 cm de diámetro.

La vagina es el canal que se extiende horizontalmente a través de la cavidad pelviana desde el cuello del útero hasta la vulva. Es tubular y mide de 15 a 20 cm de longitud.

La vulva es la porción terminal del tracto genital femenino, se continúa por delante con la vagina, y está provista de glándulas sebáceas y sudoríparas. (Sisson y Grossman, 1974).

## **2.2. ÓRGANOS SEXUALES DEL POTRO**

Los testículos del potro están situados en la región inguinal, encerrados en un divertículo del abdomen llamado escroto. Un testículo de tamaño medio de un potro adulto mide aproximadamente de 10 a 12 cm de largo y de 6 a 7 cm de altura y su ancho de 5 cm, pesa aproximadamente de 225 a 300 g. Los testículos son de tamaño desigual, siendo a menudo mayor el izquierdo.

El conducto deferente se extiende desde la cola del epidídimo hasta la porción pelviana de la uretra. Las vesículas seminales son dos sacos periformes que se hallan a cada lado de la parte posterior de la cara dorsal de la vejiga. La Próstata es una glándula lobulada que va sobre el cuello de la vejiga y al principio de la uretra, por debajo del recto. Las glándulas bulbo uretrales son en número de dos y están situadas a cada lado de la porción pelviana de la uretra, muy cerca del arco isquiático.

El pene, órgano musculoso de la cópula, está compuesto especialmente de tejido eréctil y comprende la porción pelviana de la uretra. El pene tiene como músculos al isquiocavernoso (músculo par, corto y fuerte) y el retractor del pene, que es un músculo formado por la continuación de los ligamentos suspensores del ano.

El prepucio, llamado vulgarmente "vaina", es una doble invaginación de la piel, que contiene y cubre la porción libre, o pre escrotal del pene, cuando no está en erección (Sisson y Grossman, 1974).

### **2.3. CICLO SEXUAL DE LAS ASNAS**

El ciclo sexual u ovárico que se presentan con carácter rítmico desde el fin del invierno, durante toda la primavera y buena parte del verano, se ve interrumpido cuando el animal queda preñado. Pues en este caso, desde el primer momento cesa la evolución ovárica. La actividad ovárica, con las dos funciones de excretora e incretora, afecta a todo el tracto genital, ovarios, matriz, cuello del útero, vagina, etc., culminando en esta manifestación del orden genésico o instinto sexual (líbido hacia el macho), que recibe el nombre de calores o celo. El ciclo sexual de la asna, es un conjunto de fases que pasan los ovarios y demás órganos genitales. Suele durar tres semanas, por lo común. Los límites mínimos y máximos son de trece a treintaicinco días; pero estas hembras escapan de la normalidad y cuesta mucho fecundarlas. La actividad sexual de las hembras equinas va seguida de periodos de duración generalmente precisa, separados por otros de absoluto reposo (inter estrus) de duración variable (Pérez y Pérez, 1976).

Las hembras equinas domésticas son animales considerados poliéstricos estacionales. Las hembras que residen en un ambiente tropical y subtropical bien protegidas de temperaturas elevadas, no se advierte

estación reproductiva definida y en general tienden a reproducirse durante todo el año. Puede considerarse que la asna se encuentra en un periodo de transición entre animal reproductor estacional y no estacional. Se considera el primer día del estro como la iniciación del ciclo estral (Mc. Donald, 1976).

El fotoperiodo ambiental es el principal estímulo desencadenante de la actividad sexual estacionaria de las yeguas y asnas. La duración de las horas luz durante el día, influyen en los equinos como en la mayoría de los animales, quienes poseen lo que se ha denominado reloj biológico. La exposición a catorce o dieciséis horas de luz, ponen en marcha el reloj biológico para la actividad de los días largos. Las yeguas y asnas anéstricas, pueden ser inducidas a ciclar agregando 2,5 horas de luz artificial, luego de la puesta del sol y no antes de la caída del mismo (Sharp y col., 1992).

### **2.3.1. ESTRO Y OVULACIÓN**

El estro está definido como el periodo en que la hembra presenta una conducta de receptividad sexual frente al macho, también recibe el nombre de "celo" o "calor", y el animal se encuentra muy excitado. Se produce a causa del incremento de estrógenos sanguíneos provenientes de la célula de la teca interna de los folículos maduros, desarrollados en el ovario. Por lo tanto, cuando las concentraciones de estrógenos están elevadas, en ausencia de concentraciones altas de progesterona, se produce el comportamiento de celo. El estro es la fase del ciclo sexual más importante y dura, en el caso de las yeguas de cinco a siete días, y en asnas, según estudios realizados, un promedio de  $7,9 \pm 2,6$  días.

En cuanto a la ovulación en yeguas, esta se produce unos dos días antes del final del estro, cualquiera que sea la duración de este; es decir el momento de la ovulación guarda relación más estrecha con el final que con el inicio del estro. El óvulo no maduro está rodeado de células foliculares que están formando el estrato granuloso. En yeguas viejas, los ovarios están en gran parte formados por tejido fibroso, los óvulos existentes en un número enorme en el momento del nacimiento, son después expulsados o destruidos por acción fagocítica o por degeneración. (Sorrensen, 1983).

La fertilidad para el caso de yeguas va en aumento paulatino hasta llegar a su punto culminante unos dos días, aproximadamente, antes de la terminación del estro, y luego cae verticalmente hasta el último día. La ruptura folicular por lo regular sucede en la segunda mitad del celo, perteneciendo el porcentaje más elevado entre las veinticuatro y cuarentiocho horas antes de finalizar el celo. En asnas, con respecto a los folículos, estos aumentan de tamaño generalmente cerca de 5 mm de diámetro por día, previa a la ovulación.

Las yeguas que pesan entre 400 y 550 Kg, a menudo ovulan folículos que han alcanzado de 45 a 60 mm de diámetro, mientras que yeguas más pequeñas, que pesan entre 250 a 350 Kg ovulan folículos más pequeños, de 35 a 40 mm de diámetro. (Sorrensen, 1983).

El diámetro promedio, de folículos ovulatorios, determinado en asnas fue de  $36,7 \pm 3,6$ mm, con un rango que varía de 28,5 a 46 mm. La proximidad de la ovulación puede detectarse por medio de la palpación rectal, apreciándose un reblandecimiento

del folículo antes de su ruptura, aunque esto no es determinante. Es posible que las yeguas muestren dolor en el sitio del folículo recientemente ovulado, probablemente asociado con un cambio brusco en la tensión del peritoneo parietal que rodea la fosa de ovulación. La mayoría de las ovulaciones parecen ocurrir durante el final de la tarde. Después de la ovulación disminuye notablemente el volumen del ovario, y este se pone blando y flácido. Los cuerpos lúteos en vías de desarrollo no son fáciles de determinar por medio del examen rectal después de cuarentiocho horas, puesto que se desarrollan dentro del estroma ovárico. (Sorrensen, 1983).

### **2.3.2. CUERPO LÚTEO Y PROGESTERONA**

El aumento prolongado de la hormona luteínica (LH), que causa la ovulación, también estimula a las células de la granulosa para que se transformen en células luteínicas, que invaden y proliferan en el coágulo producido en la cavidad folicular, luego de la ovulación, para formar el cuerpo hemorrágico. Esta estructura tiene un color rojo oscuro en su parte central, y en sus bordes está rodeado de un tejido luteal pálido e invasor, desde la periferia al centro. El cuerpo hemorrágico de uno ó dos días después de la ovulación, comienza a producir progesterona y cuando la concentración en sangre de esta hormona alcanza un nivel superior a 1 ó 2 ng/ml, se inicia el diestro y termina el comportamiento asociado al celo.

Estudios realizados en yeguas reportan que las concentraciones de progesterona fueron más bajas desde  $1,75 \pm 0,88$  días antes de los comportamientos de celo, hasta un día después de la ovulación (Sorrensen, 1983).

Durante el diestro los niveles alcanzan alta concentración entre los días 4 y 14 después de la ovulación y descienden hasta los niveles correspondientes al estro en un lapso de dos días. La progesterona fue mayor a 2 ng/ ml por un periodo de 15,7 días (rango de 13 a 20 días). En yeguas la concentración de progesterona va aumentando paulatinamente, alcanzando su máximo nivel el día seis y estabilizándose en una meseta (Hughes y col.,1975).

A medida que aumenta el cuerpo lúteo, el coagulo sanguíneo va siendo reemplazado por las células luteínicas, lo que provoca la disminución de su tamaño y el cambio de color; que se vuelve más pálido. El cuerpo lúteo del día 4 a 5, tiene una consistencia blanda, esponjosa y elástica, y es un poco más pequeño que el folículo que lo originó. También su superficie es irregular, lo que lo diferencia de la superficie de un folículo maduro, que es lisa y redondeada. El cuerpo lúteo entre los días 6 y 10, puede ser palpado por vía rectal, siempre que se efectúen exámenes regulares, para registrar su ubicación y tamaño en el ovario. Entre los días 8 y 10, el cuerpo lúteo se ha contraído, hundiéndose en el estroma ovárico, produciendo, al tacto, una sensación de firmeza esponjosa (Sorrensen, 1983).

El diámetro principal del cuerpo lúteo encontrado en yeguas, durante el primer día después de la ovulación, fue de  $28,53 \pm 4,94$  mm, o sea 77% del tamaño del folículo pre ovulatorio. El tamaño del cuerpo lúteo disminuye rápidamente después del día catorce; junto con los niveles plasmáticos de progesterona.

El cuerpo lúteo maduro continúa produciendo progesterona a altas concentraciones (8 a 10 ng/ml), hasta aproximadamente el día 14

a 15 del ciclo. A partir de este momento el cuerpo lúteo comienza su luteólisis en respuesta a la  $\text{PGF2 } \alpha$ , que se libera desde el endometrio uterino (Hughes y col., 1975).

La progesterona disminuye rápidamente de 1 a 2 días, a menos de 1 ng/ml, y la yegua retorna nuevamente a las manifestaciones del celo, siempre y cuando exista un desarrollo folicular adecuado. El cuerpo lúteo rápidamente involuciona y se transforma en el corpus albicans, alrededor del día 16 a 18 del ciclo. El cuerpo no puede ser palpado y en el estroma ovárico aparece con un color castaño pardo o anaranjado (Sorrensen, 1983).

### **2.3.3. INFLUENCIA DE LA ESTACIÓN SOBRE LA CICLICIDAD OVÁRICA**

Tradicionalmente las yeguas en ambos hemisferios son denominadas como "poliéstricas estacionales". La duración de la exposición a las horas luz es un factor primordial que controla esta actividad ovárica estacional. Los periodos de luz prolongados, tal como sucede en el verano (15 a 16 horas) estimulan la actividad ovárica, mientras que los periodos de luz cortos (9 a 10 horas) inhiben esta actividad (Malpoux y col., 1988).

A las yeguas se les puede clasificar en dos categorías:

a. Con temporada de apareamiento bien definida.

Las razas equinas salvajes, manifiestan varios estros durante una limitada temporada de apareamiento que coincide con los días más largos del año.

b. Con temporada transitoria de apareamiento.

Algunas razas domésticas e individualmente algunas yeguas manifiestan ciclos estrales durante todo el año, pero la ovulación no acompaña al estro más que durante la temporada de apareamiento, y los potrillos nacen durante una temporada limitada de partos. (Malpaux y col., 1988).

Trabajos realizados en la Universidad Nacional Agraria la Molina - Perú, en asnas, en la temporada de no apareamiento, se determinó una duración de  $166 \pm 63,2$  días, con un rango variable entre 74 y 26,3 días. Periodos de celo no ovulatorios muy irregulares con duración de  $1,8 \pm 1,9$  días; con rango entre 1 y 8 días. Intervalos entre celos no ovulatorios de  $6,5 \pm 6,7$  días, con rangos que varían entre 1 y 22 días; los cuales fueron muy variables. También se observó un efecto del año en la ocurrencia de celos no ovulatorios. La mayoría de asnas mostraron celos no ovulatorios al final del año, que en la temporada del año anterior. La ovulación de folículos que aparentemente no luteinizaron, como se indicaron por falta de un cuerpo lúteo resiente a la palpación rectal y/o persistencia de un comportamiento externo de celo, fue encontrado cuatro veces en tres asnas (Arana, 1987).

De cuatro asnas que permanecieron acíclicas por todo el año, tres mostraron signos irregulares de celo. Fueron encontrados folículos de hasta 2 cm de diámetro, en todas las asnas, en todo el periodo, pero folículos de un tamaño apropiado para ovular que van 3 a 4 cm, y que permanecen en los ovarios por largo tiempo antes de regresionar fueron encontrados en dos asnas hasta enero, y en otras dos asnas durante casi todo el periodo. No se determinó porque los folículos con tamaños apropiados para ovular no lo hicieron, presumiblemente por falta de un estímulo final. Ovulación

silenciosa fue detectada sólo una vez en 3 asnas, y 2 veces en una asna. La falta de actividad ovario cíclica no puede ser relacionada a la edad o raza (Arana, 1987).

### **2.3.3.1. EN LA TEMPORADA DE APAREAMIENTO**

La primera ovulación de la temporada ocurrió entre agosto y noviembre, y la última entre febrero y abril. La duración de la temporada se estimó en  $197,8 \pm 63,4$  días, con rango variable entre 102 y 291 días. La duración promedio del ciclo estral se estimó en  $25,9 \pm 2,7$  días, con rango de 20 a 40 días Berliner y col. (1983) y Vandeplassche y col. (1981); lo cual son algo más largos que los encontrados por Nishikawa y col. (1949), en los que reporta  $22,8 \pm 0,1$  días. El ciclo estral en asnas es claramente más largo que el promedio de muchos reportes en yeguas, siendo en promedio  $21,7 \pm 3,5$  días (Ginther, 1992).

La duración del estro fue de  $7,9 \pm 2,6$  días, con un rango de 4 a 22 días. Los estros tendieron a ser más largos al inicio (primavera) y al final (otoño) de la temporada de apareamiento, comparada con los meses de verano. Similares resultados han sido hallados para yeguas (Ginther, 1992).

El diestro tuvo una duración de  $18,2 \pm 2,4$  días, con un rango de 14 a 30 días. La duración del diestro no fue afectada por la duración del año. Estudios realizados en yeguas (Hughes y col., 1972) arrojaron similar resultados, 51,4 % de las ovulaciones fueron detectadas el último día del estro, el 22,4% a un día, el 5,1% a 2 días, el 3,9% a 3

días y el 1,3% a días antes del fin del estro. La ocurrencia de la ovulación cerca del final del estro está de acuerdo con lo reportado en asnas (Nishikawa y col., 1949; Vandeplassche y col., 1981), y en yeguas (Hughes y col., 1972 y Ginther, 1992). Las ovulaciones fueron más frecuentes en el ovario izquierdo (61%) que en el derecho (39%) así como en equinos (Ginther 1979). Existe una mayor diferencia en la ovulación del ovario izquierdo en asnas (Ginther, 1992).

#### **2.3.4. VARIACIONES EN EL CICLO ESTRAL NORMAL**

Además del anestro invernal y del ciclo estral prolongado, observados durante el periodo transaccional, durante el ciclo estral de la estación reproductiva, también suceden otras variaciones fisiológicas. Las ovulaciones múltiples son consideradas indeseables debido a la posibilidad de producir fetos gemelos, lo que aumenta la posibilidad de abortos en la yegua. Los datos logrados mediante la palpación rectal indican una frecuencia de ovulación múltiples de aproximadamente 24 a 26% (Hughes y col., 1972; Hancock, 1984). De estas casi el 99% eran dobles y menos del 1% triple o cuádruples (Ginther, 1992).

Estudios realizados en yeguas en lo que se indujo la super ovulación obtuvieron como máximo un promedio de 2,4 óvulos. En los equinos se da un mayor porcentaje de ovulaciones dobles, ya sea natural o artificialmente inducidas. (Ginther, 1992).

En asnas, se encontró un índice de ovulaciones simples, dobles, triples y cuádruples respectivamente por lo tanto se podría

sugerir que esta ocurrencia se de más en algunos individuos, como lo reportado para yeguas (Huhes,1972). La raza también podría ser un factor determinante en la ocurrencia de ovulación múltiples en yeguas; pero esto toda vía no ha sido estudiado en asnas (Ginther, 1992).

En un estudio realizado en asnas se determino que los niveles máximos de progesterona durante el diestro fueron influenciados por el número de ovulaciones. Las concentraciones de progesterona con 1, 2 y 4 ovulaciones fueron 15,6; 37,0 y 51,4 ng/ml, respectivamente (Ginther, 1992).

En yeguas, las concentraciones de progesterona producida por los cuerpos lúteos de ovulaciones múltiples, generalmente no aumenta hasta después de la última ovulación. La concentración plasmática de la progesterona tampoco difiere por la producida por un cuerpo lúteo, cuyos valores máximos varían entre 8 y 11 ng /ml (Ginther, 1992).

Se refiere un 2% de 3 estros silenciosos con ovulación, un 5,4% de subestros caracterizados por la presencia de algunos signos del estro en baja intensidad, con una duración de 1 a 3 días, seguido por una ovulación, aproximadamente en el tiempo esperado. Estos comportamientos irregulares también han sido encontrados en otros estudios para asnas (Nishkawa y col., 1949) y para yeguas (Hughes y col., 1975 y Ginther, 1992), hallándose para yeguas una incidencia de estros silenciosos de 1 y 2% (Henry y col., 1987). Estros con ovulación fueron encontrados con una incidencia del 3%, pero no se descarta la posibilidad de que, por haberse realizado las palpaciones

réctales cada 24 horas, haya ocurrido una ovulación no detectada (Ginther, 1992).

#### **2.4. DURACIÓN DEL CELO Y SIGNOS CLÍNICOS**

El estro en las asnas españolas son de 6 días en promedio, y la maduración sexual o pubertad aparece de 16 a 20 meses, mientras que en la especie caballar es más temprano, de 12 a 18 meses (Torrent, 1954). Al citar a diversos autores, tales como: Hemmond y Sonder admiten la duración de 3 a 15 días con una media de 6. Van Oenttingen, admite la duración de 6 a 7 días. Hommond indica que en los años fríos el estro se prolonga en las hembras equinas de 10 a 15 días, notándose que al llegar a los meses cálidos, aquel se reduce a unos 5 días. El autor termina mencionando que, son muchas las observaciones llevadas a este respecto, pero resulta difícil llegar a una conclusión categórica, ya que es aventurado precisar el comienzo del estro (Pérez y Pérez, 1976).

La duración del celo es largo y variable y ofrece problemas tanto para la monta como para la inseminación. Casi el 75% de los celos que se extienden en Europa es de 8 a 10 días, importante es saber que el celo en las áreas templadas, esta en relación con las estaciones del año. La duración del celo va en disminución desde comienzos de la primavera hasta el verano, mientras más corto sea el celo, mayores son las posibilidades de gestación. Entre los signos externos de celo, en la asna, destacan las micciones frecuentes con movimientos de los labios vulvares y erección del clítoris "masticación en ausencia de alimentos", sobre todo en presencia de otro animal y más si es macho. Durante estos movimientos masticatorios la hembra abre mucho la boca y la deja abierta durante cierto tiempo. Como signos secundarios presenta encorvamiento frecuente del dorso, descenso de la cabeza, con inclinación muy profunda y las orejas hacia el cuello y elevación de la cola (Simón, 1981).

