

La mula: una alternativa como receptora de embriones equinos

Ana Luisa Correa Garza¹, Luis Losinno^{2, 3}

¹Antonio Rodríguez 306 colonia Ribereña, Reynosa, Tamaulipas, México; ²Laboratorio de Producción Equina y Biotecnología Animal y ³Maestría en Producción Equina; Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina
llosinno@gmail.com

Resumen

Recientemente se ha incrementado el interés por las gestaciones interespecíficas dentro del género *Equus* debido al empleo de biotecnologías reproductivas como la transferencia embrionaria (TE). Dentro de ellas, la mula (*Equus mulus*) en particular debido a sus características biológicas, etológicas y reproductivas; ha demostrado ser potencialmente ventajosa para los programas comerciales de TE. La infertilidad en las mulas es resultado de la incompatibilidad entre los cromosomas paternos (*Equus asinus* 2n = 62) y maternos (*Equus caballus* 2n = 64). A pesar de esto, se han documentado casos de mulas cíclicas, e incluso hembras fértiles y con crías propias. Se ha comprobado que las mulas son capaces de formar copas endometriales funcionales en comparación a otras transferencias xenogénicas, en las cuales se presenta una falla en la formación e invasión de los cálices. Estas gestaciones comúnmente derivan en una interrupción de manera natural, a causa de la respuesta inmunitaria materna hacia el genotipo fetal. El estro, la dinámica folicular y el desarrollo embrionario-fetal es muy similar al de la yegua. Se ha descrito un instinto materno idóneo por parte de las mulas receptoras hacia los potros, tal como suficiente producción de calostro, cuidados neonatales y protección. Es fundamental conocer los distintos protocolos hormonales ensayados, tanto para mulas cíclicas como para las acíclicas a utilizar como receptoras de embriones. En síntesis, la evidencia científica y empírica acumulada hasta el momento muestra que las mulas pueden ser receptoras recomendables para embriones equinos en programas comerciales, como una alternativa especialmente en ecosistemas marginales y semiáridos.

Palabras clave: Mulas- Preñez- Transferencia embrionaria- Receptora.

Abstract

Interest in interspecific pregnancies within the *Equus* genus has recently increased, due to the use of reproductive biotechnologies such as embryo transfer (ET). Among them, the mule (*Equus mulus*) in particular, due to its biological, ethological, and reproductive characteristics; has proven to be potentially advantageous for commercial ET programs. Infertility in mules results from the incompatibility between paternal (*Equus asinus* 2n = 62) and maternal (*Equus caballus* 2n = 64) chromosomes. However, cases of cyclical (ovulatory)

Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. Vol. 7 (4) 2020: 108-130

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...]
mules, and even fertile females with offspring have been documented. It has been verified that mules are capable of forming functional endometrial cups compared to other xenogeneic transfers, where there is a failure in the formation and invasion of the endometrial cups. These pregnancies often lead to a natural interruption, due to the maternal immune response to the fetal genotype. Estrous cycle, follicular dynamics and embryonic-fetal development are similar to those in mares. A suitable maternal instinct has been described in recipient mules towards the foals, such as sufficient milk production, great neonatal care and protection. It is essential to know the differential hormonal protocols tested, both for cyclic and acyclic mules to be used as embryo recipients. In summary, the scientific and empirical evidence accumulated to date shows that mules can be utilized as an alternative for equine embryo recipients in commercial programs, especially in marginal and semi-arid ecosystems.

Keywords: Mule- Pregnancy-Embryo transfer- Recipient

Introducción

La mula (*Equus mulus*, 2n=63) pertenece a la familia *Equidae* y género *Equus*, y se caracteriza por ser un animal longevo, resistente, rústico y capaz de adaptarse a condiciones ambientales extremas (Caniss *et al.*, 2019). Es el resultado del apareamiento entre una yegua (*Equus caballus*, 2n=64) con un burro o asno (*Equus africanus asinus*, 2n=62). Al producto obtenido de cruzamientos interespecíficos se le conoce como "híbrido", tales como la mula y el burdégano (padrillo x burra) en équidos, el ligre (*P. leo* [león]- x *P. tigris* [tigre]) resultado de un cruzamiento entre félidos o la cama (*Camelus dromedarius* [dromedario] x *Lama glama* [llama]) en camélidos. Esto es posible entre distintas especies pertenecientes al género *Equus* (y muchos otros géneros) sin importar su disimilitud fenotípica y genotípica.

Las mulas son consideradas animales infértiles debido al emparejamiento anormal de sus cromosomas. La desigualdad estructural (número y tamaño) existente entre los cromosomas heredados por los padres provoca una falla en el cruzamiento, dando lugar a un freno parcial meiótico y un desarrollo incompleto de células germinales durante la gametogénesis en la vida fetal. En la hembra, resulta en un depósito limitado de ovocitos desde el nacimiento (Camargo *et al.*, 2020).

A pesar de esto, en algunas ocasiones, células germinales logran formar gametos y existe evidencia de mulas con eje hipotálamo-pituitario-ovárico funcional; es decir que son hembras ovulatorias (cíclicas) y presentan ondas foliculares sincrónicas, estró, ovulación y cuerpos lúteos funcionales (Taylor y Short, 1973; Short *et al.*, 1974).

En los machos, no se ha reportado evidencia de fertilidad, pero sí espermatogénesis en algunos casos. De manera infrecuente, concepciones y partos de mulas fértiles han sido descritos en la bibliografía científica y en notas de divulgación, siendo fundamentales las pruebas de cariotipo materno y de la cría para la confirmación de estos hechos, frecuentemente anecdóticos (Rong *et al.*, 1988; Henry *et al.*, 1995; Lozano, Von Chong y Meza, 2011).

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

El genotipo y fenotipo de la cría de una mula es muy incierto. Puede resultar en un cariotipo con estructuras similares al del burro, caballo o mulo; presentar un total 62, 63 o 64 cromosomas y fenotípicamente la descendencia puede expresar características morfológicas de cualquiera de las 3 especies (Rong *et al.*, 1988; Lozano, Von Chong y Meza, 2011). Rong *et al.* (1988) presentaron casos excepcionales donde la descendencia tenía cromosomas de caballo y burro sin importar el progenitor macho y en otros casos parece estar orientado a cromosomas del caballo, la mayoría transferidos por la madre (Henry *et al.*, 1995).

