

January 2007

## Evaluación del tratamiento superovulatorio con extracto de hipófisis equina en yeguas criollas

José Luis Porras Vargas  
UPTC, joselvisporras@hotmail.com

Julián Leonardo Castro Urquijo  
scastro@tunja.uptc.edu.co

Juan Gabriel Abril Abril  
abrilvet@yahoo.com

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

---

### Citación recomendada

Porras Vargas JL, Castro Urquijo JL y Abril Abril JG. Evaluación del tratamiento superovulatorio con extracto de hipófisis equina en yeguas criollas. Rev Med Vet. 2007;(14): 51-60.

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

# Evaluación del tratamiento superovulatorio con extracto de hipófisis equina en yeguas criollas<sup>1</sup>

Juan Gabriel Abril Abril\* / Julián Leonardo Castro Urquijo\*\*  
José Luis Porras Vargas\*\*\*

## RESUMEN

Se evaluó la respuesta superovulatoria en yeguas criollas a las cuales se aplicó extracto de hipófisis equina (EHE) en dos diferentes dosis, comparada con FSH de origen porcino (Folltropin V). Se tomaron 20 yeguas criollas colombianas cíclicas con edades entre 2 y 8 años (5, 3 años en promedio) las cuales fueron seleccionadas y asignadas al azar en 4 grupos así: Grupo 1 también llamado grupo control (T1): se les aplicó 5cc suero fisiológico IM (a.m., p.m.); Grupo 2 (T2): 6,25mg Folltropin-v (FSH-P) IM (a.m., p.m.); Grupo 3 (T3): 8,3mg EHE IM (a.m., p.m.); Grupo 4 (T4): 12,5mg EHE IM (a.m., p.m.). Los tratamientos se iniciaron 7 días después de haber detectado una ovulación mediante ultrasonografía, el día 8 se aplicaron 12,5 mg  $PgF_{2\alpha}$  vía IM. El tratamiento con EHE se suspendió cuando la mayoría de los folículos alcanzaron un tamaño  $\geq 35$ mm, momento en el cual se aplicaron 2500 UI de hCG vía IV, seguida de inseminación artificial. Entre el día 7 u 8 se realizaron las colectas de embriones mediante lavado uterino de circuito cerrado. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza por una vía (ANOVA),

determinando el promedio de crecimiento folicular entre el día del inicio del tratamiento y la ovulación, el número de folículos preovulatorios con un tamaño  $\geq 35$ mm, el número de días de tratamiento y la cantidad de embriones colectados en cada grupo. Se realizó una prueba de rango o comparación múltiple de Duncan para observar las diferencias entre grupos y se determinó por análisis de relación el estado y la calidad de los embriones en cada tratamiento para determinar la viabilidad. Los resultados obtenidos demostraron que en T4 se desarrolló un mayor número de folículos  $\geq 35$ mm en comparación con los demás grupos ( $p < 0.005$ ) en 7,4 días de tratamiento, mayor tasa de crecimiento folicular (3,01 mm/día), mayor número de ovulaciones por tratamiento (2,8) y mayor número de embriones colectados por yegua (1,6), siendo este (T4) el tratamiento de mejores resultados respecto a los demás realizados en este trabajo.

**Palabras clave:** superovulación, extracto de hipófisis equina, hipófisis, FSH.

<sup>1</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tunja.

\* Médico Veterinario y Zootecnista, UPTC, Tunja. Correo electrónico: abrilvet@yahoo.com

\*\* Médico Veterinario y Zootecnista, UPTC, Tunja. Correo electrónico: scastro@tunja.uptc.edu.co

\*\*\* MVZ. Esp. Reproducción Bovina Tropical y Transferencia de Embriones. Docente área de Reproducción animal, Genética y Mejoramiento animal, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UPTC, Tunja. Correo electrónico: joselvisporras@hotmail.com

Fecha de recepción: 10 de enero de 2007.

Fecha de aprobación: 4 de septiembre de 2007.