## 2.5. OVULACIÓN

En las asnas observadas por Philips y Andrews, la ovulación tuvo lugar del 1 al 11 día del celo, con una media de 5 días. Aitken considera que en los celos de 4 a 11 días, la ovulación tendrá lugar en el penúltimo día, cuando aquel dura 7 días. En equinos, Ganz demostró que cuando los celos duran 5 días, las ovulaciones se presentan en el 58% al tercer día, el 33% al cuarto día y sólo el 15% en el segundo día. Krat, mencionado por Pérez, divide a las yeguas en 3 grupos: hembras con celo de 3 días de duración y que presentan ovulación al primer día del mismo. Yeguas con periodos de celos normales (3-5 días) que tienen ovulaciones del tercero al quinto día, y yeguas con celo prolongado (más de 6 días de duración) en las que las ovulaciones tienen lugar al sexto, octavo y noveno días, según los casos. Day, también mencionado por Pérez, afirma que la ovulación doble, frecuente en la especie equina, puede acompañarse de estro prolongado, si la maduración de los folículos se produce con una cierta separación de tiempo. Esta puede durar de 1 a 3 días, hasta más de 10 días (Pérez y Pérez, 1976).

Pareciera que la honda de la LH está directamente asociada con la maduración final del folículo pre ovulatorio y el inicio de la ovulación. El proceso ovulatorio involucra un complejo de interacciones de la LH con la prostaglandina y enzimas proteolíticas. Por lo general, los folículos aumentan de tamaño cerca de 5 mm de diámetro por día, previo a la ovulación de las yeguas que pesan entre 400 a 500 Kg. A menudo ovulan folículos que miden de 4 a 6 mm de diámetro. La yegua y la asna solamente ovulan a través de la fosa de ovulación, la cual se aproxima a las fimbrias del oviducto y se extiende cubriendo la fosa de ovulación para permitir la entrada del ovocito. La proximidad de la ovulación puede determinarse por medio de la palpación rectal, apreciándose un reblandecimiento del folículo antes de su ruptura. La ecografía es utilizada también para detectar la ovulación, para lo cual se introduce el transductor rectal colocándolo en la pared del recto sobre

el ovario. El tipo de onda del ecógrafo nos va a dar un estimado del tamaño del folículo, como también de la ovulación (Cerna y col., 1995).

## 2.6. HORMONAS

La primera hormona glucoprotéica identificada fue la HCG en 1927 por Aschheim y Zandek en la orina de la mujer, produciéndose primero por los ovarios y después por la placenta. Ellos afirmaron que la orina de mujeres embarazadas tenía propiedades gonadotrópicas. Su producción es estimulada por la GnRH de la placenta. Se sintetiza también en el cerebro (Sorrensen, 1983).

En la década de 1960 se logró aislar e identificar la estructura de esta hormona. El peso molecular se calcula que ésta entre 36000- 40000 Daltons y sus propiedades inmunológicas y biológicas son similares a las de la hormona luteinizante hipofisaria (LH) ya que 97 de sus 145 aminoácidos son similares. Una tercera parte aproximadamente de su peso molecular es de carbohidratos que poseen un peso de 36700 daltons y punto isoeléctrico. Se sintetiza en ribosomas de la membrana del sincitio trofoblástico, por mecanismos de traducción y es introducida en el Retículo Endoplasmático Rugoso. El sincitio es el principal regulador de transporte y sitio de síntesis de hormonas placentarias. Presenta dos subunidades (alfa y beta) con unión no covalente. En el primer trimestre de gestación, el ARNm sintetiza 6 veces más subunidad alfa que beta, mientras que una vez superadas las 37 semanas de amenorrea, elabora 8 veces menos cantidad de subunidad alfa y cantidades mínimas de subunidad beta. La disponibilidad ilimitada de cadena beta explica también la disminución de la HCG circundante, junto con el aumento de la ración alfa libre después del primer trimestre de embarazo. Por el contrario, la HGC libre no se encuentra normalmente, o se detecta en concentraciones muy bajas en el suero

de la embarazada. El predominio de las subunidades alfa y beta es una característica no solo de la placenta sino también de la hipófisis. Además de las subunidades alfa y beta propias de la HGC, la placenta puede tener un precursor o una protohormona de la subunidad alfa, que se ha encontrado en extractos obtenidos en el segundo trimestre, con un peso molecular mayor que el normal. Un aspecto que hay que destacar es la identificación de factores de liberación de la LH (LH-RH) y de la tirotropia placentaria que plantea la posibilidad de que estas sustancias sean otro mecanismo de control de biosíntesis de HGC. En la orina, las subunidades alfa y beta están presentes en concentraciones elevadas, junto con la HGC completa. La mayor parte de la HGC purificada es heterogénea, tanto en su contenido de hidratos de carbono como secreciones de aminoácidos, hecho que se piensa que esté en relación con ciertas proteínas presentes en sangre y en la orina. La subunidad alfa es idéntica a LH, FSH, y TSH, esta cadena contiene 92 aminoácidos y un peso molecular de 1600 daltons.

La subunidad beta es la que proporciona especificidad para cada hormona. Es la responsable de las propiedades biológicas de la hormona. Tiene un peso molecular de 22200 daltons y 145 aminoácidos, contiene 30 aminoácidos adicionales en la secuencia de su carbono terminal, ricos en prolina. Los 28 a 30 aminoácidos terminales en el extremo carboxilo de la subunidad beta de HCG no se encuentra en ninguna otra subunidad beta de glucoproteínas. (Bogdan, 1985).

Utilizando la subunidad beta para radioinmunovaloración (RIA) de HCG se han descubierto niveles mensurables de HCG en fase temprana como 8 días después de la concepción, que aumenta con rapidez hasta alcanzar su máximo en el primer trimestre de embarazo y puede contribuir a provocar náuseas y vómitos que suelen estar asociados al embarazo; después desciende. No se observa en sangre materna antes

de la implantación, sino uno o dos días después (10 días después de la ovulación). Por lo tanto, empleando RIA sensible para la subunidad beta se descubren valores de HCG poco después de la implantación del blastocisto. La síntesis máxima de HCG por la célula se logra entre las 4 a 10 semanas de gestación hasta 80 días después de la fertilización. En esta última semana el pico es de 25 a 50 mg/24h. Desde la semana 10 a la 18 de embarazo los niveles séricos de HCG comienzan a disminuir con lentitud, y al final del segundo trimestre se observa una caída de su concentración (en un 90%) y no se recupera a lo largo del embarazo; con el consiguiente descenso en la última mitad del embarazo. Los niveles se mantienen en 1mg/24h, este último nivel se mantiene durante el resto del embarazo (Bogdan, 1985).

Específicamente en la primera parte del embarazo, los valores plasmáticos de HGC aumentan rápidamente con un tiempo de duplicación de 1,7 a 2 días y alcanzan una concentración sérica de aproximadamente 100 mUI/ml al cabo de unos 16 días de gestación. Los valores plasmáticos de HCG varían entre 70000 y 200000 mUI/ml entre los días 40 y 90 del embarazo, pero caen hasta una meseta de 20000 mUI/ml.

La Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) es la "hormona propia del embarazo", encargada de mantener al cuerpo lúteo produciendo progesterona luego de haberse logrado la concepción. Los niveles, de esta hormona en particular, presentes en la orina de las mujeres son medidos y analizados por la mayoría de las pruebas de embarazo caseras, a fin de determinar si la mujer que se estuviera realizando dicha prueba estaría embarazada o no. Los incrementos en los niveles de la hormona HCG contribuyen significativamente en la exacerbación de los síntomas propios del embarazo, especialmente en las náuseas matinales. Los análisis de sangre realizados por su doctor de cabecera para controlar los niveles de esta hormona presentes en su torrente

sanguíneo, son mucho más sensibles y arrojan resultados más precisos que los arrojados por las pruebas de embarazo caseras y, a la vez, podrían ser capaces de detectar si usted estuviera embarazada diez días después de la fecha de fertilización del óvulo, habiendo sido éste el momento preciso de la concepción (Bogdan, 1985).

Su acción biológica más importante es la de estimulación de la esteroidogénesis del cuerpo amarillo del embarazo. En mujeres con ciclos normales, la administración exógena de HGC, empezando poco después de iniciada la ovulación, prolongará la fase luteínica. Está confirmada la idea de que pequeñas cantidades de HGC, que se descubre al comienzo del embarazo, son necesarias para conservar el cuerpo amarillo temprano y evitar el inicio del siguiente periodo menstrual; manteniendo así la fase secretora del endometrio, imprescindible para la nutrición del embrión durante las primeras etapas del desarrollo. Asegura la estimulación continua del cuerpo amarillo hasta que la placenta comienza a producir progesterona. El cuerpo amarillo humano posee receptores específicos de gran afinidad para la HGC. También se ha demostrado que induce la síntesis de esteroides en la unidad feto-placentaria.

Ville y col., demostraron que la HGC aumenta la conversión de colesterol en pregnenolona y progesterona. Así como estimula la hidroxilación de esteroides C19 por la placenta favoreciendo la síntesis de dihidroepiandrosterona por la suprarrenal fetal. En estado purificado tiene una acción biológica indistinguible de la acción de la hormona luteinizante hipofisaria (LH) (Bogdan, 1985).

Otras acciones biológicas de la HCG también dependen de sus propiedades litotróficas. La HCG provoca luteinización de células ováricas foliculares e intersticiales, estimulación de células de Leydig,

ya que la ausencia, hipoplasia o falta de respuesta de células de Leydig a la HCG-LH da como resultado una deficiente producción de testosterona, y en consecuencia, pseudo hermafroditismo masculino, debido a la carencia de actividad del receptor HGC-LH. Esta pequeña cantidad de testosterona durante el embarazo es determinante para que el feto desarrolle sus órganos sexuales, así como interviene en el descenso de los testículos al final del embarazo. En cuanto al desarrollo ovárico, tiene acción de tipo de la FSH en un menor papel. Clínicamente se utiliza para provocar la liberación del huevo después de tratamiento con gonadotropina menopausica humana y para conservar la función luteínica en pacientes con fase luteínica inadecuada. Además para tratar la falta de formación de testosterona en niños (Bogdan, 1985).

Se ha descubierto cierto papel inmunológico de la HCG, ya que se ha demostrado que inhibe la respuesta linfocitaria a la fibrohematoglutina, por lo que no se rechaza el blastocisto implantado. Administra actores nutricionales, estimula cantidades necesarias de otras hormonas y así mantiene en óptimas condiciones al endometrio y a la cavidad uterina. Su aumento da lugar a que el endometrio continúe su crecimiento y almacene grandes cantidades de nutrientes adicionales en lugar de perderlos en forma de liquido. Bajo su influencia, el cuerpo lúteo crece y alcanza el doble del tamaño inicial, con un diámetro de 5 cm, y gracias a su secreción continua de estrógenos y progesterona se mantiene el carácter decidual del endometrio uterino.

La HCG es un marcador tumoral en diferentes padecimientos neoplásicos en la mujer y en el hombre. Estimula la síntesis de esteroides por la unidad feto-placentaria de la siguiente forma:

- La transformación del colesterol a pregnenolona y P.
- La hidroxilación de esteroides precursores de la placenta.

- La síntesis de deshidroepiandrosterona por la suprarrenal fetal.
- La secreción de testosterona por los testículos fetales (Bogdan, 1985)

### 2.6.1. PROSTAGLANDINAS

#### GENERALIDADES

Las prostaglandinas (PG) constituyen un grupo de compuestos químicos derivados de ácidos grasos, cuyo núcleo está formado por un anillo pentagonal (ciclo pentano) provisto de dos cadenas laterales y de 6 a 8 átomos de carbono. Aunque se les conoce desde 1930, la mayor parte de la información sobre las prostaglandinas proviene de las dos últimas décadas y continúan causando gran interés debido a que se encuentran en casi todos los tejidos y líquidos corporales, figurando entre los principales autocoides que participan en muchos mecanismos de regulación del fisiologismo en el hombre y en los animales (Virgil, 1983).

Los autocoides, descritos por algunos como hormonas locales, agentes auto farmacológico, etc., son compuestos de intensa actividad, que están presentes normalmente en el organismo o pueden formarse en él, pero que al igual que otros miembros del grupo no pueden clasificarse como neuro humores u hormonas. En este sentido, el término autacoide (del griego autos = mismo, y akos = agente medicinal o remedio) rectifica el de hormona (del griego hormacin = excitar) que no sirve para las sustancias inhibitoras que también llegaron a incluirse en esta definición. Los principales autocoides son: Histamina, serotonina, angiotensina, bradiquinina, calidicina y prostaglandinas (Goodman y Gilman, 2007).

Las prostaglandinas son lípidos denominados hormonas debido a que, de manera similar a los esteroides, son sintetizadas y secretadas por una glándula y liberadas a la sangre para su transporte a otras partes del cuerpo donde ejercen un efecto. Sin embargo, ellas no son guardadas en depósitos, actúan cerca al lugar de síntesis y no son trasladadas mayormente por la circulación sanguínea. Su metabolismo ocurre localmente. El hígado, bazo y la placenta la inactivan rápidamente. Se encuentra tromboxano y prostaciclina en tejido uterino, pero son uterotónicos débiles. Las prostaciclina son potentes vasodilatadores sintetizadas por vasos sanguíneos en mayor cantidad que PGE2. Se conoce que la PGF2 es más importante en mantener el ductus arteriosus fetal abierto que la PGE2. Se encuentra que la PGF2  $\alpha$  y la PGE2 y los metabolitos de prostaglandinas aumentan inmensamente en el líquido amniótico y en sangre en el trabajo de parto. En el feto de carnero, Liggins demostró que el aumento del cortisol fetal disminuye la progesterona placentaria y aumenta el estrógeno placentario; el aumento de estrógeno incrementa, la producción de prostaglandinas, que inician y mantienen el trabajo de parto. Sin embargo, esto no ha podido ser reproducido en el humano, con la excepción del incremento de prostaglandinas y sus metabolitos en el parto, las que sabemos producen contracciones uterinas. Se considera que, en el embarazo a término, las membranas de los lisosomas se rompen y se libera fosfolipasa A2, la que actúa sobre los fosfolípidos de las membranas fetales, la decidua y, probablemente el miometrio. Se libera Acido araquidónico que es convertido en PGF2  $\alpha$  y PGE2, las que inician las contracciones uterinas. La hipoxia causada a nivel celular uterina ocasiona mayor disrupción de lisosomas y liberación de fosfolipasa A2. La progesterona estabilizaría las membranas lisosómicas y la

aspirina y la indometacina disminuyen la conversión de ácido araquidónico a prostaglandinas, al inhibir la enzima ciclooxigenasa.

Las células deciduales contienen un factor que inhibe la liberación de HCG de las células trofoblásticas, lo que sugiere que la secreción de HCG trofoblástica está bajo control endocrino, regulado en parte por una proteína producida por las células deciduales (Goodman y Gilman, 2007).

Se ha mencionado también que las prostaglandinas actúan principalmente como moduladores locales intracelulares de efectos hormonales, ocupando una posición intermedia entre las hormonas y los mediadores intracelulares de las mismas. Se sabe que estos compuestos poseen efectos sobre el sistema cardiovascular y la sangre, aparato respiratorio, aparato digestivo, aparato urogenital, descarga neuronal, inflamación, actividad del músculo liso y además actúan como reguladores de algunos efectos hormonales (Lab. Hoechst, 1981).

En el campo de las Ciencias Veterinarias, el interés sobre las prostaglandinas está sin duda referido preferentemente a su aplicación en el campo de la reproducción animal. Así mismo, en razón de que algunas prostaglandinas están implicadas en el mecanismo del dolor, se siguen encontrando nuevos productos que inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas, se suman en calidad de antiinflamatorios y analgésicos a productos tales como el ácido acetilsalicílico, la indometacina y el ácido mefenámico, entre otros fármacos de uso actual en la Medicina Humana y en la Medicina Veterinaria (Goodman y Gilman, 2007).

El conocimiento de las prostaglandinas se inicia con las observaciones realizadas por los ginecólogos norteamericanos Kurzkrok y Lieb en 1930 que el semen humano contenía una sustancia que afectaba la actividad contráctil de tiras de útero humano, estimulando, o inhibiendo dicha actividad (Goodman y Gilman, 2007).

Las prostaglandinas en el semen humano tienen una concentración 100 veces mayor que en cualquier otro líquido o tejido, y en realidad si no fuese por esta concentración alta en el líquido seminal, las prostaglandinas aún estarían por descubrirse (Lab. Upjohn, 1982).

En 1934, Goldblatt, en Inglaterra, y Ulf von Euler, en Suecia, en forma independiente, comunicaron que el compuesto aislado del líquido seminal y glándulas accesorias de la reproducción en animales, era capaz de contraer el músculo liso y tenía propiedades neuro depresoras y anti hipertensivas. Von Euler había estado trabajando en Inglaterra con Henry Dale en neurotransmisores adrenérgicos y, junto con J. H. Gaddum habían descubierto otros productos naturales (sustancia P). Una vez en Suecia, von Euler continuó investigando la presencia de adrenalina en diferentes tejidos animales, especialmente en órganos sexuales; observó que los extractos de próstata y de vesículas seminales producían fuerte contracción del músculo liso del Intestino, disminuían la presión arterial y provocaban la contracción del músculo uterino, y que dichas propiedades no podían ser atribuidas a otras sustancias conocidas en esa época, como la acetilcolina, histamina, sustancia P, derivados de adenina, pépticos hipofisarios o catecolaminas. Al estudiar su estructura química, descubrió que se trataba de una nueva

sustancia, un ácido lipídico polar con una larga cadena hidroxilada. Euler Identificó este compuesto como un ácido liposoluble, termolábil a 100 °C, especialmente en medio alcalino, dializable y soluble en alcohol absoluto. Más tarde caracterizó dos sustancias, a las que denominó: Prostaglandina (PG) y vesiglandina (Chiesa y Petersen, 1983; Horton, 1979).

En 1957, Sune Bergström, discípulo de von Euler, y Sjövall habían aislado las formas puras o cristalinas de dos prostaglandinas: E1 (PGE1) y F1 (PGF1), lo que condujo a la dilucidación de sus estructuras químicas por Bergstrom y Samuelson, en 1962.

La unidad estructural básica de las prostaglandinas está formada por ácido carboxílico instaurado de 20 carbonos con un anillo de 5 carbonos (Goodman y Gilman, 2007).

Posteriormente se aislaron otras prostaglandinas con semejante estructura que las anteriores, tales como la PG2 y PG3 en el semen humano; PGF2 $\alpha$  en el tejido pulmonar, aunque ya había sido preparada químicamente a partir de PG2; la PGA y la PGB fueron obtenidas de la PGE (Chiesa y Petersen, 1983).

Conocida la estructura general de las prostaglandinas y su afinidad con los ácidos grasos esenciales, Bergström y col., y Van Dorp, concretaron en forma independiente la síntesis de la PGE2 a partir de ácido araquidónico usando homogenizados de vesícula seminal de carnero, lo que permitió que los primeros años de la década de los 70 sirvieran para perfeccionar y encontrar nuevos métodos de síntesis de prostaglandinas (Goodman y Gilman, 2007).

En 1973, se aisló e Identificó dos endoperóxidos cíclicos inestables, la prostaglandina G2 (PGG2 o 15-OOH PGH2) y la prostaglandina H2 (PGH2), que según Samuelsson, pueden transformarse en tromboxanos y, que además, poseen una actividad biológica similar a éstos. El tromboxano A (TXA2) es un compuesto inestable responsable de la agregación plaquetaria y acciones vaso constrictoras, y su producto de degradación es el tromboxano B2 (TXB2) (Chiesa y Petersen, 1983; Goodman y Gilman, 2007).