Se ha descrito a la mula como un animal “versátil” en referencia a su capacidad de gestar embriones de caballos, asnos y mulas. Además, su tracto reproductivo es capaz de mantener el desarrollo de productos xenogénicos hasta el momento del parto (Davies, Antczak y Allen, 1985) y se ha señalado el estupendo instinto materno de la mula semejante a lo observado en otros équidos domésticos. Estas hembras demuestran proveer cuidados neonatales y protección hacia sus crías independientemente de la especie, incluso en ciertos casos se ha descrito comportamiento materno excesivo o sobreprotector (Shaw y Houpt, 2010). Asimismo, se destacan por el buen desarrollo de su glándula mamaria y una producción de calostro y leche materna abundante (Camilo *et al.* 2003).

El costo de estos animales es muy similar al de las yeguas receptoras y los requerimientos nutricionales son menores a los de las yeguas de peso y masa corporal semejantes (Camargo, 2018).

Los objetivos de este trabajo son: 1) Destacar las características de la mula como receptora de embriones de equinos; 2) Remarcar las posibles complicaciones durante la TE y gestaciones interespecíficas; 3) Comparar el rendimiento reproductivo de mulas ovulatorias o anovulatorias como receptoras de embriones equinos; 4) Mencionar protocolos de manejo de la sincronía con las donantes en ambas categorías.

Gestaciones extraespecíficas, resultados de transferencia embrionaria.

La transferencia embrionaria (TE) es una de las técnicas de reproducción asistida de mayor demanda e impacto en la industria equina desde hace más de 40 años (Losinno y Urosevic, 2015; Squires, 2020). Para una revisión detallada de la técnica y sus aplicaciones se sugieren publicaciones específicas (McCue y Squires, 2015; Losinno y Pietrani, 2017; Losinno y Pietrani, 2019).

Las primeras transferencias embrionarias entre diferentes especies del género *Equus* (*E. caballus* y *E. asinus*) fueron realizadas de manera quirúrgica para obtener híbridos, por el equipo del Dr. Twink Allen en Newmarket, Inglaterra a mediados de la década del '80 del siglo pasado. Embriones de especies exóticas, cebras de Grant (*E. burchelli*) y caballos de Przewalski (*E. przewalski*), fueron transferidos a yeguas y burras domésticas resultando en crías vivas (Kydd *et al.*, 1985; Summers *et al.*, 1987).

A partir de este tipo de transferencias, se observaron diferencias significativas en la formación, cantidad, funcionalidad y vida útil de los cálices endometriales, estructuras temporarias únicas en équidos presentes aproximadamente desde el día 40 al 120-150 de

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] gestación, responsables de producir y secretar Gonadotropina Coriónica Equina (eCG por sus siglas en inglés) (Allen, 1975; Allen, 1982; Davies, Antczak y Allen, 1985). Normalmente el desarrollo y tamaño de las copas endometriales, difiere entre individuos y especies, pero las diferencias son más notorias cuando se trata de cruzamientos o gestaciones interespecies por TE.

Se ha demostrado que el genotipo fetal tiene influencia sobre la producción hormonal y el desarrollo placentario (Allen y Wilsher, 2017). Las células trofoblásticas del cinturón coriónico, una banda engrosada del trofoblasto alrededor del *conceptus*, se diferencian, comienzan a proliferar e invadir el endometrio formando las copas endometriales. El genotipo fetal y su interacción con el útero materno influyen en el desarrollo e invasión del cinturón coriónico, en la formación y actividad de las copas endometriales y en la respuesta de inmunidad celular materna hacia los antígenos fetales (Allen y Moor, 1972; Allen, Hamilton y Moor, 1973). Al respecto, Camilo *et al* (2003) señalaron una diferencia significativa en el pico de concentración y la duración de secreción de eCG en mulas cíclicas gestantes utilizadas como receptoras de embriones equinos.

Al final del estro de la yegua se desarrolla el Cuerpo Lúteo (CL) primario a partir de la ovulación del folículo dominante. Este CL principalmente se encarga de la producción de progesterona, la cual contribuye en la preparación uterina para la recepción del embrión y el mantenimiento del desarrollo embrionario y fetal durante la etapa temprana de la gestación (Bergfelt y Adams, 2011). Entre los días 40 y 150 de gestación las copas endometriales secretaran eCG y debido a la acción gonadotrópica y luteotrófica de esta hormona, actúa sobre receptores gonadales para la formación de varios CLs secundarios a partir de folículos ya presentes (Mestre, Antczak y Allen, 2011). Posteriormente la eCG además actuará sobre folículos anovulatorios para formar CLs accesorios.

La secreción de estrógeno y progesterona provenientes del CL primario y suplementarios contribuirán a la estimulación de la vascularización placentaria y al mantenimiento temprano de la preñez (Mestre, Antczak y Allen, 2011; Allen y Wilsher, 2017). Una baja concentración de eCG plasmática se relaciona a un subdesarrollo del cinturón coriónico, ocasionando copas endometriales de menor tamaño o incluso la regresión de las mismas (Mestre, Antczak y Allen, 2011; Urias-Castro, Zarco y Boeta, 2017).

Se cree importante mencionar brevemente las respuestas inmunológicas (humoral y celular) maternas que se desencadenan y sus características de memoria y tolerancia a partir del genotipo embrionario. Mientras ocurre la formación del cinturón coriónico, acontecen cambios de expresión génica en las células trofoblásticas, los más significativos se relacionan con el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase 1 tanto de origen materno como paterno (Antczak, 2020). Las moléculas expresadas de CMH-1 provenientes de la herencia paterna son reconocidas como antígenos por la madre y tienen la habilidad de estimular la respuesta inmunitaria mediante anticuerpos citotóxicos y además, las yeguas presentan la capacidad de generar una respuesta de memoria a partir de un primer contacto (Antczak *et al.*, 1985; Mestre, Antczak y Allen, 2011; Antczak, 2020).

Las células trofoblásticas invasoras son las responsables de modular las respuestas inmunológicas maternas y de esta forma permitir la supervivencia de un feto antigénicamente extraño (Allen y Wilsher, 2017). Asimismo, se ha observado una

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] interacción del sistema inmunitario materno con las copas endometriales inmaduras en donde se genera una respuesta inmune local, formando un cúmulo de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ entre el trofoblasto que invade el endometrio y la periferia de cada copa (Antczak *et al.*, 1985; Mestre, Antczak y Allen, 2011; Antczak, 2020).