## **EVALUATION OF SUPEROVULATORY TREATMENT WITH EXTRACT OF EQUINE HYPHYPHYSIS IN CREOLE MARES.**

### **ABSTRACT**

It was evaluated the super-ovulatory answer in creole mares which were administered with equine hypophysis extract (EHE) in two different doses, compared to FSH of porcine origin (Folltropin V). Twenty cyclical Colombian creole mares were taken whose ages oscillated between 2 and 8 years (5,3 years on average) which were randomly selected and assigned to the following four groups: Group 1 also called control group (T1): This group was administered with 5cc of saline solution IM (a.m. , p.m.); Group 2 (T2): 6,25 mg of Folltropin- v (FSH-P) IM (a.m., p.m.); Group 3 (T3): 8,3mg EHE IM (a.m., p.m.); Group 4 (T4): 12,5 mg EHE IM (a.m., p.m.). The treatments started seven days after the detection of an ovulation by ultrasound, the 8<sup>th</sup> day 12,5mg PgF<sub>2alfa</sub> were administered intramuscular (IM) via. The treatment with EHE was canceled when most of the follicles reached a size  $\geq 35$  mm, at that point 2500 UI of hCG were administered IV (intravenous via), followed by artificial insemination. Between the 7<sup>th</sup> or 8<sup>th</sup> day the embryos were collected by means of intrauteri-

ne pumping. A one way variance analysis (ANOVA) was done specifying the follicular growing between the day of the beginning of treatment and the ovulation, the number of pre-ovulatory follicles sized  $\geq 35$ mm, the number of treatment days and the quantity of embryos collected on each group. A rank test or Duncan multiple comparison was carried out to see differences between the groups, and the condition and the quality of the embryos on each kind of treatment to determine the viability was determined through a relation analysis. The results showed that T4 group developed a higher number of follicles  $\geq 35$  mm in comparison to the rest of the groups ( $p < 0.005$ ) in 7,4 days of treatment, higher rate of follicle growing (3,01mm/day), higher number of ovulations per treatment (2,8) and a higher number of collected embryos per mare (1,6). So, T4 showed the best results in comparison to the results of the other groups in this work.

**Key words:** Super ovulation, Equine Hypophysis Extract, Hypophysis, FSH.

## INTRODUCCIÓN

Las biotecnologías de reproducción animal han permitido un incremento vertiginoso y sostenido en el desarrollo genético, zootécnico y sanitario de los criaderos equinos, inicialmente con la inseminación artificial que hoy en día se maneja a nivel mundial.

En los últimos años, se han logrado notables avances en la tecnología de la transferencia de embriones y las técnicas asociadas (superovulación), micro manipulación y conservación de los embriones, las cuales están rebasando la fase experimental, para convertirse en herramientas útiles en las explotaciones equinas modernas.

La hembra equina posee millares de folículos al nacimiento, constituyendo una gran reserva folicular (Downs, 1993) de los cuales apenas 0,01% resulta en ovulaciones durante la vida reproductiva, ocurriendo atresia de los demás que no logran recorrer las fases de crecimiento y maduración, de manera que en condiciones naturales es mínima la descendencia por su propia naturaleza de especie monotoca, que sólo le permite liberar un ovocito y en pocas ocasiones dos por cada ciclo estral, alcanzando un promedio de ocho partos durante toda su vida reproductiva, lo que representa una subutilización de las potencialidades genéticas y un lento progreso económico.

El objetivo principal de la superovulación es el de elevar la eficiencia reproductiva y económica en los programas de transferencia de embriones por métodos convencionales y aun por métodos de fertilización *in vitro*, puesto que con la multiplicación del número de ovulaciones se tendría un mayor número de embriones por donadora que serán recuperados en una misma colecta. Un proceso de superovulación también puede aumentar la tasa de fertilidad en los reproductores subfértiles (mayor chance de fertilizar un oocito) y de yeguas subfértiles por propiciar un mayor número de ovulaciones y, consecuentemente, una mayor expectativa para la fertilización (McCue, 1996).

Las drogas utilizadas rutinariamente para superovular otras especies no han sido efectivas para la especie equina, el extracto de hipófisis equina EHE es el único que tentativamente puede hacerlo, se debe trabajar en la estandarización de la técnica de extracción del compuesto y en la estandarización del protocolo en sí que incluya inicio del tratamiento, duración, dosis, intervalo de aplicación y otras interrogantes.

La transferencia de embriones consiste en la colecta de un oocito fecundado (embrión) de una yegua donadora de genética superior el cual es transferido o sembrado en el útero de otra yegua denominada receptora que tiene como función la de gestar y criar un potro de alta calidad.