En 1971, John Vane y colaboradores encontraron que el mecanismo de acción de las drogas antiinflamatorias no esteroides consistía en el bloqueo de la síntesis y liberación de prostaglandinas y que la actividad de dichos agentes estaba relacionada con este poder inhibidor (Chiesa y Petersen, 1983).

En 1976, un equipo de investigación de la Wellcome Foundation en Inglaterra, dirigido por el Dr. Vane, entre cuyos miembros figuraba S. Moncada, descubrió un derivado de las prostaglandinas que se llamó PGX o prostaciclina, o más recientemente, PGI2, que se produce en las paredes vasculares y que tiene propiedades vasodilatadoras e inhibidoras de la agregación plaquetaria (Chiesa y Petersen, 1983).

Últimamente se han descubierto a los leucotrienos (LT), nombre debido a su descubrimiento inicial en los leucocitos, dentro de los que destacan el compuesto 5,12-dihidroxi (LTB4) que tiene potentes propiedades quimiotácticas, y un derivado 5-hidroxi que se conjuga con glutathion (LTC4). El último es uno de los componentes de la "sustancia de reacción lenta de la anafilaxia" (SRS-A). Se cree que los leucotrienos tienen importantes

funciones como mediadores de la inflamación (Goodman y Gilman, 2007).

En lo que concierne a la práctica en el campo veterinario, gracias al aporte de la Química Sintética y de la Biotecnología, hoy se cuenta con varias prostaglandinas y análogos, cuyo uso casi exclusivo se encuadra dentro de la hormonoterapia reproductiva, que incluye la acción lúteolítica sobre el cuerpo amarillo o cuerpo lúteo (CL) y su aplicación en el control del estro, en conjunción con la inseminación artificial (IA) y la transferencia embrionaria (TE), la estimulación del transporte del semen en el tracto genital de la hembra, la estimulación de la contractilidad del útero en el parto, la contractilidad de los vasos umbilicales tras el parto. Además constituyen un arma muy útil en la terapéutica del anestro por cuerpo lúteo persistente, estro silente y en ciertas afecciones del útero, entre otras aplicaciones (Goodman y Gilman, 2007).

### **ACCIONES FARMACOLÓGICAS**

Las prostaglandinas una vez administradas a los animales y al hombre, cumplen variadas actividades farmacológicas que pueden resumirse de la siguiente manera:

- Inhibir o estimular la contracción del músculo liso.
- Inhibir la liberación de noradrenalina o regular sus efectos a nivel de lugares neuroefectores (receptores).
- Activar los "segundos mensajeros intracelulares" (AMP, GMP, etc.), produciendo distintos efectos según el sistema activado (Chiesa y Petersen, 1983).

## **EFFECTOS FARMACOLÓGICOS**

Conviene hacer notar el hecho de que la conversión artificial de una PG a otra, así como la síntesis de compuestos análogos, obliga a nuevas revisiones sobre la participación o influencia de dichos compuestos en los procesos fisiológicos y/o fisiopatológicos. Además, los datos correspondientes a una especie animal pueden no ser aplicables a otras debido a la variabilidad por especie en cuanto a las respuestas frente a las diferentes sustancias prostaglandínicas por parte del organismo.

### **Efectos Sobre el Sistema Reproductor**

#### **PGE1, PGE2:**

Inhiben la motilidad y tono del útero no gestante, y los incrementan en el útero gestante.

#### **PGF2 $\alpha$ y análogos:**

Incrementan la motilidad del útero no gestante y gestante. Estimulan la esteroidogénesis in vitro en el cuerpo lúteo, pero inducen la luteólisis in vivo. Inducen al aborto. Incrementan la motilidad tubal y espermática.

### **Efectos sobre el Sistema Cardiovascular y Sangre**

#### **PGE1, PGE2:**

En casi todas las especies son potentes vasodilatadores (inyectadas en la arteria femoral del perro, su potencia supera a la de la acetilcolina o a la de la histamina, aunque es menor que de la bradiquinina).

**PGI<sub>2</sub>:**

Vasodilatación potente en varias regiones, incluyendo vasos coronarios y del riñón.

**PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , TXA<sub>2</sub>:**

Efectos presores por vasoconstricción. Este efecto por parte de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  ha sido observado en perro y gato debido al aumento de la fuerza contráctil del corazón. Por excepción, la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  disminuye la presión en gato y conejo.

**Endoperóxidos PGG<sub>2</sub> y PGF<sub>2</sub>:**

Efectos variables, desde vasodilatación hasta vasoconstricción y, en ocasiones contricción seguida de dilatación.

**TXB<sub>2</sub>:**

Al ser inyectado, ha demostrado no influir sobre el sistema cardiovascular.

**TX<sub>2</sub>:**

Es un potente agente agregante, plaquetario y tiene implicancia en la formación del trombo.

**PGI<sub>2</sub>:**

Es uno de los más potentes inhibidores de la agregación plaquetaria conocidos hasta ahora y ella conferiría al endotelio vascular la superficie lisa característica que posee.

**PGD<sub>2</sub>:**

Acción antiagregante plaquetaria.

### **Análogos PGF<sub>2</sub> $\alpha$ por ejemplo tiaprost**

La presión sanguínea medida directamente en la arteria femoral en perros Beagle entrenados y en vigilia (método usado debido a la especial sensibilidad de los perros a las PG) aumentó con el análogo inyectado, en función de la dosis. Mientras que 0,1 g no influyeron sobre la presión sistólica. 1,0 g de tiaprost la aumentó en un 9% y la diastólica se elevó en un 16%. El máximo del aumento de la presión se alcanzó a los 3 min de la inyección IV y a los 20 min, la presión volvió a equilibrarse (Laboratorios Hoechst, 1981).

### **Efectos sobre el Sistema Endocrino y Metabolismo**

Las prostaglandinas incrementan los niveles de AMPc y la secreción de hormonas en los diferentes órganos endocrinos (tiroides, corteza adrenal, ovario y paratiroides). Modulan el AMPc (modulador de las acciones de una variedad de hormonas o drogas en sus tejidos blancos).

#### **PGE<sub>1</sub>:**

Antagoniza la lipólisis estimulada por hormonas en el tejido adiposo. Hiperglicemia por efecto insulínico. Acción análoga a la de la corticotropina (contrariamente a la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  y PGA que se muestran ineficaces).

#### **Análogo F<sub>2</sub> $\alpha$ (tiaprost):**

En un experimento con dosis de 4 g/rata, la acción liberadora de corticosterona se mostró solamente moderada. Se resalta el hecho de que la dosis lúteo lítica en ratas pseudo grávidas (0.1 g/rata) es 40 veces menor que la del experimento (Laboratorios Hoechst. 1981).

## Efectos sobre el sistema reproductor

### Sobre el ovario

La farmacología de las prostaglandinas en relación al sistema reproductor se asocia principalmente a sus acciones sobre el ovario/cuerpo lúteo y sobre el útero. El estudio de la acción luteolítica se centra especialmente en la  $PGF_2$ . Al respecto, Austin y Short, 1973, han condensado interesantes referencias sobre la acción luteolítica de las PG en animales de laboratorio, algunas de las cuales se transcriben a continuación, con la indicación de los autores citados. "La inyección s.c. de  $PGA_2$  o  $PGF_{2\beta}$  y la inyección iv. de  $PGE_1$  hasta sobre los niveles tóxicos no influyeron en el período de vida del cuerpo lúteo (CL) en hámster y otras especies. En cambio, cuando la  $PGF_{2\alpha}$  (1 mg/Kg/día) es infundido en el lumen uterino o en el corazón derecho de ratas pseudo grávidas en los días 5 y 6 de la pseudo preñez, los niveles de progesterona decrecen y las concentraciones de su metabolito: 20-dihidroprogesterona ( $20\alpha$ -OHP) se incrementan en los ovarios de estas ratas.

El ovario de rata con pseudo preñez produce primariamente dos esteroides, la progesterona y  $20\alpha$ -OHP, y también se ha reportado una variación de la producción de progesterona a la producción de  $20\alpha$ -OHP (Chiesa y Petersen, 1983).

La aparición del  $20\alpha$ -OHP, es uno de los signos tempranos de la desaparición del CL. Esta disminución en la síntesis y secreción de progesterona en los ovarios puede ser el mecanismo por el cual la  $PGF_{2\alpha}$  termina la pseudo preñez en ratas. El mecanismo bioquímico de la disminución de la síntesis de progesterona por

acción de la  $\text{PGF}_2\alpha$  *in vivo* ha sido intensamente estudiado, pero aun han quedado controversias. La pituitaria no parece estar involucrada porque la  $\text{PGF}_2\alpha$  disminuye las tasas de la progesterona ovárica o su metabolito cuando se mantiene la pseudo preñez en ratas hipofisectomizadas mediante la administración de prolactina. Además la  $\text{PGF}_2\alpha$  (2 mg/día, por 5 días) no alteró el contenido de LH de la pituitaria en las ratas (Chiesa y Petersen, 1983).

También se ha establecido que la  $\text{PGF}_2\alpha$  es luteolítica en el cobayo (Blatchley y Donaban, 1969) y que este efecto no requiere la presencia del útero. En cobayas histerectomizadas, la inyección intraperitoneal de  $\text{PGF}_2\alpha$  (0.5 mg, dos veces al día, por 7 días) estimuló una marcada regresión del CL. La interrogante surgió sin embargo, si la  $\text{PGF}_2\alpha$  puede ejercer un efecto tóxico directo sobre los ovarios de las ratas pseudo gestantes. Pero, la adición de  $\text{PGF}_2\alpha$  a ovarios de rata incubados *in vitro* no disminuye las tasas de la síntesis de progesterona. Contrariamente, se ha establecido que la  $\text{PGF}_2\alpha$  produce un aumento en la dosis, dependiente de la génesis de esteroides; en ratas y en vacas (Chiesa y Petersen, 1983).

Por otro lado, Bedwani y Horton, en 1968 demostraron que durante la incubación de ovarios de coneja con  $\text{PGE}_1$  y  $\text{PGE}_2$ , no hubo un incremento consistente de la esteroidogénesis ovárica, excepto por una potenciación sustancial de la producción de  $20\alpha$ -OHP en las incubaciones con  $\text{PGE}_2$  y gonadotropinas en cinco de los seis experimentos. Las prostaglandinas E y F, están presentes en los ovarios de bovino, pero es detectable solamente

la actividad de la PGF sobre el CL del bovino (Chiesa y Petersen, 1983).

Las prostaglandinas están aparentemente ausentes en el líquido folicular del humano, conejo y bovino. Las PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α y PGH<sub>1</sub> estimulan la esteroidogénesis en segmentos o tiras de CL. *in vitro* (Speroff y Ramwell, 1970). Marsh, 1970, 1971; Kuehl y col., 1971; establecieron que el efecto estimulador de la LH, PGF<sub>2</sub>α, PGE<sub>1</sub> y PGE<sub>2</sub> sobre la síntesis de la progesterona *in vitro* está acoplada con la actividad de la adenil-ciclase y asociada al incremento de los niveles de AMP-cíclico en los homogenizados de ovario, sugiriendo que la esteroidogénesis prostaglandina-Inducida, es mediada por la AMP-cíclica *in vitro*. Estos efectos de las prostaglandinas sobre el ovario de ratona son inhibidos competitivamente por el antagonista de prostaglandina: Acido 7-Oxa-13-prostinoico (Kuehl y col., 1971). Las observaciones de las acciones de las prostaglandinas sobre los ovarios parecen paralogicas; por ejemplo, el efecto estimulador de la PGF<sub>2</sub>α *in vitro* y el efecto inhibitorio *in vivo* de la síntesis de progesterona. Al menos, estos datos excluyen el efecto tóxico de la PGF<sub>2</sub>α sobre los ovarios *in vivo*, y por lo tanto, soportan la idea de un mecanismo indirecto para el control luteal local por el tejido uterino y un efecto indirecto de la PGF<sub>2</sub>α sobre el ovario. Teniendo en cuenta que todos los animales que mostraron una influencia local del útero sobre el CL, tienen una vía venosa común compartida por el ovario y el cuerno uterino vecino (ipsolateral), puede existir una sustancia que ejerce un efecto vaso constrictor (veno constrictor) que regule el fluido sanguíneo ovárico. Previamente, Du Charme y col., 1968,

demonstraron que en el perro la  $\text{PGF}_2\alpha$  produce constricción venosa.

En 1970, Pharriss, sugirió que la restricción del flujo venoso del ovario por la  $\text{PGF}_2\alpha$  podría causar una relativa isquemia ovárica y limitaciones de la disponibilidad de sustancias para la síntesis de progesterona y/o acumulación de metabolitos. Las concentraciones de  $\text{PGF}_2\alpha$  en el endometrio parecen ser sincronizadas con la actividad del CL; por ejemplo, está presente en el endometrio secretor en mayores concentraciones que en el endometrio proliferativo. Pharriss confirmó esta hipótesis al observar que la  $\text{PGF}_2\alpha$  reducía el flujo sanguíneo en la vena úteroovárica de ratas y conejas. Sin embargo en cobayas histerectomizadas, Blatchley y Donovan (1969) demostraron que la  $\text{PGF}_2\alpha$  (1 mg diario, por 7 días) Inducía una regresión acelerada del CL sin ningún efecto histológico adverso en el desarrollo folicular. Esto sugiere la no reducción del flujo sanguíneo en el ovario, aunque la sensibilidad del folículo y CL a la reducción del fluido sanguíneo en el ovario, no se conoce bien. (Pickett, 1993).

En oposición a las observaciones de Pharriss, recientemente se ha postulado que la  $\text{PGF}_2\alpha$  disminuye la secreción de progesterona sin cambios en el fluido sanguíneo ovárico en ratas. Aunque hay especificidad tisular en los efectos micro circulatorio de muchos agentes farmacológicos, la hipótesis de Pharriss, 1970, parece un tanto simplista para explicar un fenómeno tan complicado como la modulación de la esteroidogénesis (Chiesa y Petersen, 1983).

Posteriormente se estableció que la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  radiactiva inyectada en la vena uterina se halla en concentraciones diversas en la arteria uterina. Esto indica que una contracorriente selectiva, transporta un factor luteolítico o la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  liberada desde algún lugar del útero entre la vena útero-ovárica y la arteria ovárica. Esto es además evidente, por las observaciones de que la separación quirúrgica completa de la arteria ovárica de la vena uteroovárica vecina, previene la regresión luteal en todas las ovejas experimentales (Pickles, 1967).

## **2.7. DE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO**

La técnica de sincronización del estro en yeguas consiste en la utilización de dos secuencias de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  y HCG, inyectadas por vía parenteral, no importando en que momento del ciclo se encuentra la yegua. Se comienza inyectando la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , seis días después se inyecta la HCG. A los 8 días después de la segunda inyección se vuelve a inyectar  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , y a los 20 días de iniciado el tratamiento, se realiza la segunda inyección de HCG. La monta natural se realiza a los 19 y 21 días, sin ser necesaria la detección del celo. De esta manera se consigue la sincronización del 75% de ovulaciones sobre los 14 días (Palmer y Guillaume, 1992).

La sincronización del estro en yeguas y asnas requiere el uso de una combinación de hormonas. Las prostaglandinas pueden sincronizar perfectamente el celo, siendo la duración del mismo, variable entre 3 a 10 días y la ovulación puede realizarse de 4 a 12 días. Para una óptima fertilidad, la ovulación debe ocurrir lo más cerca posible; por lo que, en la actualidad se practica la inducción de la ovulación (Palmer y Guillaume, 1992).

En la yegua, la sincronización del estro puede ser una medida muy útil cuando se practica la inseminación artificial. La yegua presenta con frecuencia cuadros de anestro por persistencia de CL. Estos animales reaccionan muy bien frente a un tratamiento con PG, manifestando celo entre los 3 a 6 días post aplicación (Laboratorios Hoechst, 1981).

Existen reportes del uso del fluprostenol, con dosis de 250 ug, vía IM, la cual es eficaz para matar el CL, excepto durante los 5 primeros días después de la ovulación. La gran mayoría de las yeguas no gestantes que no muestran ciclos regulares durante la época de cría, están en diestro prolongado más bien que en anestro, y sus CL pueden matarse con PG. Usualmente surge el estro entre los 2 a 4 días después de la administración de  $\text{PGF}_2\alpha$ , seguido de una ovulación. El índice de concepción es similar al que corresponde a aquél después de un estro natural (Hughes y col., 1975).

Otros productos usados en la yegua son el dinoprost trometano (1,0 mg/45 Kg IM) y el prostaleno o fenprostaleno (5 ug/Kg, SC), administrados después del día 5 del ciclo. Sólo es susceptible a las PG el CL completamente formado. Si el día del ciclo es incierto y la yegua no presenta estro 2- 4 días después de la administración de PG, puede darse otra dosis 10 a 12 días más tarde, cuando el CL ya sea funcional (Mc. Donald, 1976).

Tras la omisión del celo posparto, el compuesto: HR837V (tiaprost) se administró a yeguas, aproximadamente 20 días después del parto. Los animales tratados en la fase del CL entraron todos en celo. Durante el celo inducido algunas fueron preñadas y luego presentaron reabsorción embrionaria (Pickles, 1967).

El denominado "celo del potro", período en el que la mayoría de yeguas muestra susceptibilidad sexual, oscila entre los 7 y 10 días después del parto. Se utiliza con frecuencia para cubrir a la yegua. Si bien, estudios pertinentes señalan que la mortalidad embrionaria en animales cubiertos en este celo alcanza el 17%, la inducción en la fase lútea siguiente al "celo del potro" permite una mejor involución del tracto genital de la yegua, lográndose así resultados de preñez superiores.

Una indicación para la inducción del celo, tras la omisión del mismo después del parto usando tiaprost, es administrar dicha droga 6-10 días después de la ovulación del primer celo posparto ("celo del potro") o a los 20 días del parto (Laboratorios Hoechst, 1981).

## **2.8. RECOLECCIÓN, DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN**

El potro no es un reproductor estacional en el mismo grado que la yegua, y en consecuencia puede obtenerse semen del mismo durante todo el año, su comportamiento corresponde al relacionado con las maniobras de reproducción; cualquiera que sea el momento en el que tome contacto con la yegua durante el estro, sí bien su conducta en este sentido es más intensa y pronunciada durante la primavera y verano, épocas que coinciden con la estación reproductiva. El macho eyacula de 50 a 200 ml, y el número de espermatozoides por ml fluctúa de 4 a  $13 \times 10^9$ . El promedio eyaculado es de 125 ml y  $8 \times 10^9$  espermatozoides/ml. Como el potro semental eyacula una cantidad tan grande de líquido resulta fácil separarlo en tres fracciones, basándose en el orden en que fueron eyaculadas. La primera porción es un líquido grisáceo desprovisto de espermatozoides, la segunda, que consta de 30 a 75 ml, es la más rica en células espermáticas; y la tercera es un líquido viscoso con abundante gelatina y pocos espermatozoides. La

primera fracción es la más pequeña en cantidad, la segunda la más abundante y la tercera intermedia (Mc Donald, 1976).

La composición del semen la integran tres ondas eyaculadoras que en tiempos distintos se vierten sobre el colector. La primera procede de la próstata, es rica en electrolitos y de efectos espermio estimulantes, su volumen fluctúa entre los 10 a 20 ml. La segunda onda eyaculadora procede de las ampollas de Henle, es rica en espermios y su volumen fluctúa entre los 30 a 75 ml.