La concentración leucocitaria materna encontrada alrededor de las copas endometriales en cruzamientos extraespecíficos, por ejemplo en la gestación de mulas o burdéganos, es mayor debido a las diferencias genéticas entre madre y *conceptus*. Asimismo, en gestaciones de embriones de burro transferidos a yeguas por primera vez, el 70% resulta en una respuesta celular exagerada en contra del trofoblasto xenogénico atacando el alantocorion no unido (Stewart y Allen, 1995; Allen y Wilsher, 2017). Y durante intentos posteriores se ha observado una respuesta de células T hacia las copas endometriales de mayor intensidad, llegando a acortar el periodo de vida de las mismas. A diferencia de las gestaciones intraespecíficas, en las cuales no se han señalado efectos adversos por parte de la respuesta inmunitaria de memoria materna, como lo sería una acumulación linfocitaria exagerada en copas endometriales o una destrucción más agresiva del trofoblasto por parte de las células T. Se sugiere la presencia de células T “reguladoras” capaces de suprimir la eliminación del trofoblasto de las copas endometriales por las células citotóxicas maternas (Antczak, 2020).

Se ha reportado la capacidad de yeguas, burras y mulas para llevar una gestación a término, parir e incluso criar exitosamente descendencia xenogénica por medio de TE interespecífica (Alle *et al.*, 2011). Los embriones de burro en yeguas receptoras tienden a presentar índices de pérdidas gestacionales altos a consecuencia de una interacción inadecuada entre cinturón coriónico y endometrio materno. Por otro lado, en mulas receptoras, los fetos de burro son capaces de formar copas endometriales. Sin embargo, se han detectado concentraciones sistémicas de eCG más altas cuando el embrión pertenece a *Equus caballus* (Davies, Antczak y Allen, 1985).

Por sus características genóticas, la mula puede crear un ambiente uterino genéticamente “neutro” para embriones de équidos domésticos. A partir de esta particularidad, deriva su capacidad para desarrollar copas endometriales y la subsecuente producción de eCG en preñeces interespecíficas (Davies, Antczak, Allen, 1985). De todos modos, la cantidad y duración de la hormona en el plasma difiere según el genotipo fetal y la reacción leucocitaria materna de la mula alrededor de los cálices endometriales. En la gestación de un embrión equino la respuesta inmunitaria de la mula receptora puede llegar a ser intensa, a pesar de tratarse de un híbrido con un genotipo parcialmente similar al de *Equus caballus* (Antczak *et al.*, 1985).

Mulas como receptoras de embriones equinos

La demanda de preñeces por transferencia embrionaria convencional y de embriones producidos *in vitro* en equinos sigue en aumento cada año. En los programas comerciales hay una dificultad marcada para identificar y conseguir receptoras de calidad (Pessoa *et al.*, 2011).

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Algunos autores consideran a la hembra receptora como uno de los factores principales para el éxito en la TE; su desempeño repercute en gran medida en las tasas de preñez, pérdidas embrionarias y partos (Squires, McCue y Vanderwall, 1999; Losinno y Urosevic, 2015). Además, representan el mayor costo operativo (35 – 50% del costo unitario) en programas comerciales, independientemente de la escala de producción. Las receptoras contribuyen a generar ganancias, pero también genera costos de impacto en los programas (VonMeyeren y Losinno, 2017).

La selección es un paso esencial donde las hembras son evaluadas y elegidas cuidadosamente. Los criterios más valiosos a considerar son: tamaño o biotipo (varía según la raza transferida), edad, condición corporal, estado de salud, temperamento dócil, buen instinto materno, conformación genital externa, ciclo estral normal, funcionalidad de glándulas mamarias (multíparas) y la ausencia de problemas reproductivos determinado por un examen ginecológico exhaustivo (Squires, McCue y Vanderwall, 1999; Stout, 2006).

Ha sido demostrada la influencia del tamaño uterino de la receptora respecto al tamaño, peso y conformación del potro nacido hasta su vida adulta (Allen y Wilsher, 2017).

Desde hace años, la mula ha sido considerada como alternativa y se ha utilizado en investigaciones para probar sus capacidades reproductivas. Por naturaleza son animales rústicos y con alta capacidad de adaptación a condiciones climáticas extremas, incluso han demostrado menores niveles de estrés en este tipo de ambientes (McLean *et al.*, 2019).

Este híbrido tiende a consumir forrajes de menor calidad y ricos en fibra, con menores requerimientos para mantenimiento que los caballos (McLean *et al.*, 2019). Si el uso de receptoras mulares resultara en tasas de producción (transferencias, gestaciones, partos y nacimientos) semejantes a las de receptoras equinas, podría ser un recurso factible en TE interespecíficas, en especial en programas comerciales ubicados en áreas marginales o semi desérticas y montañosas.

La experiencia en China, algunos países de Europa y América Latina en los últimos años en programas comerciales ha sido muy positiva al respecto (Losinno, 2020-datos no publicados-). Las tasas de preñez y de partos eutócicos utilizando mulas como receptoras de embriones equinos de diferentes razas en los últimos 10 años han mostrado resultados comparativamente similares a los de yeguas receptoras, en concordancia con lo recientemente reportado por Camargo (2019).

En el Laboratorio de la Universidad Nacional de Río Cuarto se utilizan como receptoras de embriones equinos, mulares y de burro desde hace más de 15 años con muy buenos resultados (Pietrani, Etcharren y Losinno, 2011). (Figuras 1-9- Mulass del Laboratorio de Producción Equina de la FAV-UNRC; Figura 10 gentileza del Dr Carlos Camargo - Brasil-).

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]



Figura 1. Vicky recién nacida. Producto TE.



Figura 2. Vicky y su primera cría equina, "Mulita".



Figura 3. Vicky y "Brujo", su segunda cría equina.



Figura 4. Vicky y "Brujo". Segunda cría equina



Figura 5. Vicky y "Bruja", su primer cría mula.



Figura 6. Vicky y Bruja.



Figura 7. Vicky y "Betina", su tercera cría equina.



Figura 8. Bruja y "Nemo", su primer cría de burro.



Figura 9. Vicky (derecha) y Anita (izquierda, mula miniatura adulta, preñada de TE). Ambas receptoras de embriones.



Figura 10. Mula Marota II y su potro Soberano con 24 horas de vida.

Características reproductivas de la mula

El conocimiento y la comprensión de aspectos reproductivos, tanto anatómicos como fisiológicos de la mula, es fundamental para considerar y analizar su utilización y manejo en programas de TE. Su tracto reproductivo se asemeja más al de la yegua, con excepción del cérvix que es morfológicamente más parecido al de la burra y es un factor importante para tener en cuenta al momento de seleccionar el método de TE (Canisso *et al.*, 2019).