El presente reporte describe los resultados obtenidos de un estudio en el que se comparó la respuesta superovulatoria administrando dosis constantes de Extracto de Hipófisis Equina (EHE), dos veces al día en yeguas criollas colombianas contra tratamientos convencionales utilizados en otras especies como la FSH de origen porcino (FSH-P).

El EHE ha sido usado en estudios iniciales de superovulación equina a partir de la utilización de la preparación de gonadotropinas crudas obtenidas de glándulas hipófisis equinas usando la técnica informada por Braselton y Mcshan (1970). Además, ha sido reportado como una sustancia útil para aumentar el desarrollo folicular en yeguas, a pesar de generar respuestas bajas e inconsistentes en comparación con los resultados superovulatorios obtenidos en rumiantes (Scoggin, *et al*, 2002). Sin embargo el único compuesto que regularmente induce una respuesta superovulatoria en yeguas es el EHE (Alvarenga *et al.*, 2001).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta al tratamiento superovulatorio con la aplicación vía intramuscular de EHE en yeguas criollas determinando la tasa de crecimiento folicular por día,

el número de folículos preovulatorios por cada yegua tratada y la cantidad de embriones colectados con dos protocolos distintos de aplicación y comparándolo con FSH porcina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la hacienda Tajamar, municipio de Tibasosa, Departamento de Boyacá, Colombia, durante los meses de agosto a diciembre de 2004.

Las hipófisis fueron obtenidas de 800 yeguas que ingresaron al matadero Los Cristales del municipio de Mosquera, Cundinamarca y fueron llevadas al laboratorio del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) seccional Sogamoso sumergidas en una solución de acetona a una temperatura de 3° C.

Para la elaboración del extracto se desarrolló la técnica diseñada por Vargas y Velásquez (1984) en hipófisis de humanos en la que al extraer cada glándula se limpian, se pesan y se sumergen en acetona a 3° C durante 24 horas, luego se maceran y se resuspenden en TRIS-HCL con pH de 8,7, luego se centrifugan a 2500 rpm durante 6 horas (S1\* y R1\*). Bajo las mismas condiciones se realizaron dos extracciones más (S2\* y R2\*) y (S3\* y R3\*). Se reunieron los sobrenadantes (S1) y se procedió a la extracción integral de las diferentes hormonas.

La fracción correspondiente a las glicoproteínas R4 (FSH, LH, TSH) se obtuvo a partir del sobrenadante S1 mediante precipitación por adición lenta y con agitación de etanol absoluto frío. La mezcla se dejó en reposo en frío por 60 horas y se centrifugó a 2500 rpm durante 4 horas.

Se eliminó el sobrenadante y el precipitado R4 se lavó con etanol absoluto y éter y se dejó secar. Luego se pesó y nuevamente fue disuelto en acetato de amonio y mediante precipitación por adición lenta y con agitación de etanol absoluto frío se dejó en reposo

durante 12 horas, se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto durante 3,5 horas (G1). Al sobrenadante se le realizaron dos extracciones más (G2 y G3). Posteriormente, se eliminó el sobrenadante para obtener un residuo (Gt), el cual fue reconstituido usando solución salina fisiológica estéril a una concentración de 10mg/ml, se dejó en agitación durante 12 horas a 4° C, para su posterior aplicación.

Se utilizaron 20 yeguas criollas colombianas seleccionadas sin cría, con edad media de 5,3 años, peso promedio de 275 kilos y buena condición corporal. Estas yeguas fueron sometidas a exámenes ginecológicos y seguimiento ecográfico al ingreso y durante dos meses antes del inicio de los tratamientos, verificando que estuvieran vacías, ciclando normalmente, con úteros en condiciones sanas y ovarios sin anomalías. Fueron mantenidas en pastoreo de kikujo y alfalfa con suplemento de avena en estado de floración, caña fresca de maíz y agua a voluntad.

La información acerca del crecimiento folicular y la ovulación fue tomada a partir de la palpación rectal y ultrasonografía realizada diariamente a todas las yeguas estudiadas.