La tercera fracción eyaculada viene a ser el contenido de las vesículas seminales, la cual es una sustancia fluida y gelatinosa, desde el punto de vista biológico representa un medio de tamponización, su volumen proporciona la mayor parte del eyaculado y representa los 2/3 de la eyaculación total (Mc Donald, 1976).

El eyaculado después de obtenido, presenta una fracción completamente líquida y zoospérmica y el estrato superior que lentamente se gelifica para dar una sustancia gelatinosa viscosa; que es preciso eliminar por interferir en la manipulación del eyaculado. El eyaculado en los equinos está integrado por una masa líquida de volumen considerable. En el garañón, el volumen es superior al del caballo. En todo caso, existe relación entre el régimen alimentario, de modo que en los animales sometidos a régimen verde, el eyaculado es más voluminoso que en aquellos sometidos a una alimentación concentrada. El eyaculado en los equinos está integrado por una masa líquida que varía entre los 50 a 300 ml. El color presenta una tonalidad verdosa amarillenta con tendencia a la grisácea (Mc Donald, 1976).

Existe un lípocromo responsable de la tonalidad colorante en el esperma, y sus variaciones están en relación con la alimentación, influyendo el

régimen verde en la definición de tonalidades amarillo verdosas, mientras que los tonos grisáceos corresponden a la alimentación seca y concentrada. La coloración del esperma deriva esencialmente, en los equinos, de la secreción de las glándulas vesiculares y de la próstata. Lo mismo que en otras especies, las variaciones destacadas del color del eyaculado han de interpretarse como sospechosas de procesos inflamatorios, degenerativos o contaminantes del eyaculado. La opacidad, se refiere a los datos recogidos a tal efecto cuando el eyaculado se examina a la luz en recipiente de vidrio. La opacidad valorada en la actualidad por distintas técnicas de opacimetría, en este caso tiene un valor más abstracto, haciendo referencia sólo a la impresión que nos produce respecto al carácter más o menos homogéneo de la masa líquida, turbidez, etc. La existencia de grumos, significa contaminaciones, a veces groseras, con cuerpos extraños de la más variada naturaleza, que es preciso analizar (Pérez y Pérez, 1976).

El pH y sus variaciones, es un activador de la cinesis zoospérmica. El pH ácido actúa como hipocinético, y bajo su efecto los zoospermios despliegan un mínimo de energía. Entendiéndose un pH alcalino como estimulante específico de la cinesis. La concentración inferior a 50000 zoospermillos por  $\text{mm}^3$  debe considerarse como anormales y en realidad responden a muy baja capacidad fecundante. En condiciones normales, las variaciones en concentración zoospérmica del eyaculado están en función directa con el volumen del mismo. Una concentración inferior a  $10^5$  zoospermios por  $\text{mm}^3$  significa algún proceso patológico de origen gonadal, o por el contrario reacciones inflamatorias de las glándulas paragenitales. Sobre todo si este fenómeno va acompañado de un volumen eyaculado superior al normal. Berliner, mencionado por Pérez (1976), sostiene que para la inseminación artificial sólo debe emplearse muestras de semen con espermatozoides predominantemente vigorosos, y descartar aquellos donde los movimientos son lentos, oscilantes o

débiles. Así mismo afirma que, en algunos casos el recuento de anomalías alcanza a 300 mil espermatozoides en semen de padrillo o de garañón de fertilidad reconocida. La apreciación de las formas anormales se lleva a cabo mediante preparaciones teñidas, pudiendo encontrarse la más variada gama de las mismas. El porcentaje de las formas muertas del eyaculado equino es muy elevado en condiciones naturales (Pérez y Pérez, 1976).

La yema de huevo posee un papel protector de los espermatozoides, asegurando así una supervivencia más prolongada. La fracción proteica responsable de la conservación intervendría inhibiendo los procesos respiratorios y la formación de agua, como consecuencia de la oxidación desaminativa de una molécula de triptófano, fenilalanina o tirosina.

En los estudios realizados en Chiclayo - Perú, utilizando huevos que provenían de gallinas alimentadas con una ración balanceada, se observó en muchos casos la presencia de aglutinación de espermatozoides, por ello se recomienda la utilización de huevos de gallinas caseras alimentadas a base de maíz. Para que se produzca la acción protectora, el dilutor no debe contener menos del 5% de yema, y para la acción de conservación, no menos del 20% (Simón, 1981).

## **2.9. PROTOCOLO DE MANEJO DEL SEMEN**

Cuando llega el semen al laboratorio, debe abrirse el recipiente que lo contiene, y confirmarse la identidad del semental proveedor del semen. Lo ideal es que el semen transportado vaya acompañado por un protocolo con el nombre del semental y del haras que provee el semen; y el nombre de la yegua que debe ser inseminada. Esto es muy importante cuando hay un gran número de yeguas para inseminar y se reciben múltiples envíos de semen de diferentes haras, o de diferentes

sementales de un mismo haras. Una vez que se confirma la identidad del semen, se debe extraer del contenedor, mezclar suavemente y aspirar con una jeringa conectada a una pipeta de inseminación. La yegua se prepara para la inseminación con técnicas asépticas y se insemina de la misma forma que con semen fresco. No es necesario entibiar el semen antes de la inseminación, a menos que se use un diluyente de crema y gelatina. Los diluyentes de crema-gelatina son muy viscosos a temperatura de refrigeración y no pueden aspirarse. Estos diluyentes son generalmente entibiados en una estufa o baño de agua a 37 - 38°C hasta que la muestra se torna lo suficientemente fluida para su uso. Debe tenerse cuidado de no contaminar la muestra con agua; al igual que a cualquier muestra de semen (Pickett, 1993).

Una pequeña alícuota debe guardarse y entibiarse a 37°C para observar la motilidad espermática como control de calidad. Lo ideal es usar un microscopio de contraste de fases con una platina termostaticada. Si no se cuenta con ese tipo de microscopio, se debe precalentar la platina de un microscopio convencional y ajustar el condensador y la intensidad de luz para permitir visualizar los espermatozoides. Todo el equipo en contacto con el semen, incluyendo los portaobjetos y pipetas de inseminación, debe estar limpio y entibiado para evitar el shock por frío que puede llevar a una evaluación errónea de la calidad del semen. Si la motilidad espermática es muy pobre, debe contactarse al haras para disponer un envío de semen adicional lo mas rápido posible. Es común que las yeguas se preñen con semen con 25% a 30% de motilidad, siempre y cuando el número de espermatozoides sea adecuado ( $> 1 \times 10^6$ ). Sin embargo en una revisión de fichas de servicio en la Universidad de Texas A & M encontraron que los porcentajes de preñez eran significativamente más altos ( $P < 0.02$ ) en las yeguas servidas con muestras que contenían  $> 500 \times 10^6$  espermatozoides, con motilidad progresiva, que las yeguas inseminadas con muestras que contenían  $<$

500 x 10 espermatozoides con motilidad progresiva. Medidas adicionales de control de calidad incluyen la determinación de la concentración espermática y una evaluación de la morfología espermática. La concentración de la muestra puede obtenerse rápidamente realizando el recuento en un hemocitómetro. Se optimiza la motilidad espermática en el semen refrigerado transportado, cuando la muestra contiene 25-50 x 10 espermatozoides/ml. La motilidad espermática y la fertilidad pueden verse comprometidas si el semen está muy diluido o muy concentrado. Si se evidencian problemas en la calidad del semen, debe contactarse al encargado del semental y pedir información sobre los procedimientos de procesamiento y envase empleados. Si el análisis de la morfología demostrara un elevado porcentaje de anormalidades o si la calidad del semen fuera repetidamente pobre a pesar del uso de buena técnica, entonces deberíamos suponer que el semen del semental no es apropiado para el uso refrigerado (Pickett, 1993).

## 2.10. TÉCNICA DE INSEMINACIÓN

Generalmente los envíos de semen llegan con dos dosis para inseminación. Si la calidad del semen es buena, debería ser suficiente la inseminación de una dosis en el día de llegada, La segunda dosis puede mantenerse refrigerada a <10 °C en un termo, y si la yegua no ha ovulado usarla al día siguiente. Si la yegua ovuló, no es necesario una segunda dosis, que sólo serviría para introducir más contaminantes en el útero. Además la motilidad espermática de la mayoría de los sementales declina al continuar en almacenamiento. A pesar de que la calidad seminal puede ser aceptable a las 24 h de almacenamiento, puede no ser aceptable a las 48 h. Esto es más notable en algunos recipientes descartables que mantienen el semen por debajo de 10 °C durante menos de 36 h; aún sin haber sido abiertos. Si la motilidad es

baja, va a empeorar al día siguiente. En esos casos administrar las dos dosis juntas a la yegua ayudaría a aumentar el número de espermatozoides móviles en la dosis inseminante. Esto podría proveer la mejor oportunidad de preñar a la yegua en ese ciclo, especialmente si no se puede lograr que un segundo envío llegue antes de la ovulación. Cuando se utiliza una segunda inseminación, se debe considerar el momento óptimo para realizarla. El intervalo recomendado entre inseminaciones se ubica entre 6 y 24 h, pero no se han realizado pruebas experimentales controladas para demostrarlo. En todas las yeguas se produce cierto grado de inflamación después de la inseminación. Esta respuesta inflamatoria (medida por la afluencia de PMNS) comienza dentro de 0,5 a 1 h, tiene el pico a las 6 a 12 h, persiste durante 24 h y a pesar de seguir presente, a las 48 h disminuye mucho. Los espermatozoides pueden sobrevivir en un útero inflamado, pero los estudios in vitro han demostrado que las secreciones uterinas, del útero inflamado, afectan en forma adversa la motilidad espermática. Este efecto deletéreo aparece a las 6 h, es más pronunciado en presencia de PMNS a las 12 h y persiste por lo menos 24 h post-inseminación.

Pruebas de fertilidad realizadas en dos laboratorios diferentes dieron resultados dispares cuando se preguntaban si la inseminación con una dosis después de 24 h de almacenamiento, o una dosis doble después de 24 h de almacenamiento, o una dosis a las 24 h y una segunda a las 48 h afectaban el porcentaje de preñez. Uno de los estudios no encontró diferencia en los porcentajes de preñez mientras que el otro encontró una leve mejoría en los porcentajes de preñez con el método de dos dosis en dos días. En estos estudios aparece un efecto del semental que sirve para enfatizar que es importante considerar la calidad del semen después del enfriamiento y la fertilidad inherente del semental para decidir como usar el semen cuando se envían 2 dosis. Si

la calidad del semen es marginal a las 24 h ó si se sabe que la motilidad de los espermatozoides de ese semental declina significativamente después del almacenamiento posterior, ambas dosis deberían inseminarse lo más rápido posible después de su arribo (Brinsko y Varner, 1992).

## **2.11. VOLUMEN DE SEMEN EN LA INSEMINACIÓN**

Servir o no con dos dosis de semen también hace surgir la pregunta sobre el efecto del volumen inseminado sobre la fertilidad. El número de espermatozoides normales móviles en una dosis inseminante parece ser más crítico para la fertilidad que el volumen inseminado. A pesar que volúmenes pequeños o grandes pueden tener un éxito semejante, el volumen típico para una dosis inseminante para semen refrigerado oscila en un rango de 30 a 120 ml. En la inseminación con semen fresco no se recomiendan los volúmenes excesivamente grandes, porque al estar dilatado el cerviz gran parte de dicho volumen puede perderse. Sin embargo, un informe sugiere que la inseminación con hasta 170 ml de semen refrigerado no afectaba en forma adversa los porcentajes de preñez (en yeguas se informó una tasa de preñez de 12/13 ó 92%). Cuando se inseminaron yeguas pony con 30 ml ó 120 ml de semen enfriado con una concentración de 50 millones de espermatozoides por ml, las tasas de preñez no difirieron entre los dos grupos (7/9; 78% y 10/10; 100%). Los autores concluyeron que volúmenes de hasta 120 ml de semen enfriado no afectan adversamente la fertilidad siempre que se insemine un número suficiente de espermatozoides con movilidad progresiva (Brinsko y Varner, 1992).

## 2.12. DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ

Las yeguas inseminadas con semen refrigerado transportado deben examinarse utilizando ultrasonografía transrectal a los 14 - 15 días pos-ovulación. Este procedimiento cumple varias funciones importantes:

1. Permite el diagnóstico temprano de preñez.
2. Ayuda a establecer si la concepción y el útero son normales para esa edad de gestación.
3. Otorga suficiente tiempo para contactar al encargado del semental para disponer de semen para el próximo estro, si la yegua no ha quedado preñada.
4. Permite tomar contacto tempranamente con el encargado del semental y tenerlo informado sobre los resultados de la inseminación; para que ellos puedan monitorear las tasas de preñez.
5. Permite el diagnóstico de mellizos, antes de que se fijen (Cerna y col., 1995).

## 2.13. HIBRIDOS EQUINOS

Los híbridos equinos se dan por los cruzamientos entre todos los géneros de la familia équida; y se tiene:

1. Asno x yegua = Mula o mulo (macho).
2. Potro x asna = Burdégano, macho romo o mula roma. Los romos son más útiles y potentes para el trabajo y casi siempre son más pequeños; por el tamaño de las asnas madres.

El asno que sirve yeguas lo llaman Garañón o Yegüero. El potro que sirve asnas lo llaman Burrero. El pequeño o joven hasta 5 años se llama muleto(a) (Wathen, 2010).

Las mulas, como ganado, son los más robustos, las menos exigentes y las que más soportan los malos climas y las pendientes. Ningún otro animal de labor admite su continuidad en el trabajo. La colonización de Norte América le debe mucho a la mula. Alguien decía que es un animal que sería necesario inventar si no existiera (Wathen, 2010).

Un burdégano tiene las orejas largas, como la madre. Del potro conserva tan sólo la cabeza, que es larga y delgada; las patas que son amplias; la cola peluda en toda su longitud, y el clásico relincho. Como animal híbrido, el burdégano casi siempre es estéril (Wathen, 2010).

#### **2.14. SANIDAD Y PRODUCCIÓN DE EQUINOS**

Los híbridos son el producto del cruce de dos especies o sub-especies diferentes de la familia Equidae, cuya principal características genética es que son estériles (Arana, 1987).

Todos los géneros equinos se pueden cruzar entre sí, y producir híbridos, pero todos son estériles; al menos en lo que se refiere a las crías de sexo macho. Se conocen cruces de hembras híbridas fecundadas por un macho de una de las dos especies afines (Arana, 1987).

Desde el punto de vista de la etología equina, se observa que el comportamiento de los híbridos, cuando son jóvenes, en lo que se refiere a los aires, la manera de jugar, los saltos, etc. se parecen a los hijos de la especie a la que pertenece la madre, es decir los muleros se comportan como los potrillos y buscan siempre a las yeguas, mientras que los burdéganos jóvenes se comportan como los pollinos y buscan a las asnas (Arana, 1987).

Los nombres los animales híbridos, en la mayoría de los casos, parten de la convención de que, la primera parte del nombre corresponde al nombre de la especie del padre, y la segunda parte se refiere al nombre de la especie de la madre (Arana, 1987).

En el género *Equus*, los productos de hibridación más conocidos son:

***Equus mullus*:** Estos híbridos tienen una gran vitalidad, resistencia, rusticidad y adaptabilidad; comparado con sus progenitores. El mulo y/o mula resultado del cruce del asno o garañón con una yegua, fenotípicamente se parece más al asno que a la yegua, mientras que en lo referente a su esqueleto sucede lo contrario. Referente a la alzada es casi igual a la de la madre, la cabeza es similar a la del padre, es decir grande y pesada, con ollares poco dilatados, las orejas de tamaño intermedio aproximándose a la del asno. El cuello es recto muy delgado como el de la yegua, con su crinera menos desarrollada y las de la cola sólo se presenta en la parte terminal. La cruz es baja, con dorso recto, mientras su lomo es algo convexo (lomo de mula), grupa robusta y estrecha, con un vientre amplio y rebuzna como el padre. Los mulos presentan espejuelos sólo en los miembros anteriores (herencia del padre), muy raramente en tres pero jamás en los cuatros remos. Sus cascos son más pequeños y estrechos que los de los caballos, con los talones altos y duros como los del asno, con la ranilla poco desarrollada, pero con el paso más seguro, tranquilo y firme que el caballo; especialmente para andar en terrenos duros, rocosos y accidentados (Arana, 1987).

El pelaje de los mulos es generalmente de color entero, ya sea castaño, negro, bayo o moro, abundando más los dos primeros. En los pelajes claros, se presentan generalmente unas cebraduras, que son unas pequeñas rayas negras y claras o del color del pelaje, alternadas y transversales a los miembros, a nivel de los corvejones, rodillas y cañas. Además, una raya negra u oscura característica que va desde la cruz hasta la cola (raya de mulo), acompañada o no, por una banda negra que la atraviesa y desciende por la espalda a nivel de la cruz; denominada banda crucial (Arana, 1987).

El mulo ofrece una combinación de cualidades que lo hacen preferible, en diversas circunstancias y regiones, al caballo y al asno. En su fisiología, los mulos presentan una mayor potencia y energía, son más duros y sobrios que el caballo, ya que no son muy exigentes en su alimentación y se conforman con forraje de poca calidad. Son más resistentes a la fatiga. (Arana, 1987).

Un buen mulo puede transportar una carga da 150 Kg, y recorrer diariamente 30 Km. Son poco aptos para la carrera, pero gozan de una buena longevidad, se mantienen activos hasta los veinte años o más. Son excelentes para el tiro y carga, en toda clase de faenas y terrenos; soportando resignadamente el trabajo más duro (Arana, 1987).

Desde siglos pasados se ha escrito que algunas mulas han sido fecundadas, y que han tenido crías (muletos), pero en esos tiempos se los consideraba como algo infernal y presagio de desventuras, los hechos se mantenían en secreto y las crías eran sacrificadas (Arana,1987).

***Equus hinnus:*** También conocido con los nombres de Burdégano o macho romo. Resulta del cruzamiento del potro, como padre, y la asna como madre. Presenta formas menos perfectas, su alzada o talla es inferior a la del mulo, su cabeza es fina y bien proporcionada, como en el caballo, las orejas largas como la madre, narices dilatadas, crines del cuello y cola casi tan largas como las del caballo; que es peluda en toda su longitud, dorso, riñones y grupa rectos y cortantes como en el mulo. Miembros enjutos, amplios y cascos más anchos que los del asno (Arana, 1987).

Su piel es fina y el pelaje de color uniforme, generalmente oscuro; los espejuelos son delgados y están presente en las cuatro extremidades y su voz es el clásico relincho del caballo. El macho romo es menos resistente a la fatiga que el mulo, revelando el carácter perezoso de la madre (Arana, 1987).

El potro y la asna no se aparean casi nunca, por su propia voluntad, por lo que la cría del burdégano exige la mano del hombre para hacerlos reproducirse (Arana, 1987).

Por otra parte, entre el caballo y los que se encuentran en libertad, existe siempre una rivalidad que acaba en encarnizadas peleas (Arana, 1987).

Como animal híbrido, el burdégano casi siempre es estéril, debido a la diferencia en el número de cromosomas; en el núcleo. Esto hace que al combinarse salgan crías (mula o burdégano) con 63 cromosomas, es decir, no forman pares. Esto hace que no se dividan en forma equitativa durante la meiosis. El *Equus caballus* tiene 64 cromosomas, mientras que el *Equus asinus* tiene solo 62. Es una curiosidad científica que puedan cruzarse entre sí, pero la mula o el burdégano, son realmente animales creados por el hombre; ya que estado natural las especies se ignoran y no se cruzan (Arana, 1987).