Es importante determinar si la mula que recibirá al embrión se encuentra ovulatoria o anovulatoria. Mulas con eje hipotálamo-pituitario-gonadal funcional son hembras con la capacidad de evidenciar estro y ovulación de manera regular (Davies, Antczak y Allen, 1985). González *et al* (2015) describieron evidencia de signos de ciclicidad en 44 de 72 (61.1%) ovarios mulares. Además, de los folículos se aspiraron ovocitos y se realizaron cortes histológicos de ovarios mostrando una morfología folicular similar a las descripciones en ovarios de yeguas.

Las concentraciones plasmáticas de melatonina evaluadas secuencialmente confirmaron la presencia de ritmo circadiano estacional en la secreción de esta hormona. Los niveles más altos se registraron durante la fase oscura tanto en primavera como en otoño e incrementaron en el otoño cuando las noches son más largas (Cozzi *et al.*, 1991). En equinos la melatonina secretada por la glándula pineal tiene gran influencia sobre el comportamiento reproductivo y la ciclicidad anual.

Se ha reportado que esta glándula en mulas es más grande que en las yeguas y más desarrollada que en otros mamíferos, por consiguiente, se ha inferido que la producción de melatonina podría ser mayor (Cozzi *et al.*, 1991). Cozzi *et al* (1991), sugieren una posible acción neuroendocrina anti-gonadotrófica por parte de esta hormona deprimiendo la actividad ovárica, el crecimiento y desarrollo del folículo en un mamífero genéticamente estéril e inhibiendo su ciclo estral. Además, parece existir una variación considerable en la duración de periodos interovulatorios en la mula, esto dificulta el establecimiento de un ritmo circanual (Davies, Antczak y Allen, 1985; Cozzi *et al.*, 1991).

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Fisiológicamente las mulas pueden presentar características del ciclo estral, dinámica folicular y comportamiento sexual similares a ambas especies progenitoras (Schiestl *et al.*, 2013; Lunelli y Pires Neves, 2018). El intervalo interovulatorio (IIO) es de 22 días en promedio (semejante al de la yegua de 21 días), mientras que el de la burra es más prolongado de 23 hasta 27 días (Canisso *et al.*, 2019). Schiestl *et al.* (2013) registraron IIO de 19 y hasta 42 días (24.4 ± 6.9 en promedio). Por otro lado, Lunelli y Pires Neves (2018) reportan IIO promedio de 24 ± 8.1 días, así como casos de ovulaciones aisladas sin actividad cíclica subsecuente. En mulas cíclicas la duración del estro es de 5 a 8 días, presentando diestros de 17 ± 6.7 días en promedio (Schiestl *et al.*, 2013; Canisso *et al.*, 2019).

El seguimiento de la dinámica folicular en seis mulas reportó una duración del reclutamiento hasta la ovulación de 15.8 ± 4.6 días. La selección del folículo dominante ocurrió 7.7 ± 2.3 días antes de la ovulación, con una tasa de crecimiento folicular diario variable entre el periodo previo y post selección (2.4 ± 0.7 mm/ día antes de la selección y 3.0 ± 0.7 mm/día después de la selección) tal y como sucede en otras especies (Schiestl *et al.*, 2013). El diámetro máximo del folículo dominante varía entre 37 y 50 mm (Schiestl *et al.*, 2013; Canisso *et al.*, 2019; Lunelli y Pires Neves, 2018). Próximo al día de la ovulación algunas mulas presentan signos de receptividad sexual (“celo” o “calor”) pero este signo es inconsistente.

El comportamiento sexual es, en general, de menor intensidad que en las burras, pero más notorio que en yeguas. Esto se ha asociado a los elevados niveles plasmáticos de estrógenos durante la fase estral, superiores a los de yeguas (Heaton *et al.*, 2018; Lunelli y Pires Neves, 2018; Canisso *et al.*, 2019). Los signos de conducta estral más comunes son: micción frecuente, posición de micción (descenso de la grupa), movimientos bucales (como en las burras), coleteo, elevación de la cola, eversión del clítoris, interés por el macho. En mulas de trabajo o competición deportiva esto puede ocasionar problemas que interfieren en desempeño zootécnico como dificultad al cabalgar, agresividad hacia otros animales y humanos, ansiedad, morder, patear, vocalizaciones frecuentes, montar, y alteraciones anatómicas temporarias como edema vulvar e hiperemia de las mucosas. Estos comportamientos pueden presentarse en grado leve, moderado o intenso. (González *et al.*, 2015; Heaton *et al.*, 2018; Canisso *et al.*, 2019). La presencia de folículos entre 15-20 mm, cuerpo lúteo y ausencia ecográfica de edema uterino (grado 0-1 en la escala de 0-3) es compatible con la fase lútea en mulas (Lunelli y Pires Neves, 2018). Canisso *et al.* (2019) reportan similitudes entre el proceso de partos y placentas mulares con los de yeguas, coincidentes con nuestra experiencia personal.

A pesar de la variedad de resultados, mientras exista ovulación, formación de cuerpo lúteo funcional y una óptima sincronización, la mula como receptora de embriones es una opción técnica viable, tal como ha sido demostrado en trabajos experimentales, programas comerciales y nuestras observaciones de campo en el Laboratorio (Lunelli y Pires Neves, 2018).

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Mulas ovulatorias o anovulatorias como receptoras de embriones

Cabe mencionar que la mayoría de las preñeces descritas en la bibliografía se han logrado utilizando mulas ovulatorias como receptoras.

Si bien es aún controvertido el uso de yeguas anovulatorias como receptoras, hay reportes contundentes respecto a su eficacia en programas comerciales si se utilizan protocolos hormonales adecuados (Oliveira *et al.*, 2018).

En coincidencia con Bottrel *et al.* (2017), creemos que las mulas no cíclicas pueden considerarse como una estrategia a largo plazo para incrementar la cantidad de receptoras. Asimismo, Camargo *et al.* (2019) califican como “atractivo” la ausencia del ciclo estral, de esta manera se evitaría la dificultad de sincronizar ciclos y ovulaciones entre receptoras y donadoras. Al igual que en las yeguas, el tratamiento con progesterona exógena durante la preñez es una alternativa para hembras receptoras en transición, ovariectomizadas y anovulatorias, permitiendo una disponibilidad de receptoras independiente de la época del año y así prolongar la temporada reproductiva equina (Davies, Antczak y Allen, 1985; Silva *et al.*, 2015; Bottrel *et al.*, 2017).