Las 20 yeguas fueron distribuidas al azar en cuatro grupos (n=5/grupo) una vez detectada la ovulación así:

- **Grupo 1 (grupo control) T1:** se les aplicó 5cc suero fisiológico vía intramuscular dos veces al día (a.m., p.m.).
- **Grupo 2, T2:** 6,25mg Foltropin-v (extracto pituitario porcino) vía intramuscular (a.m., p.m.).
- **Grupo 3, T3:** 8,3mg Extracto de Hipófisis Equina (EHE) vía intramuscular (a.m., p.m.).
- **Grupo 4 T4:** 12,5mg Extracto de Hipófisis Equina (EHE) vía intramuscular (a.m., p.m.).

En los cuatro grupos el tratamiento se inició siete días postovulación por un período máximo de 10 días. El

día 8 postovulación (segundo día del tratamiento) se aplicó 12,5 mg PgF<sub>2alfa</sub> IM para inducir la luteólisis. El tratamiento con EHE se suspendió cuando la mayoría de los folículos alcanzaron un tamaño ≥ 35mm; en este momento se aplicaron 2500 UI hCG IV para inducir la ovulación. La aplicación de hCG se repitió 24 horas después si al examen ecográfico se detectaba la presencia de folículos ≥ 35mm.

La Inseminación Artificial se realizó inmediatamente después de la aplicación de hCG, con semen diluido a una dosis de 1x10<sup>9</sup> espermatozoides motiles progresivos, se repitió a las 24 horas (inmediatamente después de la aplicación de la segunda dosis de hCG), en caso de verificar la presencia de folículos preovulatorios con un tamaño ≥ 35mm.

Luego se realizó la colecta de embriones siete a ocho días después de ocurrido el mayor número de ovulaciones en cada yegua mediante el método de colecta no quirúrgico utilizando solución de ringer lactato como medio de lavado y se procedió a la búsqueda

y clasificación de los embriones utilizando Holding como medio de mantenimiento.

Finalmente, utilizando un análisis de varianza por una vía (ANOVA) se determinó el promedio de crecimiento folicular, el tratamiento con el cual se obtuvo un mayor número de folículos con tamaño ≥ 35mm, promedio de días de tratamiento para cada grupo, promedio de ovulaciones por yegua, promedio de yeguas con dos o más ovulaciones y promedio de embriones recuperados por yegua. Se aplicó una prueba de rango o comparación múltiple de Duncan para observar las diferencias entre grupos y se determinó por análisis de relación el estado y la calidad de los embriones en cada tratamiento para determinar la viabilidad.

## RESULTADOS

En las tablas 1 y 2 se presentan los resultados de la respuesta superovulatoria a los distintos tratamientos y la tasa de colecta embrionaria respectivamente.

**TABLA 1. RESPUESTA SUPEROVULATORIA EN YEGUAS TRATADAS CON PLACEBO (5 ML), FSH- P (6,25 MG) Y EHE (8,3 Y 12,5 MG RESPECTIVAMENTE) DOS VECES AL DÍA INICIANDO EL DÍA SIETE POSTOVULACIÓN.**

PARÁMETRO	TRATAMIENTO			
	PLACEBO (T1)	FSH-P (T2)	8.3 EHE (T3)	12.5 EHE (T4)
Yeguas (n)	5	5	5	5
Días de tratamiento	7.2	4	7.6	7.4
Promedio diario de crecimiento	2.18	3.09	2.61	3.01
Folículos ≥35mm por yegua (n)	1	1.2	1	2.8
Folículos ≥35 mm por yegua (n)	5	6	5	14
Ovulaciones por yegua	1	1.2	1	2.8
Yeguas con ≥2 ovulaciones (n) (%)	0 , 0%	2 , 40%	1 , 20%	4 , 80%

**TABLA 2. TASA DE COLECTA DE EMBRIONES SIETE A OCHO DÍAS DESPUÉS QUE LA MAYORÍA DE LAS OVULACIONES FUERON DETECTADAS EN YEGUAS TRATADAS CON PLACEBO (5 ML), FSH- P (6,25 MG), Y EHE (8,3 Y 12,5 MG RESPECTIVAMENTE) DOS VECES AL DÍA.**

PARÁMETRO	TRATAMIENTO			
	PLACEBO (T1)	FSH-P (T2)	8.3 EHE (T3)	12.5 EHE (T4)
Yeguas (n)	5	5	5	5
Embriones por yegua (n)	0,6	0,8	0,6	1,6
Embriones por ovulación (n) (%)	0,6 , 60%	0,66 , 66%	0,6 , 60%	0,57 , 57%
Embriones por tratamiento (n)	3	4	3	8

Se observa que las yeguas del T4 desarrollaron un mayor número de folículos  $\geq 35$ mm en comparación con los demás grupos ( $p < 0,005$ ). En el T1 todas las yeguas desarrollaron un folículo  $\geq 35$ mm (5/5). El número de folículos  $\geq 35$ mm desarrollados fue 5, 6, 5, y 14 para los grupos T1, T2, T3, T4 respectivamente.