Para obtener mulas o burdéganos es necesario entrar a los progenitores para que acepten copular entre especies o lograrlos por inseminación artificial. Los mulos machos y los burdéganos no castrados suelen ser muy libidinosos; aunque estériles, porque sus testículos producen testosterona a tasas normales. Por eso se castran para el trabajo (Arana, 1987).

Aunque tradicionalmente se han intentado todo tipo de caracterizaciones zootécnicas para distinguir mulas de burdéganos, genéticamente son iguales y, salvo por algún gen ligado al sexo, estadísticamente son iguales. La mula se ha producido en mayor cantidad porque es más fácil combinar asnos machos con yeguas hembras; que viceversa (Arana, 1987).

Tanto el caballo como el asno tienen un antecesor común, por lo tanto comparten más del 97% de sus genes, y tal vez en estado natural alguna vez se hayan cruzado, pero al ser estéril la cría, no pudieron prosperar como una nueva especie (Arana, 1987).

La conducta reproductiva de ambos es bastante diferente. El burro es un animal territorial y el caballo no, se cree que son especies que se están diferenciando (alejándose) evolutivamente (Arana, 1987).

Al igual que los burdéganos, las mulas son casi siempre estériles, y en los pocos casos de fertilidad, la crías tienden a ser de bajo peso y débiles. Su esterilidad se atribuye al diferente número de cromosomas de las especies. En realidad, la mula es un animal semi estéril. Todos los machos (mulos) son estériles por un problema en la glándula seminal. Sin embargo la hembra (mula) puede generar óvulos fértiles. Todos aquellos óvulos generados con parte procedente de los genes de la yegua y burro (los progenitores de la mula) mezclados, son óvulos estériles y no podrán ser fecundados. Sin embargo los escasos óvulos que por recombinación al azar se forman solo con el ADN heredado de su madre yegua, o solo con el ADN heredado de su padre asno, pueden ser fecundados. El porcentaje de óvulos fértiles es extremadamente bajo, por ello, si en esa ovulación (una de entre muchos ciclos ovulatorios) la mula es

cubierta por un potro, nacerá un potro, y si es cubierta por un burro, nacería un burrito (Arana ,1987).

No se conocen casos en que una mula haya parido a un híbrido similar a ella. Así una mula hembra que tenga ciclos estrales y pueda llevar un feto, podrá quedar preñada de forma natural o por medio de transferencia embrionaria. En sí, el problema reproductivo radica en poder embarazar al animal en primer lugar. A pesar de esto cuando la mula queda gestante, es difícil que llegue a termino la gestación y, por lo general, la cría nacida es débil y enfermiza. Algunos autores lo asocian a que es un animal nacido con acortamiento de telomeros y sufre envejecimiento prematuro. Sin embargo, dada la escasez de estos animales es algo que no se ha podido demostrar aún. (Arana, 1987).

***Zedonk (Cebridos):***

Resulta del cruzamiento de las especies asina y la especie cebrá, donde el macho es la cebrá y la hembra una asna (Wathen, 2010).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN

El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Clínica Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicada en el Km 1.5 de la carretera a Baños del Inca, con las siguientes características geográficas y meteorológicas:

ALTITUD:	2750 msnm
LATITUD SUR:	7°10'
LONGITUD OESTE:	78°30'
TEMPERATURA PROMEDIO:	13,8°C y el micro ambiente de 18 a 21°C
PRECIPITACIÓN PLUVIAL:	657 mm/año
HUMEDAD RELATIVA:	74% como promedio.*

---

\*Fuente SENAMHI CAJAMARCA – 2007

## **3.2. MATERIALES Y EQUIPOS**

### **3.2.1. Material Biológico**

- 16 asnas, aptas para el servicio reproductivo, procedentes de la comunidad de Chuquimango, provincia de Contumazá.
- Yema de huevo de gallina
- Leche Ultra pasteurizada (U.H.T.= Ultra High Temperature)

### **3.2.2. Reactivos**

- Rosa de bengala al 3%
- Nigrosina al 10%
- Vaselina

### **3.2.2. Fármacos**

- Ivermectina al 1%
- Tónico reconstituyente = Tonofosfán®
- Vitaminas = Vigantol® ADE
- Prostaglandinas = PGF2  $\alpha$  sintética = ILIREN®
- Hormona Gonadotropina Coriónica Humana (HCG)

### **3.2.3. Material de laboratorio en general**

- Peachímetro
- Centrifuga
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Matraz
- Pipetas
- Estufa

- Autoclave
- Microscopio binocular de luz incorporada
- Cámara hematocitométrica
- Baño María
- Láminas porta y cubre objetos
- Horno Pasteur
- Probetas graduadas
- Refrigeradora
- Guantes Obstétricos
- Mangas de plástico
- Toallas para limpiar y secar la vulva
- Libreta de registro

### **3.2.3. Material para colectar semen e Inseminar**

- Vagina artificial tipo Missouri
- Thermus
- Espéculo bivalvos
- Catéter de inseminación
- Jeringa plástica de color negro
- Catéter para inseminación, de 5 mm de diámetro y 45 cm de longitud, con adaptador para jeringa.

### 3.3. METODOLOGÍA

#### 3.3.1. Animales y su tratamiento

Antes de iniciar el experimento de sincronización del estro e inseminación artificial en asnas, los animales fueron acondicionados en los ambientes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, contando con agua potable y alimento, a base de forraje, en cantidad suficiente. Se llevó a cabo la desparasitación, a base de Ivermectina al 1%, en dosis de 1 ml por cada 40 Kg de peso vivo del animal. Asimismo, se llevó a cabo la suplementación a base de vitaminas, las que fueron aplicadas vía intramuscular, utilizando 1 ml por animal de Vigantol® ADE, cinco días después de la desparasitación. Por otro lado, se aplicó un tónico reconstituyente a base de Tonofosfán®, vía intramuscular, en cantidad de 10 ml por animal.

#### 3.3.2. Diseño experimental

El experimento se realizó teniendo en cuenta dos tratamientos experimentales, de ocho animales cada uno (A, B).

Cada tratamiento fue subdividido en dos subgrupos, de cuatro animales cada uno ( $a_1$ ,  $a_2$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ). El diseño es completamente al azar, con un arreglo factorial de dos por dos.

DCA 2x2.

	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>
A <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>
A <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>

### **3.3.3. Sincronización del estro**

Se realizó mediante la aplicación de una prostaglandina, la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  sintética, 3 ml de iliren® por animal, vía intramuscular, en la tabla del cuello.

### **3.3.4. Inducción de la ovulación**

Unas doce horas antes de la primera inseminación se aplicó, en el tratamiento correspondiente, una hormona, la HCG, 2500 UI por animal, vía intramuscular, en la tabla del cuello.

### **3.3.5. De los potros**

Se seleccionó cuatro potros (cruce del caballo peruano de paso), debido a que el volumen del eyaculado individual fue de 60 a 70 ml, en las mejores colecciones, y la concentración espermática del semen fue de 150 a 300 millones/ml, en los mejores casos. Alternándose la utilización de los potros.

### **3.3.6. Recolección del semen**

Se utilizó una vagina artificial, adaptada del modelo Missouri, diseñada por el investigador de esta tesis. Se le colocó un guante y se unta con vaselina. Se llenó con agua a 40°C, y se fue controlando la temperatura, con un termómetro, hasta que alcance los 38,5°C.

Una vez seleccionado el potro, se procedió a la limpieza del pene, con agua tibia. Cuando el potro realizó la monta de una

yegua, se desvió el pene hacia la vagina artificial; colectándose el semen eyaculado.

### 3.3.7. Evaluación del semen

#### Evaluación macroscópica

**Volumen:** Se determinó en el mismo frasco recolector graduado.

**pH:** Se realizó a través del peachímetro.

**Coloración y densidad del semen:** Esta característica fue observada en el frasco colector, anotándose lo correspondiente.

#### Evaluación microscópica

**Motilidad en Masa:** Se examinó al microscopio, con objetivo de 10X, observándose las oleadas de movimiento (flujo y reflujo), provocados por la concentración y dispersión de los espermatozoides. El semen que presentó valores bajos de motilidad fue eliminado.

**Morfología Espermática:** Se utilizó el método tintorial con rosa de bengala, examinándose células espermáticas normales y anormales. El porcentaje fue determinado, considerando los espermios normales y anormales en un frotis.

**Tinción supra vital:** Se utilizó el método de Blood, en base a los colorantes Eosina y Nigrocina, para diferenciar los espermios vivos de los muertos; examinándose los frotíces a 100X y 400X.

**Recuento Espermático:** Se empleó el método hematocimétrico, utilizando una cámara reticulada (cámara de

Neubauer), para el recuento microscópico de espermios. El número de espermios, se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{ Espermatozoides.} = \frac{N \times 100 \times \text{ml.}}{A \times H \times D}$$

N= Número de espermatozoides contados en dos cuadrados

A= Área contada

H= Altura de la cámara de recuento

D= Dilución del semen

### **3.3.8. Dilución del semen**

El semen colectado fue llevado al laboratorio y puesto en baño maría a 28 °C; permaneciendo allí hasta el momento de su dilución. El dilutor, constituido por 20% de yemas de huevos de gallina + 80% de leche UHT, es colocado en baño maría a 22 °C. La dilución del semen se realiza tomando diez partes del dilutor por una parte de semen. El semen diluido se coloca en tubos de centrífuga de 10 ml, procediéndose a centrifugarlo, para luego ser evaluado al microscopio. El semen debe ser examinado con exactitud.

### **3.3.9. Evaluación del estro**

Se realizó teniendo en cuenta las claves ginecológicas de Gosset modificado, teniendo en cuenta al examen trans-rectal y trans-vaginal.

### **3.3.10. Inseminación artificial**

Todas las inseminaciones se realizaron teniendo en cuenta la observación del estro y el examen ginecológico. Se realizó la inmovilización de la asna, en el brete. Se lava los genitales externos de la hembra, se seca la región de la vulva, se prepara el semen, se lubrica los genitales, empleando vaselina; se introduce la mano en la vagina, penetrando hasta la porción craneal de la vagina, para colocar el dedo índice en la abertura cervical. Se introduce el catéter, a través de la vagina, hasta el cuello uterino, donde se deposita el semen, ejerciendo presión sobre el émbolo de la jeringa, a medida que se va retirando el dedo de la abertura cervical; para finalmente retirar todo el equipo de los genitales de la asna.

### **3.3.11. Diagnóstico de preñez**

El Diagnóstico de Preñez se realizó, mediante la observación del no retorno del celo de los 25 días posteriores de la última inseminación, el examen trans-rectal y exploración vaginal después de 60 días post último servicio.

### **3.3.12. Análisis estadístico**

La variable evaluada fue "eficacia de la hormona coriónica humana" en la fertilidad de asnas sometidas a sincronización del estro e inseminación artificial con semen de potro; a través del análisis de variancia con un arreglo factorial de 2 x 2.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1. EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS (ASNAS) CONSIDERADAS ANTES DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

TABLA 1. Peso vivo y edad de dieciséis asnas, distribuidos por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

CONCEPTO	T <sub>1</sub> PGF2 $\alpha$ (Grupo Control)		T <sub>2</sub> PGF2 $\alpha$ + HCG (Grupo Experimental)	
	Peso promedio (Kg)	278,75	250,75	209,00
Edad de las asnas (años)	4,5	4,0	4,6	4,5
N° de Inseminaciones	2	3	2	3

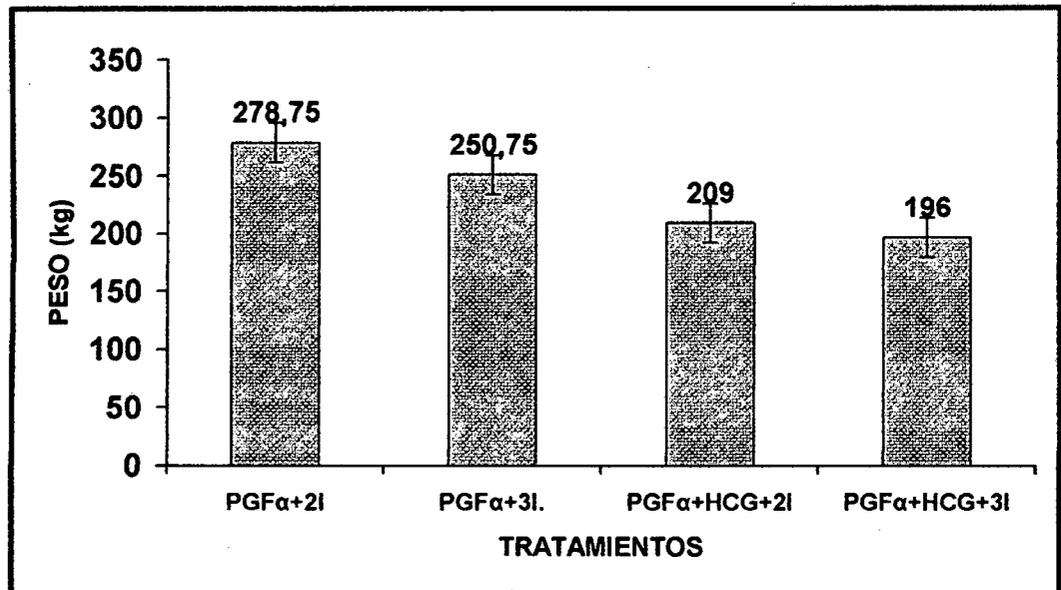


Figura 1. Peso vivo de las asnas, por tratamiento.

**TABLA 2.** Resultado del examen transrectal en asnas, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	EXAMEN TRANSRECTAL DEL ÚTERO EN EL MOMENTO DE LAS INSEMINACIONES				
	Tamaño del Útero	Simetría de Cuernos	Tono del Útero		Cervix
	T2	S	C4	C3	Difuso no Palpable
Dos Inseminaciones sin HCG	100%	100%	100%	00%	100%
Tres Inseminaciones sin HCG	100%	100%	25%	75%	100%
Dos Inseminaciones más HCG	100%	100%	100%	100%	100%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	100%	100%	00%	100%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>04</b>	<b>12</b>	<b>16</b>

Donde:

T2: Mediano, grosor aproximado al antebrazo de un niño.

S: ambos cuernos simétricos.

C3: Tendencia a la contracción rápida y fuerte.

C4: Se contrae.

**TABLA 3.** Tamaño de los ovarios de las asnas, distribuidos por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca 2002.

TRATAMIENTO	TAMAÑO DE LOS OVARIOS EN EL SERVICIO					
	Ovario Derecho			Ovario Izquierdo		
	H2	H3	H5 a H3	H2	H3	H5 a H3
<b>Dos Inseminaciones sin HCG</b>	100%	00%	00%	00%	100%	00%
<b>Tres Inseminaciones sin HCG</b>	50%	00%	50%	50%	25%	25%
<b>Dos Inseminaciones más HCG</b>	50%	50%	00%	50%	50%	00%
<b>Tres Inseminaciones más HCG</b>	50%	50%	00%	25%	75%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>10</b>	<b>04</b>	<b>02</b>	<b>05</b>	<b>10</b>	<b>01</b>

Donde:

H2: Huevo de Paloma (2 cm aprox.)

H3: Huevo de gallina criolla (3 cm aprox.)

H5: Huevo de pato (5 a 6 cm aprox.).

**TABLA 4.** Consistencia de los ovarios de las asnas, distribuida por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	CONSISTENCIA DE LOS OVARIOS EN EL SERVICIO							
	Ovario Derecho				Ovario Izquierdo			
	1	2	4	5	1	2	4	5
<b>Dos Inseminaciones sin HCG</b>	100%	00%	00%	00%	00%	00%	00%	100%
<b>Tres Inseminaciones sin HCG</b>	50%	00%	25%	25%	50%	00%	25%	25%
<b>Dos Inseminaciones más HCG</b>	50%	00%	00%	50%	25%	25%	00%	50%
<b>Tres Inseminaciones más HCG</b>	25%	25%	00%	50%	50%	00%	00%	50%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>09</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>05</b>	<b>05</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>09</b>

Donde:

1. Duro y fibroso.
2. Tenso, con fluctuación apenas palpable.
4. Blando, fluctuante deprimible.
5. Blando, pastoso.

**TABLA 5.** Posición, forma y abertura del cérvix en el momento de las inseminaciones, distribuidos por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	POSICIÓN, FORMA Y ABERTURA DEL FÓRNIX					
	Posición	Forma		Abertura		
	Casi al Piso	Difuso	Flácida	D1	D3	D2 a D3
Dos Inseminaciones sin HCG	100%	100%	00%	00%	100%	00%
Tres Inseminaciones sin HCG	100%	25%	75%	25%	00%	75%
Dos Inseminaciones más HCG	100%	100%	00%	00%	100%	00%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	100%	00%	100%	00%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>16</b>	<b>13</b>	<b>03</b>	<b>05</b>	<b>08</b>	<b>03</b>

Donde:

- D1. Permite el paso del grosor de un dedo;
- D2. Permite el paso del grosor de 2 dedos;
- D3. Permite el paso del grosor de 3 dedos.

**TABLA 6.** Color y humedad del cérvix en el momento de las inseminaciones, distribuidos por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	COLOR Y HUMEDAD DEL CÉRVIX		
	Color		Humedad
	Hiperémico	Rosado	Muy Húmedo se nota secreción
Dos Inseminaciones sin HCG	100%	0	100%
Tres Inseminaciones sin HCG	75%	25%	100%
Dos Inseminaciones más HCG	100%	00%	100%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	0	100%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>15</b>	<b>1</b>	<b>16</b>

**TABLA 7.** Duración del estro en asnas, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

CONCEPTO	T <sub>1</sub> PGF2 $\alpha$ (Grupo Control)		T <sub>2</sub> PGF2 $\alpha$ + HCG (Grupo Experimental)	
	Nº DE INSEMINACIONES	2	3	2
DURACIÓN DEL ESTRO (Días)	5,5	5,25	6,5	6,5

**TABLA 8.** Aparición del estro en asnas, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

CONCEPTO	T <sub>1</sub> PGF2 $\alpha$ (Grupo Control)		T <sub>2</sub> PGF2 $\alpha$ + HCG (Grupo Experimental)	
	N° DE INSEMINACIONES	2	3	2
APARICIÓN DEL ESTRO (Horas)	83	84	72	54

**TABLA 9.** Simetría de los cuernos uterinos en asnas, durante el diagnóstico de preñez, distribuida por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	TAMAÑO DEL ÚTERO	
	Asimétricos	Simétricos
Dos Inseminaciones sin HCG	25%	75%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	75%	25%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>10</b>	<b>6</b>

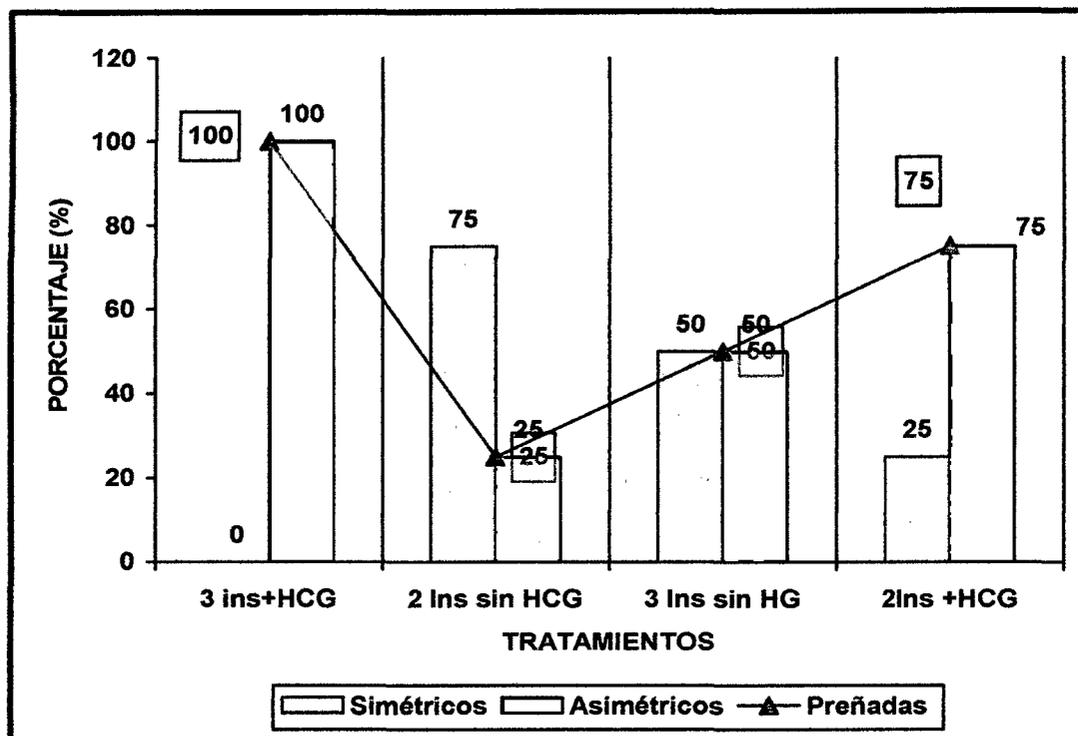


Figura 2. Simetría de los cuernos uterinos en asnas en el diagnóstico de preñez.