Se ha detectado muy pocas publicaciones donde se reporte la utilización de mulas ovulatorias y/o anovulatorias como receptoras de embriones, con resultados muy variables y no coincidentes. A inicio de los 80's del siglo pasado, Davies y colaboradores propusieron que mulas cíclicas y acíclicas eran capaces de proporcionar un ambiente uterino adecuado para fomentar la invasión correcta de las células del cinturón coriónico en embriones de caballo y burro, a su vez formar cálices endometriales y producir eCG (Davies, Antczak y Allen, 1985). En México, a finales de la década de los 90's Quintero y Zarco (1996) experimentaron con 4 mulas acíclicas, obteniendo únicamente una gestación que resultó en un aborto antes del día 60. Años después, Camilo junto a otros investigadores intentaron obtener preñeces y potros vivos a partir de transferencias no quirúrgicas con embriones de caballos.

Las transferencias realizadas a dos mulas cíclicas resultaron en preñeces al primer intento. La hembra no cíclica nunca resultó preñada a pesar de varios intentos y la mula cíclica restante fue descartada debido a la imposibilidad de sincronización con las yeguas donadoras. Finalmente se lograron partos sin complicaciones y el nacimiento de dos potros sanos (Camillo *et al.*, 2003).

En otro estudio efectuado en Brasil utilizaron dos mulas con evidencia de ciclo estral y se les transfirieron embriones de burros, empleando la técnica no quirúrgica. Las preñeces se identificaron al día 16 y se confirmaron al día 160, resultando en partos eutócicos alrededor del día 375 de gestación (González *et al.*, 2015).

Una publicación muy reciente de Brasil aporta datos novedosos acerca de la mula como receptora de embriones de caballos. La finalidad de dicho trabajo de tesis doctoral fue determinar y comparar características del desarrollo embrionario y fetal en mulas acíclicas y yeguas cíclicas por medio de la ecografía hasta el día 60 y también se incluyeron características ováricas, uterinas y concentraciones hormonales (eCG y progesterona) (Camargo *et al.*, 2019). Ciertos aspectos a evaluar fueron diámetros, días, intervalos y

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...]
 acontecimientos relevantes durante la gestación temprana. Se registró la aparición de la vesícula embrionaria, su tamaño, forma y patrón de crecimiento, día de fijación, la detección del embrión y su tamaño, el ritmo cardíaco, saco alantoideo, cordón umbilical y la relación entre estos dos últimos, el grado de tono uterino y la ecotextura endometrial. Las similitudes entre ambas especies fueron numerosas. De igual manera las diferencias encontradas en ovarios, folículos, cuerpos lúteos y producción hormonal fueron señaladas. Las tasas de preñez entre mulas y yeguas no difirieron, sin embargo, la cantidad de intentos de TE para poder lograr preñeces fue mayor en mulas (algo que ha sido reportado por otros autores pero que en nuestra opinión puede estar relacionado al método elegido para transferir los embriones). En cuanto al patrón de las curvas de crecimiento del *conceptus*, fue similar coincidiendo en medidas y periodos; en los días 10 al 17 se registró un crecimiento lineal de 3.5 mm/día en promedio, los días 18 al 25 hubo un descenso, 0.4 mm/día y a partir del día 26 hasta el 38 la onda de crecimiento ascendió ligeramente y se mantuvo (1.8 mm/día). En resumen, los autores sugieren considerar a las mulas como alternativa adecuada de receptora basados en los resultados obtenidos asociados a la producción de crías vivas y sanas (Camargo *et al.*, 2019). En la tabla 1 se muestran los hallazgos comparativos más relevantes.

Tabla 1. Comparación de resultados de gestaciones de embriones equinos post TE en mulas y yeguas receptoras.

	Yeguas Ovulatorias	Mulas Anovulatorias
Tasa de preñez (%).	62.2 (9/13)	57.1 (8/14)
Intentos de TE	1 – 2	1 – 4
Detección de VE (día).	10	10
Día de fijación(post-ovulación).	14 – 19	14 – 17
Detección de embrión (día).	19 – 22	19 – 22
Detección de latido cardíaco (día).	22 – 24	21 – 25
Detección de saco alantoideo (día).	23 – 26	23 – 26
Detección de cordón umbilical (día).	37 – 41	36 – 43
Diámetro ovárico promedio (mm).	45.5 ± 0.3	21.6 ± 0.3
Folículos ≥ 25 mm/día	1 – 7	1 – 2*
CL accesorios	1 – 7	1 – 2*
Concentración de eCG (UI/ml).	86.4 ± 9.9	124.6 ± 10.3

Adaptado de Camargo, 2019. *2 mulas de 7, los primeros 60 días. TE: Transferencias Embrionarias. VE: Vesícula Embrionaria. Post OV: Post Ovulación. CL: Cuerpo Lúteo. eCG: Gonadotropina Coriónica Equina.

Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. Vol. 7 (4) 2020: 108-130

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Manejo de la sincronización en mulas receptoras ovulatorias

La sincronización de las ovulaciones entre donante y receptora es uno de los factores determinantes del éxito en programas de TE dado que afecta directa y significativamente las tasas de preñez y por ello es de gran importancia tener presente la dificultad que muchas veces representa esta etapa.

La sincronización implica un manejo simultáneo, sincronizado y controlado de las ovulaciones de receptora y donadora (en casos de receptoras cíclicas). En mulas, esto ha sido reportado en más de una ocasión como un obstáculo debido a las características irregulares de su ciclo estral. En general, y para la transferencia directa de embriones, la disponibilidad de múltiples receptoras por hembra donante es una estrategia recomendable para potencializar los resultados de sincronización (Stout TAE, 2006).

El intervalo ovulatorio entre donadora y receptora con resultados aceptables es amplio en equinos, siendo una de las especies menos exigentes en cuanto al rango de asincronía (Allen, 2005; Stout TAE, 2006) A pesar de no existir un consenso del intervalo exacto, las propuestas no difieren mucho, el rango ideal es cuando las receptoras ovulan entre un día antes hasta cinco días después (-1 a +5) respecto a la ovulación de la donadora (considerando el día 0 como el día de la ovulación de la donante), siendo los días 0 a +2 los que presentan mejores tasas de preñez (Stout TAE., 2006; Cuervo-Arango, 2019).

En un estudio reciente se comprobó que a pesar de este rango de asincronía ovulatoria entre la hembra donante y la receptora, las gestaciones de la especie equina son en su mayoría viables, ya que el embrión es capaz de adaptarse a la etapa del ambiente uterino de la receptora y termina por desarrollarse con normalidad. Sin embargo, el ambiente uterino asincrónico impacta en el desarrollo y crecimiento temprano del *conceptus*. En el caso de transferir un embrión a una receptora con cinco días de asincronía el desarrollo embrionario refleja un retraso de tres días aproximadamente, demorando los procesos de gastrulación, neurulación y organogénesis a nivel genético, celular y tisular (Gibson, Ruijter-Villani y Stout, 2017).