Se observó que el número de yeguas que desarrollaron dos o más folículos  $\geq 35$ mm fue 2(2/5), 1(1/5), 4(4/5), para T2, T3, T4 respectivamente. En T1 no se detectó ninguna yegua que desarrollara dos o más folículos  $\geq 35$ mm. Todos los folículos  $\geq 35$ mm (30/30) ovularon. Todas las ovulaciones fueron detectadas entre 12 y 24 horas después de la aplicación de hCG.

Se encontró que el promedio diario de crecimiento folicular fue superior ( $p < 0,005$ ) en T2 con una media de 3,094mm, en comparación con T1 ( $p = 0,90844$ ) que presentó una media de 2,18mm, T3 ( $p = 0,48352$ ) con una media de 2,61mm y T4 ( $P = 0,08133$ ) con una media de 3,01mm. No se encontró diferencia estadística significativa entre T2 y T4.

Se encontró diferencia estadística significativa en cuanto al número de ovulaciones por yegua al comparar el T4 con los demás grupos ( $p < 0,005$ ). El T4 presentó un promedio de 2,8 ovulaciones por yegua, mientras que T1, T2 y T3 presentaron 1, 1,2 y 1 ovulaciones por yegua respectivamente.

La duración del tratamiento fue menor ( $p > 0,05$ ) para T2 (4 días) en comparación con T1 (7,2 días), T3 (7,6 días) y T4 (7,4 días) respectivamente.

Un mayor número de embriones ( $p < 0,005$ ) fueron recuperados T4 donde se obtuvieron ocho embriones (promedio 1,6 por yegua) comparadas con T1 y T3 donde se recuperaron 3 embriones (0,6 en promedio) y T2 donde se recuperaron cuatro embriones (0,8 en promedio). Por otro lado, no se presentó diferencia estadística significativa entre los cuatro grupos en relación a los embriones por ovulación (número y porcentaje); sin embargo, para T1 y T2 el promedio fue de 0,6 embriones por ovulación (60%), para T3 un promedio de 0,66 embriones por ovulación (66%) y para T4 un promedio de 0,57 embriones por ovulación (57%).

De los 18 embriones recuperados de los cuatro grupos, siete embriones presentaron calidad grado uno (máxima), nueve embriones calidad grado dos (buena), un embrión calidad tres (regular) y un embrión calidad cuatro (mala). En términos de desarrollo embrionario dos mórulas, cinco blatocistos tempranos y 11 blastocistos fueron recuperados de las yeguas tratadas.

## DISCUSIÓN

Al revisar los resultados encontrados en el presente estudio con la utilización de un placebo (T1), FSH-P

6,25 mg (T2), EHE 8,3 mg (T3) y EHE 12,5 mg (T4), se puede plantear que, posiblemente, la superovulación se provoca por una aceleración en el crecimiento de algunos folículos y una inhibición de la atresia de los folículos, debido a una estimulación farmacológica a nivel ovárico. Se produce un alto índice anormal de folículogénesis por administración de gonadotropinas durante la fase normal del diestro de un ciclo estral.

Se ha postulado que la respuesta superovulatoria ovárica a la EHE se debe posiblemente a la acción FSH, si esta permanece en forma constante, se contrarresta la acción de la inhibina sobre los folículos subordinados facilitando el desarrollo. Su acción depende de la cantidad de receptores para FSH que existan en las células de la granulosa.

Posiblemente la aplicación de EHE dos veces diarias genera una mayor respuesta superovulatoria debido a que mantiene la concentración de FSH para estimular el crecimiento folicular, teniendo en cuenta que en condiciones normales los pulsos de GnRH se originan cada dos horas.