**TABLA 10.** Tamaño del útero en asnas preñadas y vacías, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TAMAÑO DEL ÚTERO	T <sub>1</sub> PGF2 $\alpha$ (Grupo Control)				T <sub>2</sub> PGF2 $\alpha$ + HCG (Grupo Experimental)			
	Inseminaciones				Inseminaciones			
	2		3		2		3	
	vacías	Preña- das	Vacías	Preña- das	vacías	Preña.	Vacías	Preña- das
<b>Simétricos</b>	03	00	02	00	01	00	00	00
<b>Asimétricos</b>	00	01	00	02	00	03	00	04
<b>PORCENTAJE</b>	<b>75</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>75</b>	<b>00</b>	<b>100</b>

**TABLA 11.** Tono del útero en asnas, durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	TONO DEL ÚTERO		
	Tendencia a Contracción Rápida y Fuerte	Se Contrae	Contracción Fuerte y Constante, frecuente retracción a la pelvis
Dos Inseminaciones sin HCG	25%	50%	25%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	00%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	25%	00%	75%
Tres Inseminaciones más HCG	00%	00%	100%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>04</b>	<b>02</b>	<b>10</b>

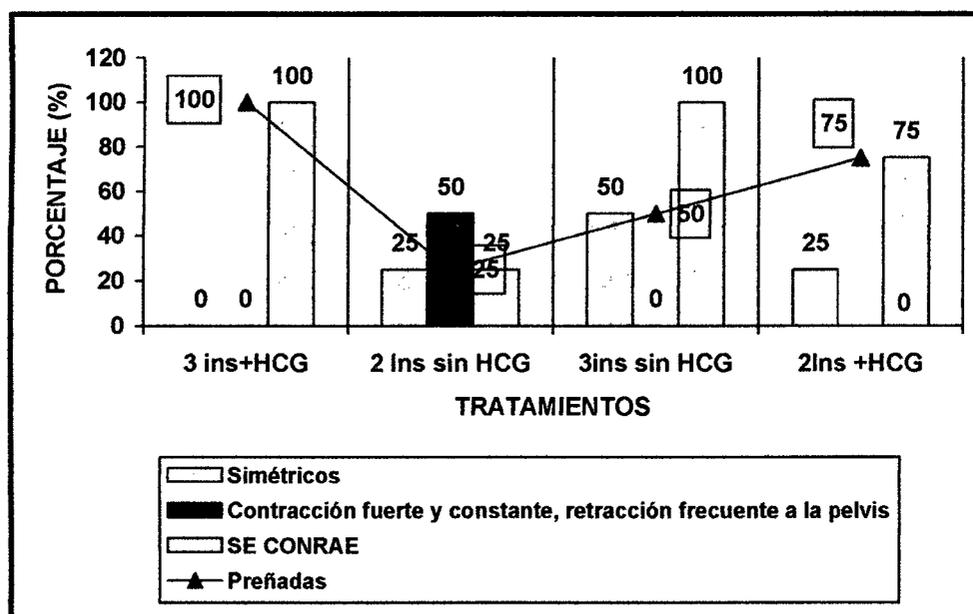


Figura 3. Tono del útero en asnas, durante el diagnóstico de preñez.

**TABLA 12.** Tono del Cérnix uterino en asnas, durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	TONO DEL ÚTERO		
	Contraído, Palpable, Con La Consistencia y Tamaño De Un Dedo	Flácido, Apenas Palpable	Difuso, No Palpable
Dos Inseminaciones sin HCG	25%	25%	50%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%	00%
Dos Inseminaciones más HCG	00%	75%	25%
Tres Inseminaciones más HCG	00%	100%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>03</b>	<b>10</b>	<b>03</b>

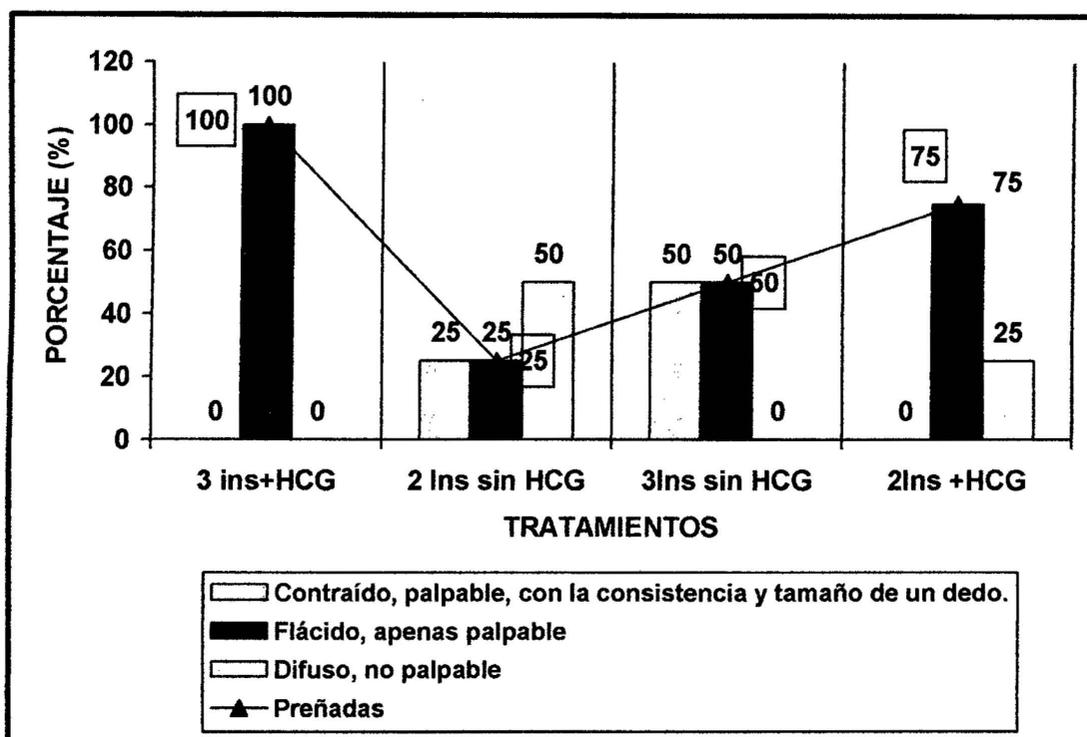


Figura 4. Tono del cérvix uterina en asnas en el diagnóstico de preñez.

**TABLA 13.** Tamaño de los ovarios en asnas, durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	TAMAÑO DE LOS OVARIOS EN EL DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ					
	OVARIO IZQUIERDO			OVARIO DERECHO		
	H2	H3	H4	H2	H3	H4
<b>Dos Inseminaciones sin HCG</b>	00%	00%	100%	100%	00%	00%
<b>Tres Inseminaciones sin HCG</b>	50%	50%	00%	50%	50%	00%
<b>Dos Inseminaciones más HCG</b>	50%	50%	00%	50%	25%	25%
<b>Tres Inseminaciones más HCG</b>	50%	00%	50%	50%	00%	50%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

Donde:

- H2. Huevo de Paloma (2 cm. aprox.)
- H3. Huevo de Gallina criolla (3 cm. aprox.)
- H4. Huevo de Gallina de Granja (4 cm.).

**TABLA 14.** Consistencia de los ovarios en asnas, durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	Consistencia Ovario Izquierdo			Consistencia Ovario Derecho			
	1	3	4	1	2	3	4
<b>Dos Inseminaciones sin HCG</b>	00%	75%	25%	75%	25%	00%	00%
<b>Tres Inseminaciones sin HCG</b>	50%	25%	25%	50%	00%	00%	50%
<b>Dos Inseminaciones más HCG</b>	50%	25%	25%	50%	00%	00%	50%
<b>Tres Inseminaciones más HCG</b>	50%	00%	50%	50%	00%	00%	50%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>5</b>

**Donde:**

1. Huevo de Codorniz (1 a 1.5 cm.)
2. Huevo de Paloma (2 cm.)
3. Huevo de Gallina Criolla (3 cm.)
4. Huevo de Gallina de Granja (4 cm.)

**TABLA 15.** Posición del Cérvix en asnas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	POSICIÓN DEL CÉRVIX	
	Alto	Piso
Dos Inseminaciones sin HCG	00%	100%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	75%	25%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>09</b>	<b>07</b>

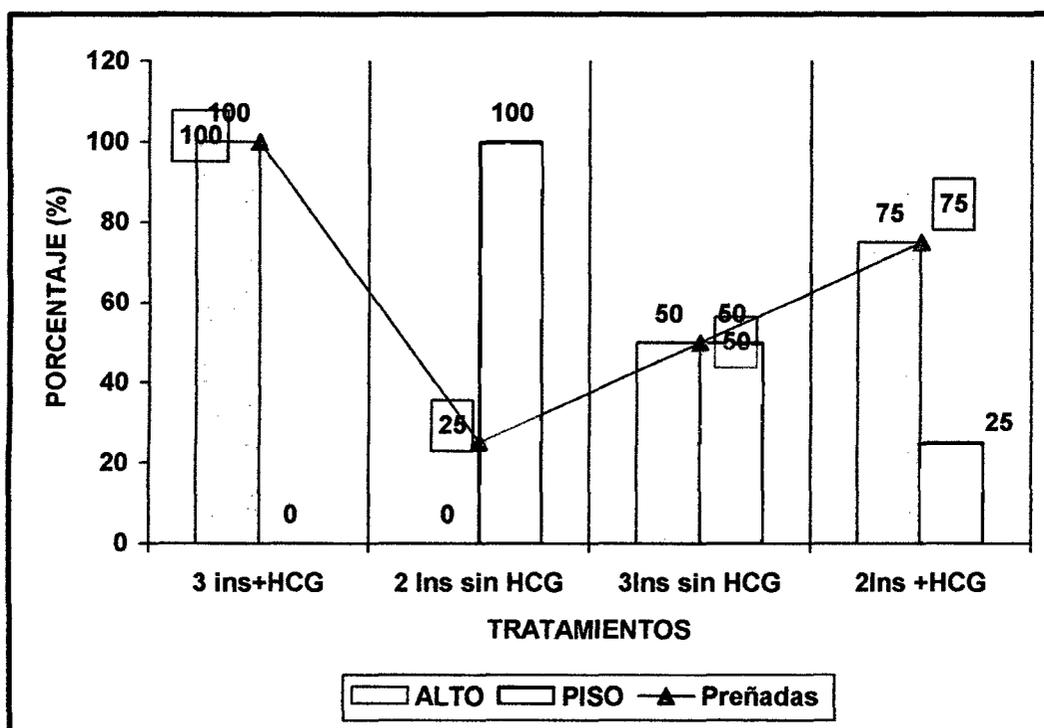


Figura 5. Posición del cérvix en el diagnóstico de preñez, entre tratamientos.

**TABLA 16.** Forma del Cérvix en asnas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	FORMA DEL CÉRVIX	
	Cónica sin abertura visible	Difuso
Dos Inseminaciones sin HCG	25%	75%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	75%	25%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>10</b>	<b>06</b>

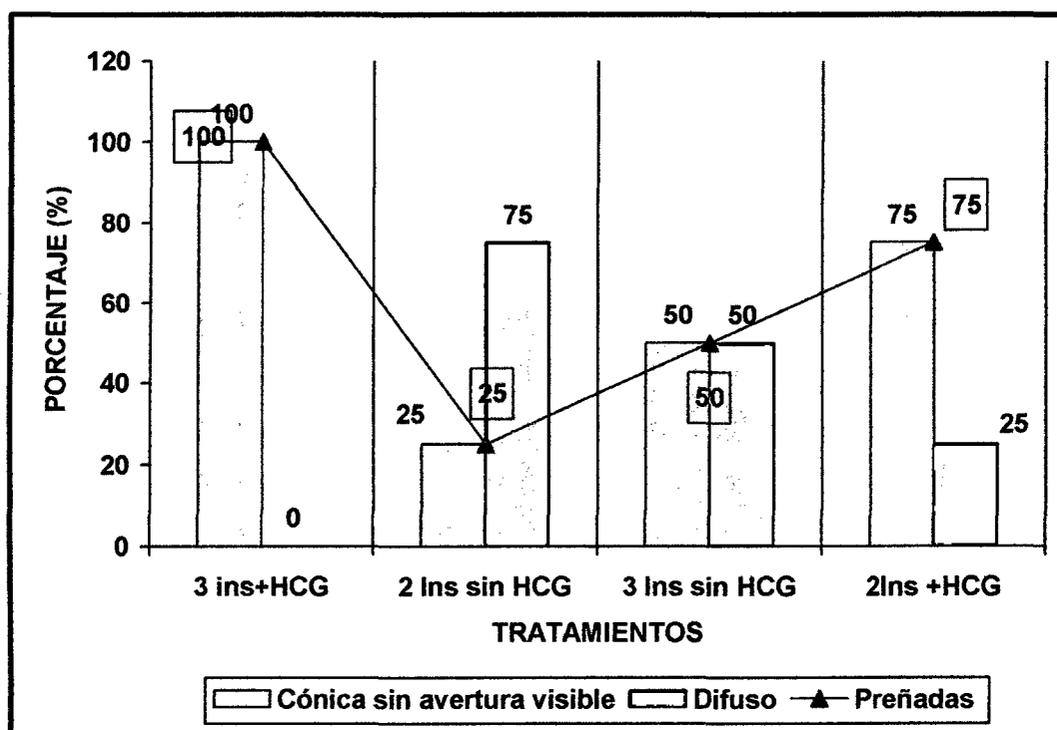


Figura 6. Forma del cérvix, durante el diagnóstico de preñez, en asnas.

**TABLA 17.** Forma del Cérvix en asnas, vacías y preñadas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

Forma	VACÍAS		PREÑADAS	
	N°	%	N°	%
❖ Cónica sin Abertura	00	00	10	100.0
❖ Cónica con abertura	01	16.7	00	00.0
❖ Cónica	01	16.7	00	00.0
❖ Roseta	02	33.3	00	00.0
❖ Flácida	01	16.7	00	00.0
❖ Difusa	01	16.7	00	00.0

**TABLA 18.** Abertura del Cérvix en asnas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

Tratamiento	ABERTURA DEL CERVIX		
	Completamente cerrado, con tapón mucoso	Permite el paso del grosor de 2 dedos	Permite el paso del grosor de 3 dedos
Dos Inseminaciones sin HCG	25%	75%	00%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%	00%
Dos Inseminaciones más HCG	75%	00%	25%
Tres Inseminaciones más HCG	100%	00%	00%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>1</b>

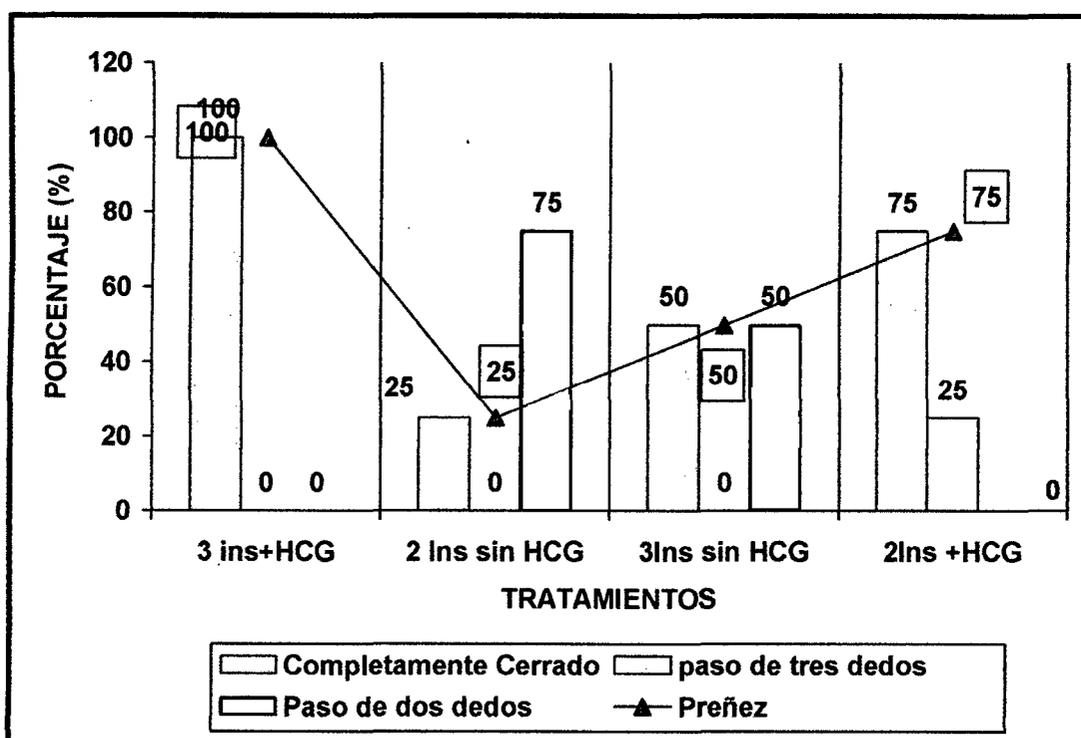


Figura 7. Abertura del cérvix en asnas, en el diagnóstico de preñez; vía transvaginal.