Independientemente de que el desarrollo embrionario se alinea con la etapa uterina debido una represión de su desarrollo, la fijación ocurre a los 17 días de edad del embrión, en algunas yeguas se ha reportado un cese de movimiento embrionario en úteros con 9 días postovulación. Esto parece indicar un nexo entre el diámetro del embrión y este fenómeno de fijación (Allen y Wilsher, 2017).

La expresión de genes en las membranas del *conceptus* tiene un rol importante en la implantación y formación de la placenta y en la misma publicación se reportó un retraso de regulación en la impronta de genes tanto maternos como paternos en los *conceptus* transferidos a ambientes uterinos en asincronía, llevándolos a un retraso del desarrollo inicial. Por otro lado, la progesterona apoya la función endometrial para el desarrollo y mantenimiento del embrión; receptoras en asincronía presentan menor duración de exposición a la progesterona en comparación a receptoras en sincronía, por lo tanto, es posible una alteración en la expresión genética a nivel endometrial, afectando la

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] composición histotrófica, lo cual potencialmente repercute en el desarrollo embrionario (Gibson, Ruijter-Villani y Stout, 2017).

Un punto importante a considerar es el grado de edema endometrial en las receptoras y la cantidad de días que ha estado presente previo a la transferencia. Para la selección de receptoras se ha reportado una preferencia por la duración de los días con edema endometrial sobre la sincronización de la ovulación existente con la donadora. Receptoras que manifiesten estros con al menos 3-4 días con edema endometrial serán más elegibles para la TE sobre receptoras con mejor sincronía de ovulación y/o con menos días (1-2) de edema. Se ha demostrado que un edema endometrial menor a 3 días disminuye la tasa de preñez significativamente (Cuervo-Arango, 2019).

El principal uso de la prostaglandina en programas de TE es la inducción de luteólisis con el fin de acortar el diestro y adelantar la presentación de estro y ovulación. El intervalo existente entre el inicio de tratamiento con prostaglandinas y la siguiente ovulación (Intervalo Tratamiento Ovulación-ITO-) se ha reportado en un rango de 2 a 16 días con una media de 8.2 ± 2.4 días (Cuervo-Arango, 2019). El diámetro del folículo dominante al inicio del tratamiento con prostaglandina PGF 2α o sus análogos sintéticos y la dosis empleada influyen en la cantidad de días que transcurren hasta la siguiente ovulación. Es preferible evitar el uso de prostaglandina en presencia de folículos mayores a 25 mm, ya que podría resultar en un ITO de 6 días o menor y dosis mayores a 625 μg de cloprostenol de igual manera provocan ITO menores sin importar el tamaño de los folículos presentes.

Estudios recientes demuestran que una duración reducida del ITO repercute de manera directa en el estro y edema endometrial acortándolo y aunque la razón exacta es incierta, también afecta disminuyendo las tasas de fertilidad. Incluso la tasa de recuperación embrionaria se ve disminuida significativamente con ITO menores a 4 días (Pietrani, Losinno y Cuervo Arango, 2019). También hay que considerar que se recomienda administrar prostaglandina en presencia de CL maduros, para evitar una luteólisis parcial.

Los protocolos de sincronización de ovulaciones entre donantes y receptoras ovulatorias (cíclicas), pueden ser no invasivos, sólo a través del control folicular intensivo de cada una de las hembras y seleccionar las que están en sincronía natural (en general esto aplica a sistemas con grupos numerosos de receptoras) o intervencionistas a través de una terapia hormonal dirigida y específica, que es lo más frecuente.

En determinados programas, la evaluación ecográfica transrectal intensiva es útil para determinar la ovulación simultánea entre donadoras y receptoras, pero es costoso e insume mucho tiempo, por lo que la sincronización por ovulación espontánea es muchas veces preferible. Aplicarlo en mulas sería en general poco recomendable debido a su patrón irregular de ciclicidad.

El uso controlado y apropiado de hormonas permite optimizar el proceso de sincronización permitiendo un mejor control de eventos fisiológicos estrales, reduciendo las examinaciones transrectales con ultrasonido y adecuando condiciones uterinas al momento de la recepción embrionaria. De igual manera estos protocolos hormonales de sincronización contribuyen a una reducción del número de receptoras y su mantenimiento en los programas de TE. Las posibles desventajas a enfrentarse es la aplicación de tratamientos inyectables, desde el

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] punto de vista del manejo animal, disponibilidad y legalidad de utilización de productos farmacéuticos.

La temporada reproductiva de las yeguas bajo programas de TE suele durar en promedio 7 meses al año en la región central de Argentina, en los cuales es posible realizar lavados para recuperar embriones de cada donadora alrededor de 8 a 14 veces, manejando un intervalo inter ovulatorio de 15-17 días (Losinno y Urosevic, 2015).

Inducción del Estro

La inducción del estro en mulas cíclicas se realiza con la administración de análogos de PGF2 α , generando luteólisis y provocando el inicio de un nuevo ciclo estral. En yeguas donantes se realiza habitualmente después de los lavajes para recuperación embrionaria (*flushings*) con el fin de reducir el intervalo inter ovulatorio, y reiniciar un nuevo ciclo estral en menor tiempo.

En hembras receptoras se puede emplear con el mismo propósito, aunque no es común en programas de gran escala porque cuentan con gran cantidad de receptoras y puede no ser necesario modificar el patrón de ovulación de algunas hembras. Además, la inducción del estro es conveniente cuando las receptoras previamente sincronizadas no reciben un embrión y pueden ser tratadas hormonalmente con prostaglandina 9-10 días post ovulación para que vuelvan a entrar en celo lo antes posible (McCue y Squires, 2015). Es importante recordar que acortar el diestro puede alterar el patrón normal de ondas foliculares y aumentar la incidencia de folículos hemorrágicos anovulatorios.

Los análogos de PGF2 α utilizados más frecuentemente para la inducción de luteólisis y sincronización de estro son Dinoprostrometamina, 10 mg, IM, y Cloprostenol, 250 μ g, IM, ambos en única dosis.

Inducción de Ovulación.

La inducción ovulatoria exógena se realiza cuando existe la presencia de un folículo ≥ 33 -35mm, por ello es necesaria la evaluación ultrasonográfica periódica. Este proceso en donantes es importante para la programación de la monta o inseminación artificial y en receptoras para la sincronización de ovulación y TE. En las receptoras la inducción de ovulación se lleva a cabo inmediatamente o 24 horas después de la ovulación de la donante (día 0 del ciclo). De esta manera la ovulación de la receptora ocurriría de 30 a 48 h. después de la inducción aproximadamente, lo cual significa que estará dentro de una ventana de sincronización óptima (+2 - +3) (McCue y Squires, 2015; Sieme *et al.*, 2018). Para inducir la ovulación puede utilizarse hCG, 1500- 2500 UI, IV/IM única dosis o análogos sintéticos de GnRH como Acetato de deslorelina (1,0-1,5 mg, IM), Acetato de histrelina (25 - 125 μ g, IM, 2 veces al día) y Buserelina (200 ug IV) (McCue, 2019).