Al comparar los resultados de los grupos T3 y T4 se observa que al aumentar la dosis diaria de Extracto de Hipófisis Equina (EHE) se experimenta una gran respuesta ovárica; esta coincide con los resultados obtenidos por Scoggin *et al.*, en su estudio denominado: "Respuesta a la frecuencia y dosis de administración de EHE para inducir superovulación en yeguas" (2002), donde reporta que al aumentar las dosis aumenta la respuesta ovárica.

Si se compara el crecimiento folicular entre los grupos T3 y T4, se nota que el crecimiento fue mayor para el T4 (3,01mm/día) que para T3 (2,61mm/día). En los estudios superovulatorios citados anteriormente no se ha tenido en cuenta este parámetro al momento de comparar los resultados de los diferentes tratamientos, por lo tanto se puede plantear que el crecimiento folicular está determinado por la dosis de EHE.

Los animales que presentaron una mejor respuesta en cuanto al crecimiento folicular fueron los del T2 con un promedio de 3,09mm por día, seguido por el T4. Si comparamos los resultados obtenidos del T2 con los de los otros tres grupos vemos que no se produjo diferencia significativa.

Al comparar T2 con T1 en cuanto al promedio de folículos  $\geq 35$ mm, (1,2 contra 1 respectivamente) y número de embriones por ovulación (0,6 para ambos grupos), se observa que posiblemente la FSH-Porcina (FSH-P) no induce respuesta ovárica; lo cual lleva a pensar que la yegua es refractaria a la FSH-P, coincidiendo con lo expresado por McCue (1996) "la dosis de FSH-p para yeguas es 70 veces más que la usada comúnmente para producir ovulaciones múltiples en el ganado. La respuesta ovulatoria en yeguas con FSH porcina es más baja que la reportada en ganado. Los ovarios de las yeguas son relativamente insensibles a la FSH porcina. El uso de FSH porcina queda limitado en la práctica reproductiva equina debido a la baja eficacia y al alto costo".

Si se compara T4 con los demás tratamientos se observa que presentó una mejor respuesta ovárica reflejada en el número de ovulaciones. Probablemente, el incremento en la tasa de ovulación por yegua se debe a la aplicación del tratamiento dos veces diarias lo que puede sostener la concentración de FSH como lo plantea Alvarenga *et al.*, (2001) en su estudio denominado: "Respuesta ovárica a la superestimulación y producción de embriones en yeguas tratadas con EHE dos veces diarias".

Al evaluar T3, el promedio de ovulaciones no se ve incrementado (1 ovulación por yegua) con respecto a T4 (2,8) se puede suponer que al aumentar la dosis aumenta la respuesta ovárica, coincidiendo con los resultados obtenidos por Scoggin *et al.*, (2002), donde se utilizó: Grupo 1: 25 mg EHE una vez al día, Grupo 2: 50 mg EHE una vez al día. Grupo 3: 12,5 mg EHE dos veces al día. Grupo 4: 25 mg EHE dos

veces al día. Los promedios de ovulaciones por yegua fueron 3,4, 4,4, 3,4 y 4,7 respectivamente. Las yeguas del grupo cuatro ovularon más folículos que las yeguas de los grupos uno, dos y tres.

Posiblemente la producción de embriones aumentó en aquellas yeguas que experimentaron una gran respuesta ovárica por la cantidad de folículos preovulatorios obtenidos debido a una superestimulación del desarrollo folicular, inducida por EHE.

En las yeguas del presente estudio se obtuvieron (0,6), (0,66), (0,6), (0,57) embriones por ovulación, para los tratamientos T1, T2, T3 Y T4 respectivamente, lo que demuestra que probablemente la recuperación embrionaria disminuye en yeguas que experimentan mayor respuesta ovárica, similar a los resultados obtenidos por Alvarenga *et al.* (2001). La baja tasa de recuperación de embriones en yeguas superovuladas se debe probablemente a la falla del folículo en liberar el oocito en el momento de la ovulación, Palmer *et al.* (1993), Elsdén y Seidel (1978), sugieren que “la fimbria es incapaz de acumular una gran proporción de óvulos dentro del oviducto”. Además, sugieren la posibilidad que altos niveles de progesterona pueden alterar el transporte del óvulo y del espermatozoide. Dippert *et al.* (1994) también sugieren que el tratamiento superovulatorio puede alterar el tiempo normal del tránsito de embriones a través del oviducto.