**TABLA 19.** Abertura del Cérvix en asnas, vacías y preñadas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

ABERTURA	VACÍAS		PREÑADAS	
	N°	%	N°	%
❖ Abierto	06	100	00	00
❖ Cerrado	00	00	10	100

**TABLA 20.** Coloración del Tracto genital en asnas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

Tratamiento	COLOR DEL TRACTO GENITAL	
	Amarillo plumizo	Hiperémico
Dos Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	25%	75%
Tres Inseminaciones más HCG	00%	100%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>05</b>	<b>11</b>

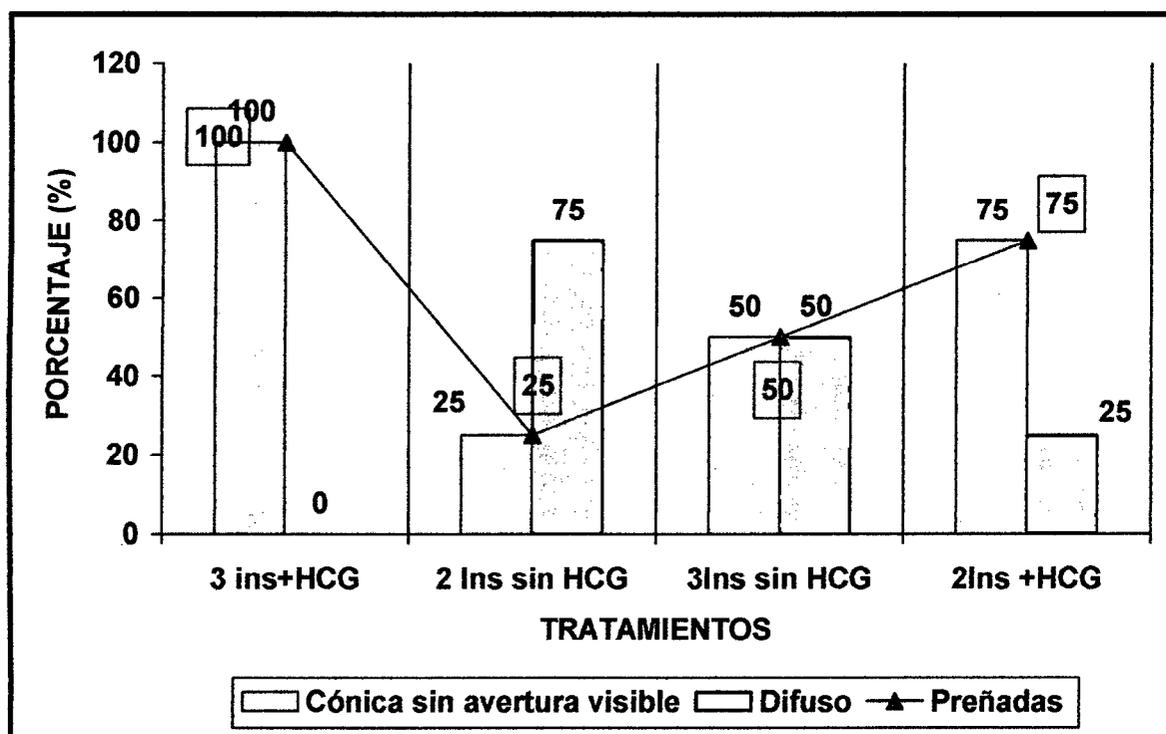


Figura 8. Coloración del tracto genital en asnas, por tratamiento, al diagnóstico de preñez.

**TABLA 21.** Grado de humedad del tracto genital en asnas, al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	GRADO DE HUMEDAD	
	Muy Húmedo Con secreción	Seco Pegajoso
Dos Inseminaciones sin HCG	75%	25%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	25%	75%
Tres Inseminaciones más HCG	00%	100%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>06</b>	<b>10</b>

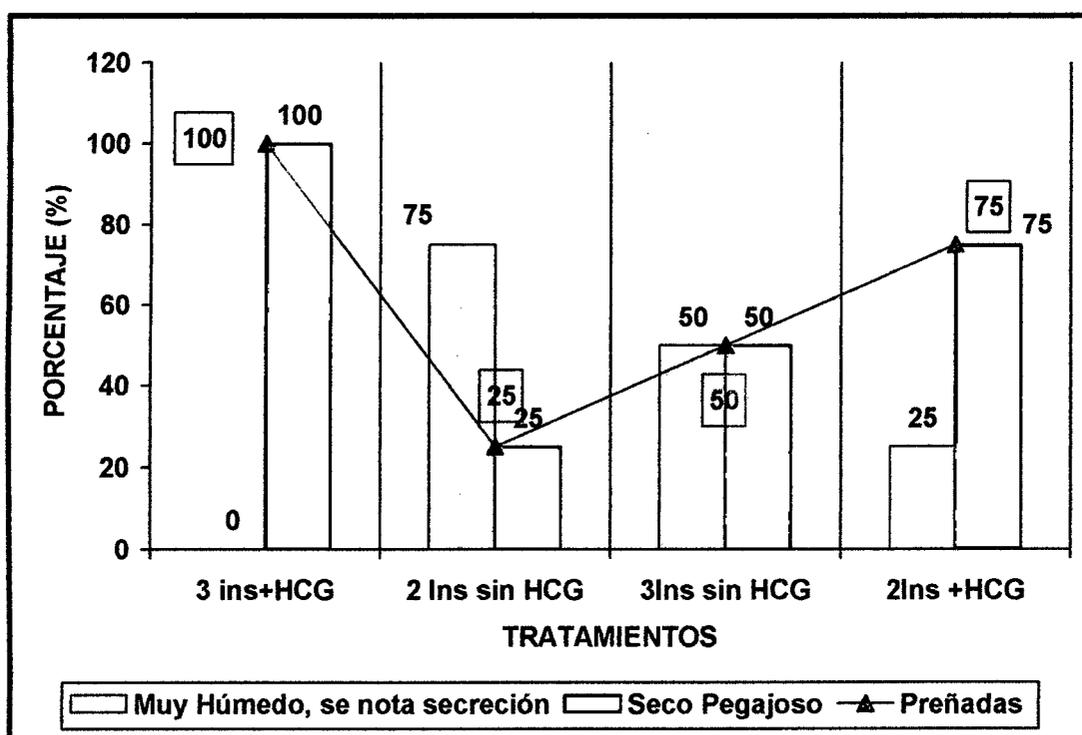


Figura 9. Grado de humedad del tracto genital en asnas, al diagnóstico de preñez transvaginal; por tratamiento.

**TABLA 22.** Grado de humedad del tracto genital en asnas, vacías y preñadas, observado al examen transvaginal durante el diagnóstico de preñez, distribuido por tratamiento y número de inseminaciones. Cajamarca, 2002.

GRADO DE HUMEDAD	ASNAS VACÍAS		ASNAS PREÑADAS	
	N°	%	N°	%
SECO PEGAJOSO	01	16.7	10	100
HÚMEDO	03	50.0	00	00
POCO HÚMEDO	02	33.3	00	00

#### 4.2. TASA DE FERTILIDAD, CON EL USO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ASNAS, CONSIDERADAS DESPUÉS DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

**TABLA 23.** Tasa de fertilidad en asnas sometidas a sincronización del estro e inseminación artificial, según tratamiento, Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	PORCENTAJE
Dos Inseminaciones sin HCG	25% b
Tres Inseminaciones sin HCG	50% ab
Dos Inseminaciones más HCG	75% ab
Tres Inseminaciones más HCG	100% a
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>16</b>

Donde: Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), a la prueba de LSD.

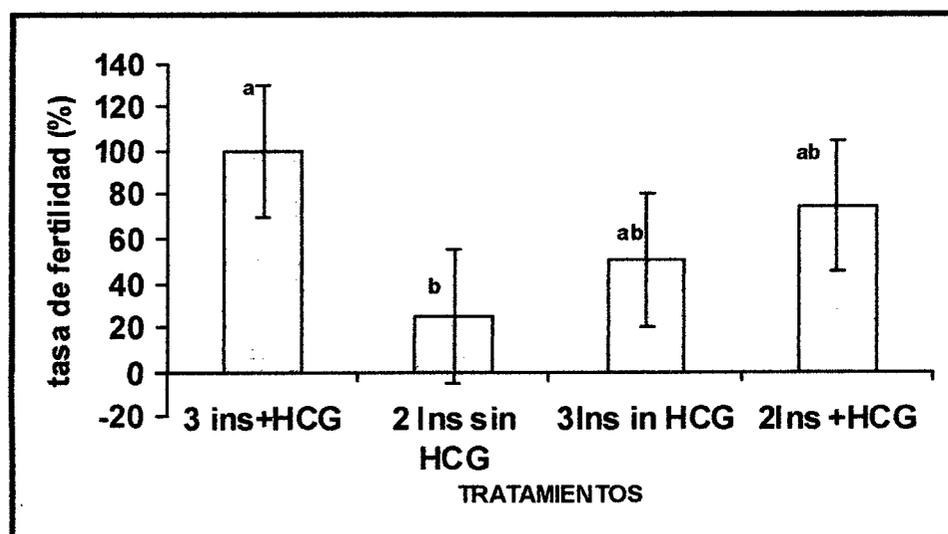


Figura 10. Porcentaje de fertilidad en asnas, sometidas a inseminación artificial, según tratamiento.

**TABLA 24.** Tamaño del útero, al examen transrectal, en el diagnóstico de preñez, en asnas sometidas a sincronización del estro e inseminación artificial, según tratamiento, Cajamarca, 2002.

TRATAMIENTO	TAMAÑO DEL ÚTERO	
	Mediano	Grande
Tres Inseminaciones más HCG	00%	100%
Dos Inseminaciones sin HCG	75%	25%
Tres Inseminaciones sin HCG	50%	50%
Dos Inseminaciones más HCG	25%	75%
<b>TOTAL DE ASNAS</b>	<b>6</b>	<b>10</b>

Donde:

Mediano: Grosor aproximado de un antebrazo de un niño

Grande: Grosor aproximado de un antebrazo de un adulto.

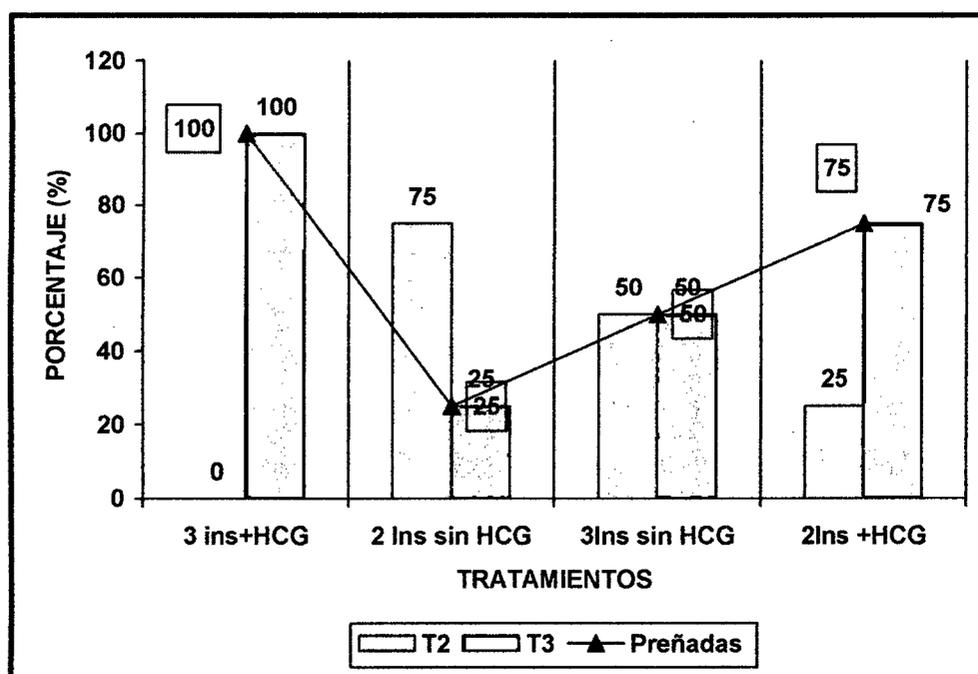


Figura 11. Tamaño del útero en asnas en el diagnóstico de preñez y tasa de fertilidad; T2: Mediano, y T3: Grande.

## **CAPÍTULO V**

### **DISCUSIÓN**

#### **5.1. DEL PESO VIVO Y EDAD DE LAS ASNAS**

El peso vivo de los animales fue diferente en todos los subgrupos, aún cuando se buscó la homogeneidad en su distribución, tanto a nivel de tratamientos como dentro de ellos. Diferencia que al análisis estadístico fue significativo a una  $P < 0,01$ ; registrándose los pesos más elevados en el T<sub>1</sub>, y dentro de éste, aquellos animales que recibieron dos inseminaciones.

La edad de los animales fue similar, no presentando diferencia significativa al análisis estadístico con una  $P > 0,05$ ; tanto entre tratamientos, como en los subgrupos, en cada tratamiento.

#### **5.2. SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN ASNAS, UTILIZANDO PGF<sub>2</sub>α**

La sincronización del estro, utilizando PG-F<sub>2</sub>α, generó, probablemente, una fase folicular, o estro grupal. Coincidiendo con Sisson y Grossman (1974). Luego del tratamiento se obtuvo estro en el 100% de las asnas. Asimismo, se encontró, antes del servicio de inseminación artificial, que un ovario es mayor que el otro, indistintamente, izquierdo o derecho. El ovario de mayor tamaño tiene una consistencia blanda y pastosa, en cambio el ovario de menor tamaño es duro y fibroso. Si comparamos el tamaño de los ovarios,

se puede decir, que éste va desde el tamaño de un huevo de paloma (2 cm aproximadamente), o un huevo de gallina criolla (3 cm aproximadamente), al tamaño de un huevo de pato (5 a 6 cm aproximadamente); coincidiendo con lo manifestado por Sisson y Grossman (1974).

### **5.3. EVALUACIÓN DEL ÚTERO Y CÉRVIX DE LAS ASNAS**

El 100% de las asnas evaluadas tuvieron un útero de tamaño mediano, con el grosor aproximado de un antebrazo de un niño, con una simetría de cuernos, y una forma difusa. El cérvix no fue de fácil palpación, siendo el tono del útero, en el T<sub>2</sub>, contraíble en un 25% y de tendencia a la contracción rápida y fuerte en el tercer servicio de inseminación artificial.

### **5.4. EVALUACIÓN DEL TAMAÑO Y CONSISTENCIA DE LOS OVARIOS**

El tamaño de los ovarios no tuvo influencia con el porcentaje de la preñez ( $P > 0.05$ ). Existió una relación inversamente proporcional entre el tamaño del ovario derecho con el ovario izquierdo ( $r = -0,79$ ), indicando que, a medida que la consistencia del ovario derecho cambia de una consistencia dura y fibrosa, a blando y pastoso; la consistencia del ovario izquierdo cambia de blando y pastoso a duro y fibroso ( $r = -0,90$ ).

Al incrementar el tamaño del ovario derecho, la consistencia cambia de duro y fibroso, a blando y pastoso, pasando de tenso a menos tenso ( $r = 0,87$ ). Cuando la consistencia del ovario derecho, cambia de dura y fibrosa hasta blanda y pastosa; el tamaño del ovario izquierdo disminuye ( $r = -0,79$ ).

Al cambiar la consistencia del ovario izquierdo desde duro y fibroso, pasando de tenso a menos tenso, blando fluctuante y llegar a blando pastoso; el tamaño del ovario derecho disminuye ( $r = -0,96$ ). Al incrementar el tamaño del ovario derecho, el ovario izquierdo disminuye ( $r = -0,79$ ). Al cambiar la consistencia del ovario izquierdo de duro fibroso a blando pastoso, aumenta el tamaño del ovario derecho. Cuando se somete al análisis estadístico, se encuentra una relación débil, entre el diagnóstico de preñez con el tamaño y consistencia de los ovarios.

#### **5.5. POSICIÓN, FORMA Y ABERTURA DEL CÉRVIX**

En los cuatro subgrupos existe una relación, casi directa, entre preñez y posición del cérvix. El 100% de cérvix se encuentran posicionadas casi al piso.

Las asnas de los subgrupos uno, tres y cuatro; presentaron una forma del cervix difusa, en cambio en el subgrupo dos, las asnas presentaron un 25% de forma difusa y el 75% de forma flácida.

El 100% de las asnas, del subgrupo cuatro ( $T_2$  con tres inseminaciones), permiten el paso, a través del cérvix, con una abertura del grosor de un dedo. En el subgrupo uno ( $T_1$  con dos inseminaciones) y subgrupo tres ( $T_2$  con dos inseminaciones) se registró una abertura del grosor de tres dedos, que permite el paso, a través del cérvix, en un 100% de las asnas. En cambio, en el subgrupo dos ( $T_1$  con tres inseminaciones) un 25% de las asnas, sólo permiten el paso, a través del cérvix, con una abertura del grosor de un dedo y el otro 75% de asnas, permite el paso, a través del cérvix, con una abertura del grosor de tres dedos.

## **5.6. COLOR DEL CÉRVIX**

El color predominante del cérvix fue el hiperémico (93,75% = 15/16), lo cual indica que las asnas, en ese momento presentan estro. Sólo en un caso se observó el cérvix con un color rosado, indicando que terminó el estro. En todos los casos se nota secreción cervical.

## **5.7. DURACIÓN DEL ESTRO EN LAS ASNAS**

En ambos tratamientos, la duración del estro fue similar ( $P > 0,05$ ), siendo, numéricamente, ligeramente mayor (6,5 días) en las asnas del  $T_2$ , en comparación con el  $T_1$  (5,5 días).

## **5.8. APARICIÓN DEL ESTRO EN ASNAS**

No existió una diferencia significativa en el tiempo de aparición del estro entre tratamientos ( $P > 0,05$ ), siendo mayor el tiempo del  $T_1$  (83 y 84 horas), comparado con el  $T_2$  (72 y 54 horas).

## **5.9. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

El programa de recolección y conservación de semen para la inseminación artificial, puede ser usado con éxito en todas las asnas que estén en condiciones óptimas de servicio, debido en primer lugar a que es el más simple de ejecutar, obteniendo una tasa de fertilidad en promedio del  $62,5\% \pm 32,3$ ; variación que es elevada, debido probablemente a los tratamientos y no a la inseminación en sí, ya que el semen fue evaluado de tal manera que se puede certificar el potencial reproductivo del semental, registrando entre otras evaluaciones sementales con 80% y 60% de espermatozoides con motilidad (valores óptimos); lo que es corroborado por Brinsko (1992),

quien indica que la fecundación puede fallar, entre otros, por el tiempo incorrecto de inseminación con respecto a la ovulación como en el caso de las asnas que no recibieron HCG (registrando un 25 y 50% de fecundación); encontrando probablemente gametos envejecidos. Si no se insemina en el momento adecuado, puede ocurrir que para cuando los gametos se encuentren, los espermatozoides hayan perdido su capacidad fecundante.

#### **5.10. TASA DE FERTILIDAD CON EL USO DE INSEMINACION ARTIFICIAL**

La mejor tasa de fertilidad fue para el subgrupo cuatro ( $T_2$  con tres inseminaciones) seguida por el subgrupo tres ( $T_2$  con dos Inseminaciones) subgrupo dos, y por último el subgrupo uno.

#### **5.11. TAMAÑO DEL UTERO**

Existe una correlación directamente proporcional entre el tamaño del útero y el diagnóstico positivo de preñez en las asnas.

#### **5.12. SIMETRÍA DE LOS CUERNOS UTERINOS**

Cuernos uterinos asimétricos son positivos al diagnóstico de preñez ( $r = 1$ ), y cuernos uterinos grandes son asimétricos ( $r = 1$ ). El mayor porcentaje de cuernos uterinos asimétricos fue en el cuarto subgrupo, seguido del tercero y luego el segundo. Existió una correlación directamente proporcional ( $r=0,999$ ) entre la simetría de los cuernos uterinos y la asnas preñadas; observándose que el 100% de asnas que tuvieron el útero grande, estuvieron preñadas.

### **5.13. TONO DEL ÚTERO**

Cuando en el tono del útero, la contracción es fuerte y constante, existiendo una frecuente retracción de la pelvis; las asnas están preñadas ( $r= 0,94$ ). Cuando el tono del útero tiene una tendencia a la contracción rápida y fuerte, las asnas no están preñadas.