Manejo de la sincronización en mulas receptoras anovulatorias

Protocolos de Sincronización

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Con el propósito de estimular comportamiento estral, pero en mayor grado edema endometrial en yeguas ovariectomizadas o con actividad folicular suprimida se utiliza 17 β Estradiol (E₂) (McCue y Squires, 2015). La progesterona (P4) acondiciona el útero por múltiples vías proporcionando un entorno favorable para la recepción, implantación y desarrollo fetal incrementando el tono uterino y la actividad secretora de glándulas endometriales (McCue, 2019). Las mulas acíclicas en general responden satisfactoriamente al protocolo hormonal con progesterona exógena, creando un ambiente uterino idóneo para el desarrollo de embriones transferidos (Camargo, 2018). Es un protocolo habitual desde hace más de 30 años administrar la combinación de E₂ + P4 con el objetivo de sincronizar receptoras anovulatorias con donantes simulando la actividad natural de estas hormonas durante el ciclo estral.

Los protocolos clásicos consisten en administrar como tratamiento base a la receptora acíclica 5-10 mg de Estradiol 17- β IM, cada 24 h. durante 2-4 días (hasta que presente al menos 3 días de edema endometrial ecográficamente), iniciando el tratamiento cuando la yegua donante presente estro, y a continuación:

Opción 1: Hidroxiprogesterona de corta acción (200 mg IM) cada 24 h. comenzando 1-2 días después de la ovulación de la donadora durante 5-7 días previos a la TE hasta el día de la primera ecografía post-transferencia (habitualmente 5-7 posteriores). Si se confirma la preñez se debe iniciar el procedimiento de mantenimiento de la gestación con progesterona.

Opción 2: Alitrembolona (0.044 mg/kg- vía oral), cada 24 h. y luego igual a opción 1 al confirmar la preñez.

Opción 3: Hidroxiprogesterona de larga acción (1,5 g IM) cada 7 días y luego ídem opción 1 al confirmar la preñez.

No todas las opciones son iguales o equivalentes. Tienen ventajas y desventajas como: disponibilidad de los fármacos (ilegal el uso de estrógenos en animales en muchos países), calidad de los fármacos (extremadamente variables en el caso de la progesterona), tipo de vehículos en la formulación (también extremadamente variable en los productos del mercado y un gran condicionante en los resultados), practicidad (inyectar o dar por vía oral todos los días); efectos colaterales indeseados (inmunodepresión en los animales en el caso del altrenogest y también absorción a través de la piel en humanos). Nuestra recomendación basada en resultados propios es la utilización de progesterona de depósito de calidad verificada (opción 3).

Mantenimiento de gestación con Progesterona.

Yeguas ovariectomizadas, en transición, con insuficiencia luteal o anovulatorias (como el caso de algunas mulas) se caracterizan (entre otras cosas) por niveles plasmáticos de progesterona menores a 1ng/ml. Esto les impide mantener una preñez temprana de manera natural para lo cual es necesario al menos 4 ng/ml, pero es posible proporcionar soporte a través de la administración de progesterona exógena durante los primeros meses de gestación. Se recomienda prolongar el tratamiento hasta el día 90 o incluso 120 de preñez, hasta que la placenta sea la que genera el escenario endocrino para el mantenimiento hasta

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] el parto. La frecuencia de administración de la hormona exógena depende de la dosis, droga y vía de administración y la presencia de CLs accesorios (McCue y Squires, 2015; Oliveira *et al.*, 2018).

Progesterona larga acción, 1500 mg, IM, cada 7-14 días (dependiendo de la formulación).

AlilTrembolona, 0.088 mg/kg, PO cada 24 hrs

Controles gestacionales en mulas receptoras

El diagnóstico de gestación, así como su evaluación periódica forman parte del manejo esencial de la hembra receptora para llevar un mejor control del desarrollo embrionario-fetal y en caso de resultados no deseados actuar de manera oportuna. Existen técnicas y pruebas que permiten el monitoreo gestacional evaluando momentos fisiológicos significativos y únicos en el género *Equus* como la palpación del tracto reproductivo vía transrectal, ultrasonido convencional y Doppler, análisis hormonal plasmático (eCG, progesterona, estrógenos) y biomarcadores (proteínas de fase aguda).

Evaluación gestacional de la receptora por ultrasonografía.

Evaluación transrectal del tracto reproductivo el cual posibilita emitir un diagnóstico temprano de gestación y además evaluar el desarrollo.

Día 12-15 Post ovulación de donante (PO). Evaluación de vesícula embrionaria (VE), su forma es esférica y migra por todo el útero para estimular reconocimiento materno. Presencia de cuerpo lúteo primario.

Día 16 al 25 PO. Ocurre la fijación de la VE y varía su forma redondeada a triangular. Se observa latido cardíaco del embrión. El crecimiento del *conceptus* se considera lineal del día 10 al 17, aumentando su diámetro en 3.5 mm/día en promedio, seguido de un descenso durante los días 18 al 25 con 0.4 mm/día y a partir del día 26 hasta el 38 la onda de crecimiento asciende ligeramente y se mantiene en 1.8 mm/día. Es posible identificar el crecimiento del saco alantoideo por debajo del embrión.

Día 40 al 50 PO. Los CL secundarios y los accesorios pueden ser identificados en esta etapa. Múltiples CL's se pueden encontrar en ambos ovarios, sin embargo, no todas las hembras desarrollan estas estructuras ováricas. Termina implantación del feto, y cordón umbilical se alarga.

Determinaciones hormonales plasmáticas

Gonadotropina Coriónica Equina (eCG). La detección de niveles de eCG en el plasma es un indicador positivo de preñez a partir del día 35-40 PO cuando las copas endometriales se forman e invaden el endometrio materno. El pico más alto se presenta alrededor de los días 55 al 70 y entre el día 100 y 140 las copas sufren regresión completa y la hormona baja su concentración plasmática totalmente. En preñeces interespecíficas los niveles de eCG son variables, se han reportado concentraciones sistémicas de eCG más altas cuando el embrión pertenece a *Equus caballus* versus *Equus asinus*. Camilo *et al* (2003) señaló una

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] diferencia significativa en el pico de concentración y la duración de secreción de eCG en dos mulas cíclicas gestantes de equinos. Las concentraciones séricas de eCG registradas en yeguas y mulas gestantes son muy variables, 20-200 UI/ml y 38-352 UI/ml respectivamente (Antczak *et al.*, 1985; Allen *et al.*, 2002). Factores propios de la hembra, la raza y el genotipo fetal repercuten en los perfiles hormonales de eCG (Allen *et al.*, 2002).