Aunque ninguno de los embriones de este estudio fue transferido a receptoras, en un estudio previo ci-

tado por Alvarenga *et al.* (2001) las tasas de preñez fueron similares entre embriones que fueron transferidos de yeguas con múltiple ovulación y yeguas con una sola ovulación, lo que expone que la calidad embrionaria no se ve afectada al aumentar el número de embriones colectados por cada ciclo estral señalando la importancia del manejo reproductivo en equinos para mejorar los resultados que se obtienen en condiciones normales.

## CONCLUSIONES

A pesar del bajo número de embriones obtenidos con la aplicación de 12,5mg de EHE con intervalos de 12 horas durante 7,4 días en yeguas criollas colombianas, se puede concluir que sí induce a la múltiple ovulación y puede ser útil en programas de transferencia de embriones para aumentar la eficiencia reproductiva, dosis más bajas a la propuesta disminuyen el efecto superovulatorio.

La aplicación de FSH de origen porcino en las dosis utilizadas en el presente trabajo aumenta la velocidad de crecimiento folicular pero no estimula la superovulación como sí lo hace en otras especies como la bovina.

Se requieren nuevas investigaciones sobre el tema con el propósito de optimizar los resultados y estandarizar los protocolos de sincronización y superovulación en las yeguas lo mismo que sobre métodos que simplifiquen la extracción y liofilización del EHE.

## BIBLIOGRAFÍA

Alexander, S. “GnRH secretion in mare. Theriogenology”. *Animal reproduction science*. 42. (1996): 173 - 180.

Allen, W. R. *et al.* “Induction of ovulation in anoestrous mares with a slow-release implant of a GnRH analogue (ICI 118 630)”. *J Reprod fertil* 35 (1987): 469 - 478.

- Alvarenga, M. y McCue, P. "Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily". *Theriogenology*, 56. (2001): 879 - 887.
- Carmo, MT. "Comparacao entre doses contantes e decrescentes de extrato de pituitaria equine na inducao de superovulacao em eguas". Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.
- , Superovulatory Response of Mares Treated Twice Daily With Equine Pituitary Extract Utilizing Constant and Decreasing Doses. Sao Paulo, Brasil, 2002.
- Castellanos M. "Factores que afectan la respuesta superovulatoria, embriones colectados y transferibles en vacas Siboney de Cuba". La Habana. Trabajo de diploma. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez" Facultad de Medicina Veterinaria. Convenio UDCA-ISCAH. 1997.
- Cifuentes, E. "Ultrasonografía Reproductiva en Equinos (CGR Biotecnología Reproductiva). Seminario Internacional de Reproducción en grandes especies". Bogotá, 2001.
- Cíntora, I. [www.engormix.com](http://www.engormix.com) [online]. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la yegua. Disponible en Internet URL: <<http://www.engormix.com/nuevo/prueba/areadeequinos1/>>.
- Dipper, KD. y Jasko, DJ. *et al.* "Fertilization rates in superovulated and spontaneously ovulations mares". *Theriogenology* 41 (1994): 1411 - 1423.
- Douglas, RH; Ginther, OJ y Nuti, L. "Induction of ovulation and multiple ovulation in seasonally anovulatory mares with equine pituitary fractions". *Theriogenology* 2 (1974): 133 - 142.
- Duarte Ortuño, A. [www.fmvz.uat.edu.mx.com](http://www.fmvz.uat.edu.mx.com) [online]. Mecanismos neuroendocrinos de regulación de la reproducción en mamíferos domésticos. Disponible en Internet URL: <<http://www.fmvz.uat.edu.mx/investigación/>>.
- Dukes, H.H. y Swenson MJ. *Fisiología de los Animales Domésticos* México: Aguilar, 1981.
- Fortune, JE. y Kimmich, TL. "Purified pig FSH increases the rate of double ovulation in mares". *Equine Vet J* 15 (1993): 95.
- Hafez, E. y Hafez, B. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. (7 ed.). México: Mc.Graw Hill Interamericana, 2000.
- Hofferer S, *et al.* "Ovarian response in mares to prolonged treatment with exogenous equine pituitary gonadotrophins". I.N.R.A. *Reproductive Physiology*, Nouzilly, France. 2000.
- *et al.* "Induction of ovulation and superovulation in mares using equine LH and FSH separated by hydrophobic interaction chromatography". *J reprod fertil* 98 (1993): 597 - 602.
- Ireland, J.J. "Control of follicular growth and the development". *J. Reprod* 34. (1997): 39 - 54.
- Jimenez, C. "Manejo del ciclo estral de la yegua". Seminario de Reproducción de Grandes Especies. Villavicencio, 2004.
- McCue, P. *et al.* "Ovulations and embryo recovery rates following immunization of mares against and inhibin alpha - subunits". *Equine Vet, J* 24 (1992): 144 - 146.
- , "Superovulation in Mares". *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 12, 1. (1996).
- Memories, Annual Conference and Symposium, August 7 - 11. Society for Theriogenology. American College of Theriogenologists. Colorado Springs, Colorado. USA. 2002.
- Memorias, IV Seminario Internacional : Reproducción de Grandes Animales. CGR, Biotecnología Reproductiva. Bogotá, Septiembre 25 - 27 de 2003.