### **5.14. DEL CERVIX**

Existe relación de la cervix con la preñez.

### **5.15. DEL TAMAÑO DE LOS OVARIOS**

No existe relación del tamaño de los ovarios derecho e izquierdo con la preñez positiva de las asnas, existiendo una relación inversamente proporcional ( $r= 0,86$ ) entre el tamaño del ovario derecho con el tamaño del ovario izquierdo; al diagnóstico de preñez.

### **5.16. CONSISTENCIA DE LOS OVARIOS**

Al pasar de una consistencia, el ovario derecho, de duro y fibroso a blando pastoso, pasando por la consistencia tensa y blanda, el ovario izquierdo que esta blando, pastoso se convierte en duro y fibroso ( $r= 0,94$ ). Al pasar de una consistencia, tanto el ovario derecho e izquierdo, de duro y fibroso a blando pastoso; se incrementa el tamaño de los ovarios. Al pasar de blando pastoso a duro fibroso, el tamaño de los ovarios disminuyen.

La actividad y funcionamiento de los ovarios, en las asnas, es demostrada por el efecto de la PG-F2 $\alpha$ , quien recupera la ciclicidad ovárica, debido a que la PG-F2 $\alpha$  desempeña una función básica en la

ruptura folicular, donde la inhibición de su síntesis impide la ovulación (manteniendo el oocito dentro del ovario). Manifestándose el efecto, por la presencia del estro; encontrándose el animal muy excitado, debido al incremento de estrógenos sanguíneos provenientes de la célula de la teca interna de los folículos maduros, desarrollados en el ovario; tal como lo afirman Ginther (1992), Hughes y col. (1975) y Pérez y Pérez (1976).

### **5.17. DE LA POSICIÓN DEL CÉRVIX**

Cuando el Cérvix se encuentra alto, existe una preñez ( $r= 0,88$ ). Cuando los cuernos son asimétricos, los cuernos se encuentran altos ( $r= 0,87$ ). Cuando los cuernos se encuentran altos, los cuernos son flácidos (los cuernos se palpan con dificultad, como una cámara de bicicleta); y cuando el cuerno se encuentra alto, el tamaño del útero es grande y del grosor aproximado de un antebrazo de un hombre adulto ( $r= 0,87$ ).

### **5.18. FORMA DEL CÉRVIX**

Todos los cérvix que tienen la forma cónica y sin abertura visible, nos indican que el animal está preñada ( $r= 0,99$ ); y todos los cérvix que tienen forma cónica, sin abertura visible; están en posición alta ( $r= 0,98$ ).

Todos los cuernos asimétricos tienen forma cónica sin abertura ( $r= 1$ ). El 33,3% de las asnas vacías, presentaron cérvix en forma de roseta. Cérvix cónico, abierto, flácido y difuso; se presentó en 16,7%. En las asnas preñadas, el 100% presentó un cérvix cónico y sin abertura. Por lo que, las asnas con cervix cónico, sin abertura (preñadas) representan el 62,5% y las asnas con cérvix difuso (vacías)

representan el 37,5%. Del T<sub>2</sub>, el 87,5% están preñadas, mientras que del T<sub>1</sub>, sólo el 37,5% resultaron preñadas.

### **5.19. ABERTURA DEL CÉRVIX EN ASNAS**

Todas las asnas que presentan cérvix completamente cerrado, están preñadas ( $r= 0,99$ ). Todos los cérvix que están completamente cerrados, tienen la forma cónica y sin abertura visible ( $r= 0,99$ ). Todos los cérvix que están completamente cerrados, se encuentran en posición alta ( $r= 0,89$ ).

La posición del fórnix, antes de la inseminación artificial, en todas las asnas, fue en el piso. La forma y posición del fórnix, no influyó. El 100% de asnas preñadas presentaron el cérvix cerrado, y el 100% de las asnas vacías, presentaron el cérvix abierto.

### **5.20. COLORACIÓN DEL TRACTO GENITAL**

Todas las asnas que presenten cérvix completamente cerrado, de forma cónica, con tapón mucoso, con un cuerno grande ( $r=0,87$ ) y asimétricos ( $r=0,92$ ); con un tono del útero fuerte y constante, con frecuente retracción a la pelvis ( $r=0,87$ ), de color hiperémico, están preñadas. ( $r= 0,88$ ).

### **5.21. GRADO DE HUMEDAD**

Al registrar asnas que tengan una coloración del tracto genital hiperémico ( $r=0,87$ ), con cuernos aumentados de tamaño ( $r= 1$ ), con un tono del útero de contracción fuerte y constante, frecuente retracción a la pelvis ( $r=0,94$ ), con un tamaño grande y con un grosor aproximadamente del antebrazo de un hombre adulto ( $r= 1$ ), que el

cérvix este completamente cerrado con tapón mucoso, con una forma cónica, sin abertura visible, con una posición del cérvix alto ( $r=0,87$ ), están preñadas ( $r=1$ ).

De seis asnas vacías, el 50% presentaron el cérvix húmedo; el 33,3% poco húmedo y el 16,7% seco y pegajoso. En cambio, de las diez asnas preñadas, el 100% mostraron un grado de humedad seco pegajoso.

La presencia de humedad en todas las asnas (100%), permite indicar que en la abertura del cérvix no existe la presencia del tapón cervical, lo que permite cumplir la función importante en el proceso de reproducción, que es la de facilitar el transporte del esperma por el moco cervical en la luz del útero, inclusive actuando como reservorio de espermias; coincidiendo con Sisson y Grossman (1974). Además cuando la cervix está abierta indica el calor, estando el cuello en el piso de la vagina con una secreción acuosa que permite la unión del esperma-óvulo; afirmado también por Langlois y Blouin (2004).

## **5.22. EVALUACIÓN DE LA TASA DE FERTILIDAD CON EL USO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ASNAS**

Para determinar la tasa de fertilidad de las asnas, en los cuatro subgrupos, se realizó el examen transrectal, concluyendo que las asnas que estuvieron preñadas el útero fue más grueso (del grosor del antebrazo de un hombre adulto), con asimetría de cuernos, con una contracción fuerte y constante con frecuente retracción a la pelvis del tono del útero; y las que no estuvieron preñadas, el útero fue del grosor del antebrazo de un niño, cuernos simétricos, con una tendencia a constricción rápida y fuerte tono del útero.

En el examen transvaginal, las asnas preñadas tuvieron una cérvix alta, con una forma cónica, sin abertura o completamente cerradas, con tapón mucoso y con una coloración de tracto genital hiperémico; con un grado de humedad seco y pegajoso.

Las mejores tasas de fertilidad fueron para los grupos de asnas que recibieron tres y dos inseminaciones más la aplicación de la gonadotropina coriónica humana, registrando un porcentaje del 100% y 75% de fertilidad, en cambio las que no recibieron la gonadotropina coriónica humana registraron un 50% (con tres inseminaciones) y 25% (dos inseminaciones), demostrando una óptima respuesta de dicha hormona por la alta fecundación, ya que la HCG, es una glucoproteína cuya sub unidad  $\alpha$  es igual a la unidad  $\alpha$  de la hormona luteinizante (LH), además cabe indicar que también la HCG tiene acciones tanto de LH como de FSH, con mayor predominio de la LH, lo que facilita la ovulación de las asnas, permitiendo sincronizar el momento de la ovulación con una mayor precisión para los fines de inseminación, con una mayor tasa de fertilidad (Ginther, 1992). Indicando que la LH está directamente asociada con la maduración final del folículo pre ovulatorio y el inicio de la ovulación, proceso que es involucrado con un complejo de interacciones de la LH con la prostaglandina y enzimas proteolíticas (Hughes y col., 1975).

Las asnas que no recibieron HCG, tuvieron una baja tasa de fertilidad en comparación a las asnas tratadas, esto probablemente se debe a que las ovulaciones se presentaron indistintamente, lo que es respaldado por lo manifestado por Sharp y col. (1992), quienes indicaron que las ovulaciones se realizan entre el primero al décimoprimer día del celo, con una media de 5 días, Pickles (1967) considera que en los celos de 4 a 11 días, la ovulación tendrá lugar en el penúltimo día; Langlois y Blouin (2004) demostraron que cuando los celos duran 5 días, las ovulaciones se presentan en el 58% al tercer

día, el 33% al cuarto día y sólo el 15% en el segundo. Las asnas con periodos de celos normales (3-5 días), tienen ovulaciones del tercer al quinto día, según lo manifestado por Pérez y Pérez (1976), y las asnas con celo prolongado (más de 6 días de duración), las ovulaciones tienen lugar al sexto, octavo y noveno día, según los casos.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1. La mayor tasa de fertilidad (100%) fue para el grupo de asnas a las que se les aplicó tres repeticiones de inseminación artificial más HCG, seguida por el grupo de asnas con dos inseminaciones más HCG (75%), luego las que recibieron tres inseminaciones sin HCG (50%) y por último las de dos inseminaciones sin HCG (25%).
2. El 100% de las asnas tuvieron el útero de tamaño mediano (grosor aproximado de un antebrazo de un niño), con una simetría de cuernos y forma difusa; en las que no fue posible palpar el cérvix.
3. El uso de prostaglandinas más la hormona coriónica humana (HCG) es de gran importancia para lograr una buena fertilidad en la sincronización del estro, y manejar bien una buena inseminación artificial en equinos.
4. Existe una correlación directamente proporcional ( $r= 0,99$ ) entre el tamaño del útero, cuernos asimétricos y el diagnóstico positivo de preñez.

5. En las asnas que no se encuentran gestando, el tamaño del útero es mediano; del grosor aproximado de un antebrazo de un niño.
6. Cuando la contracción en el tono del útero, es fuerte y constante con frecuente retracción de la pelvis, indica un diagnóstico positivo de preñez de las asnas ( $r= 0,94$ ).
7. Existe relación entre el tono, tamaño del cérvix y los ovarios (derecho e izquierdo) con la presencia de preñez; existiendo una relación inversamente proporcional ( $r= 0,86$ ) entre el tamaño del ovario derecho con el tamaño del ovario izquierdo; al diagnóstico de preñez.
8. Cuando la cerviz y los cuernos asimétricos son flácidos, el útero es grande y se encuentra alto; la preñez es positiva.
9. Todas las cérvix que tienen forma cónica, sin abertura visible ( $r= 0,99$ ), con tapón mucoso ( $r= 0,87$ ), con el tono del útero fuerte y constante y frecuente contracción a la pelvis ( $r= 0,87$ ); y que tengan una coloración hiperémica, y que el grado de humedad sea seco y pegajoso; están preñadas ( $r= 0,88$ ).

## CAPÍTULO VII

### BIBLIOGRAFÍA

1. Arana Sevillano M. 1987. Salud y Producción Equina. Libro de Resúmenes Cajamarca- Perú.
2. Bogdan. 1985. Reproducción en los Animales Domésticos. EDT. Dacia. Bucarest- Rumania.
3. Brinsko, S.P.; Varner, D.D. 1992. Artificial Insemination and Preservation of Semen. In: Blanchard T.L., Varner D.D. eds. Stallion Management Vet Clinics North America: Equine Practice, 8:205-218.
4. Cerna, C.; Deza, T.; LLuén, G. 1995. Reproducción de los animales domésticos. Edt. CONCYTEC –PERÚ.
5. Chiesa, José Angel Luis y Petersen, Ana. 1983. El ABC de las prostaglandinas. Editorial Ediciones Toray S.A. Length, 239 pág.
6. Deza; Correa; Guevara. 1995. Sincronización del Celo e Inseminación Artificial en yeguas de la raza Caballo de Paso Peruano.- Tesis UNC- Cajamarca. Perú.
7. Ginther, O.J. 1992. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Cross Plains: Equiservices. 2ª ed.; 642 p.
8. Goodman, Louis Sanford y Gilman, Alfred. 2007. Bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Mc Graw Hill, 11º Edición, México.
9. Hughes, J.P.; Stabenfeldt, G.H.; Kennedy, P.C. 1975. The Estrous Cycle and Selected Functional and Pathologic Ovarian Abnormalities in the Mare. Vet Clin North Am (Large Animal Practice), 2:225-239.

10. Jaffes, R.B. 2003. Protein, hormones of the placenta, and fetal membranes. En Yen Sand Jaffe R. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management, W.P. Saunders Co., Philadelphia.
11. Laboratorio Hoechst. 1981. Iliren. Boletín Informativo,
12. Laboratorio Upjhon. 1982. Prostaglandinas. Boletín Informativo.
13. Langlois, B.; Blouin, C. 2004. Practical efficiency of breeding value estimations based on annual earnings of horses for jumping, Trotting and galloping races in France. *Livestock Production Science*. 87:99 –107.
14. Luna de la Puente. 1986. El Caballo Peruano. Edt. Banco Agrario. Perú.
15. Mc. Donald. 1976. Reproducción Animal. Edt. Acribia. Zaragoza - España.
16. Malpaux, B.; Robinson, J.E.; Brown, M.B.; Karsch, F.J. 1988. Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of breeding season in the Suffolk ewe. *J. Reprod. Fertil.* 83, 461–470.
17. Malpaux, B.; Thiery, J.C.; Chemineau, P. 1999. Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 39, 355–366.
18. Palmer, E.; Guillaume, D. 1992. Photoperiodism in the equine species – what is a long night. *Anim. Reprod. Sci.* 28, 21–30.
19. Pérez y Pérez. 1976. Fisiopatología de la Reproducción Animal. Edt. Científico Médica, Madrid - España.
20. Pickett, B.W. 1993. Seminal Extenders and Cooled Semen. In: Mc Kinnon, A.O.; Voss, J.L. Eds. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea and Febiger, 746-754 p.
21. Pickles, V. 1967. The Myometrium Actions of Six Prostaglandins: Consideration of a receptor hypothesis. In: Nobel Symposium. Prostaglandins. Edited by Bergstrom and Samuelson Stock-Holm. Almquist&Wicksell, Sweden; 2:79-83.
22. Sharp; Rossdale; Saskatoon y Hopkins. 1992. Reproducción. En: Robinson, N. E.; *Terapéutica actual en Medicina Equina*. 2º edición. Editorial Prensa Veterinaria Argentina, Buenos Aires - Argentina.

23. Sisson y Grosman. 1974. Anatomía de los Animales Domésticos. Salvat Editores - España.
24. Sorrensen. 1983. "Reproducción Animal, Principios y Prácticas". Edt. Hemisferio Sur- Argentina.
25. Virgill, Paraipan. 1983. Hormonoterapia en Reproducción Animal. Ceres-Bucarest - Rumania.
26. Yehude, Simón. 1981. Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Perú.
27. Wathen, C.W. 2010. The Mating Game: Meet the Zedonk, More Animal Hybrids.

## ANEXO

### ANEXO 1. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA PESO.

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de T	Prob.
Tratamiento (A)	01	15500.3	15500.3	13.39	0.0033
Inseminación B	01	1681.00	1681.00	1.45	0.2514
A*B	01	225.000	225.000	0.19	0.6671
Error	12	13887.5	1157.29		
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>31293.8</b>			

Coefficiente de variación: 14.56%

### ANEXO 2. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA INSEMINACIONES.

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de T	Prob.
<b>Tratamiento (A)</b>					
(A)	01	0.39063	0.39063	0.61	0.4500
<b>Inseminación B</b>					
B	01	0.39063	0.39063	0.61	0.4500
<b>A*B</b>					
A*B	12	7.68750	0.64063	0.22	0.6478
<b>Error</b>					
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>8.60938</b>			

Coefficiente de variación 18: 16%

### ANEXO 3. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA FERTILIDAD.

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de T	Prob.
<b>Tratamiento (A)</b>					
(A)	01	10000.0	10000.0	4.80	0.0489
<b>Inseminación B</b>					
B	01	2500.00	2500.00	1.20	0.2948
<b>A*B</b>					
A*B	01	8.453E-31	8.453E-31	0.00	1.0000
<b>Error</b>					
A*B	12	25000.0	2083.33		
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>8.60938</b>			

Coefficiente de variación: 53.33%

**ANEXO 4. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN.**

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de F	Prob.
Tratamiento (A)	01	9080.84	9080.84	4.00	0.0708
Inseminación B	01	2347.41	2347.41	1.03	0.3311
A*B	01	0.32155	0.32155	0.00	0.9907
Error	11	24980.2	2270.92		
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>36408.7</b>			

**ANEXO 5. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA DURACIÓN DEL ESTRO.**

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de F	Prob.
Tratamiento (A)	01	5.06250	5.06250	16.20	0.0017
Inseminación B	01	0.06250	0.06250	0.20	0.6627
A*B	01	0.06250	0.06250	0.20	0.6627
Error	12	3.75000			
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>3.75000</b>			

Coefficiente de variación: 9.41%

**ANEXO 6. ANÁLISIS DE VARIANCA DE ARREGLO FACTORIAL DE 2\*2 PARA LA APARICIÓN DEL CELO.**

Fuente de Variación	Grados Libres	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Prueba de F	Prob.
Tratamiento (A)	01	1681.00	1681.00	7.09	0.0207
Inseminación B	01	289.000	289.000	1.22	0.2911
A*B	01	361.000	361.000	1.52	0.2708
Error	12	2844.00	237.000		
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>5175.00</b>			

Coefficiente de variación: 21%

**ANEXO 7. ANÁLISIS DE VARIANCIAS DE APARICIÓN DEL CELO POST APLICACIÓN DE PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$ .**

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados Libres</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrados Medios</b>	<b>Prueba de F</b>	<b>Prob.</b>
<b>Tratamiento (A)</b>	01	2209.00	2209.00	12.81	0.0030
<b>Error</b>	14	2414.00	172.429		
<b>Total</b>	15	4623			

Coeficiente de variación: 18.30%

**ANEXO 8. IDENTIFICACIÓN DE LAS ASNAS APTAS PARA LA  
SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO E INSEMINACIÓN  
ARTIFICIAL.**

<b>N° ASNA</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>EDAD AÑOS</b>	<b>FILIACIÓN</b>
1	VIRGINIA	3.5	Mora oscura,
2	MISHA	3.5	Mora clara
3	KATIA	4.5	Mora oscuro
4	TISÚ	4.0	Mora Clara
5	SABINA	4.5	Mora Oscura
6	DORIS	4.5	Mora Oscura
7	VILLANUEVA 1	5.0	Mora Blanca
8	VILLANUEVA 2	5.0	Mora Blanca
9	SHANA	4.5	Mora Blanca
10	MORA	5.0	Mora Oscura
11	BERNACIA	5.5	Mora Blanca
12	SINVESELOZA	4.5	Blanca
13	DE LUJO	5.0	Mora Oscura
14	FIDELINA	5.5	Blanca
15	SAIN	4.5	Mora Clara
16	NELLY	5.0	Mora Oscura

Todas aptas para el servicio reproductivo.

Antes de efectuar la sincronización, se las desparasitó con ivermectina al 1% en dosis de 1 ml por 40 kg de peso vivo y luego de 4 días se les aplicó un golpe vitamínico (ADE) y micronutrientes (Tonofosfan).

**ANEXO 9. IDENTIFICACIÓN DE LOS POTROS.**

<b>Nº POTRO</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>FILIACIÓN (COLOR)</b>
1	FURIA	4	Castaño Crin Lavado
2	TELÉMACO	6	Moro claro
3	PITUCO	5	Zaino
4	VALENTINO	6	Negro Azabache

**ANEXO 10. CD CON EL DESARROLLO DE TODOS LOS PASOS DE  
LA PARTE PRÁCTICA DE LA TESIS.**