- Molina, J. *Manejo Reproductivo de Yegua*. Colombia Intervet. 2002.
- Ochoa, M. Ensayos de separación de la hormona folículo-estimulante a partir de glándulas pituitarias humanas. Santa Fé de Bogotá. Trabajo de Grado (Magíster Scientiae - Especialidad Química). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. 1993.
- Palmer, E. "Recent attempts to improve synchronization of ovulation and to induce superovulation in the mares". *Equine Vet, J* 3(1985): 11 - 18.
- Plan de ordenamiento territorial, Alcaldía municipal. Tibasosa 2004-2008.
- Rosas, A. "Avancos em biotecnicas aplicadas a Reproducao Equina Superovulacao em eguas". IV Seminario Internacional de Reproducción en Grandes Animales. Bogotá, 25-27 de Septiembre 2003.
- . Evaluation of two treatments in superovulation of mares. Cenargen/ Embrapa , Brasil. 2001.
- Ruckebusch y Phoney, LP. *Fisiología de pequeños y grandes especies*; México: Manual Moderno, 1994.
- Salas, A. *et al.* Evaluación de las técnicas para obtener gonadotropinas hipofisarias. Universidad Autónoma de Sinaloa. 2002.
- Samper. J. I Seminario Internacional de Medicina y Reproducción Equina. Medellín, Agosto 12, 13 y 14 del 2004.
- Scoggin CF, *et al.* "Strategies to improve the ovarian response to equine pituitary extract in cyclic mares". *Theriogenology* 58 (Colorado State University, Fort Collins). 2002.
- . "Dose-response and frequency of equine pituitary extract administration in inducing superovulation in mares". *Theriogenology* (Colorado State University, Fort Collins.). 2002.
- Sirois, J. *et al.* "FSH injections early in the cycle induced double ovulations in mares". *Theriogenology* 37 (1992): 300.
- Sisson, S. y Grossman, J.D. *Anatomía de los Animales Domésticos*. (5 ed.). México: Salvat, JGH Editores, 1995.
- Squires, EL. y Carnevale EM. *et al.* "Reproductive characteristics of spontaneous single and double ovulating mares and superovulated mares". *Reprod fertil* 35 (1987): 399 - 403.
- Squires, EL. y Ginther, O, *et al.* "Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares". *Theriogenology* 26 (1986): 661 - 670.
- Sumano, H. y Ocampo, L. *Farmacología Veterinaria* (2 ed.). México: McGraw Hill-Interamericana, 2001.
- Terry, L, *et al.* *Manual of Equine Reproduction*. (2 ed.). Philadelphia: Mosby, 2003.
- Veselinovic, S. *et al.* "Induction of superovulation in mares". *Proceedings of the 10<sup>th</sup> anual meeting of the AF IE*. Lyon France. 1994.
- Woods, GL. y Ginther, OJ. Ovarian response, pregnancy rate, and incidence of multiple fetuses in mares treated with an equine pituitary extract; Canada, 1982.
- . "Inductions of multiple ovulations during the ovulatory season in mares". *Theriogenology* 23 (1983): 347 - 355.
- Youngquis, S. "Current Therapy Large Animal". *Theriogenology*. USA, W. B. Saunders Company 1997.