Progesterona. La determinación de concentraciones plasmáticas de progesterona contribuye a determinar si la producción endógena de los CL primarios es suficiente para mantener la preñez, durante los primeros tres meses. Concentraciones ≥ 4 ng/mL se consideran adecuadas. El nivel de esta hormona puede confirmar la funcionalidad del CL, por lo general hembras preñadas deberían secretar continuamente progesterona de los CL, incluso después del periodo de reconocimiento materno. El aumento de progesterona, pregnenolona, 5α -hidroxiprogesterona y otros metabolitos de progesterona causan una elevación de las concentraciones periféricas de progestinas inmunoreactivas, esta situación ocurre frecuentemente en casos de placentitis. Los perfiles de progesterona dependerán de la presentación de la enfermedad (aguda, subaguda o crónica).

Estrógenos. La influencia del estrógeno sobre el crecimiento fetal ha sido demostrado y pruebas de estrógenos totales con resultados de ≤ 400 pg/ml han sido vinculadas con la pérdida gestacional. De igual manera la determinación de sulfato de estrona es conveniente para indicarmuerte fetal durante la preñez temprana. El monitoreo de los niveles periféricos de estradiol $17\text{-}\beta$ contribuyen a evaluar las respuestas a tratamientos en casos de placentitis.

Biomarcadores. Se consideran como pruebas complementarias para determinaciones de marcadores sanguíneos en casos de placentitis. Es importante señalar que ninguno es específico de la patología (hasta el momento), pero sí útiles para diagnosticar, pronosticar y/o monitorear tratamientos. La proteína amiloide sérica A (AAS) ayuda a evaluar la respuesta a tratamientos indicados para placentitis. Otro ejemplo es la Alfa-fetoproteína, presente en fluidos amnióticos y alantoideos. Su concentración en el plasma materno aumenta al tratarse de un caso de placentitis ascendente. Aparentemente una proteómica de los fluidos fetales sería la prueba más específica para la placentitis. Los microRNA han despertado el interés de investigadores, debido a su presencia tanto en tejido local como en la circulación, se ha considerado su potencial como biomarcadores de placentitis. (Canisso, Loux y Lima, 2020).

Conclusiones

Basados en la evidencia científica experimental y empírica a través de nuestra propia experiencia que hemos expuesto en este trabajo, creemos que las mulas representan una opción considerable para ser integradas a programas de transferencia embrionaria como receptoras.

El manejo de los diferentes protocolos de sincronización; tanto para mulas cíclicas, como acíclicas y el desarrollo de las copas endometriales, junto con la tolerancia inmunológica materna durante las gestaciones xenogénicas representan dificultades que comúnmente se tienen que enfrentar al trabajar con mulas. Otro aspecto a mencionar está relacionado al

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] manejo que debe hacerse con estos animales dado que es necesario que sean dóciles y es frecuente observar que personas no familiarizadas con las mulas intenten manejarlas como yeguas o con rigor, lo que es un error dado que tienen algunas características etológicas particulares que es necesario conocer para lograr un mejor manejo en las rutinas de examinación ginecológica y transferencia de embriones.

A pesar de algunos aspectos que podrían considerarse como negativos, tienen la capacidad de gestar embriones de especies de équidos domésticos, como lo son equinos y asnos de manera tan eficiente como la yegua y la burra. Incluso son capaces de llevar a término gestaciones sin complicaciones, tener partos eutócicos y nacimientos de productos xenogénicos sanos y vivos. Algunas de las características biológicas de las mulas como su rusticidad o su óptimo instinto materno pueden contribuir a considerarlas como una alternativa de elección en programas comerciales, especialmente en territorios con condiciones agroecológicas extremas.

Bibliografía

Allen T, Wilsher S. (2017). La influencia de la transferencia de embriones en nuestra comprensión de las interacciones materno-fetales durante la preñez en la yegua. En: Losinno L, Pietrani M. (eds). *Bioteecnologías reproductivas en equinos II: resúmenes de las Segundas Jornadas de Bioteecnologías en Equinos de la Sociedad Argentina de Tecnologías Embrionarias*, (147-167). La Plata: Fundación Argentina de Veterinaria Equina.

Allen W, Wilsher S, Stewart S, Ousey J, Fowden A. (2002). The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. *The Journal of Endocrinology*, 172(2), 237–246. Recuperado de: <https://doi.org/10.1677/joe.0.1720237>

Allen WR. (1975). The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and progesterone production in equids. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 23, 405-413. PMID: 1060815

Allen WR. (1982). Immunological aspects of the equine endometrial cup reaction and the effect of xenogenic pregnancy in horses and donkeys. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 31, 57-94. PMID: 6962845

Allen WR. (2005). The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reproduction in Domestic Animals*, 40(4), 310–329. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2005.00602.x>

Allen WR, Hamilton DW, Moor RM. (1973). The origin of equine endometrial cups II. Invasion of the endometrium by trophoblast. *The Anatomical Record*, 177(4), 485-501. Recuperado de: <https://doi.org/10.1002/ar.1091770403>

Allen WR, Kydd J, Short R, Antczak D. (2011). Inter and extra species equine pregnancies. En: McKinnon A, Squires E, Vaala W, Varner, D. (eds). *Equine Reproduction*, (2302-2319). United Kingdom: Blackwell Publishing.

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Allen WR, Moor RM. (1972). The origin of equine endometrial cups I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Journal of Reproduction and Fertility*, 29(2), 313-316. Recuperado de: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0290313>

Antczak DF. (2020). Immunological memory and tolerance at the maternal-fetal interface: Implications for reproductive management of mares. *Theriogenology*, 150, 432-436. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.043>

Antczak DF, Davies CJ, Kydd J, Allen WR. (1985). Immunological aspects of pregnancy in mules. *Equine Veterinary Journal*, 17(S3), 68-72. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb04596.x>

Bergfelt D, Adams G. (2011). Luteal Development. En: McKinnon A, Squires E, Vaala W, Varner, D. (eds). *Equine Reproduction*, (2055-2064). United Kingdom: Blackwell Publishing.

Bottrel M, Fortes T, Ortiz I, Hidalgo M, Dorado J. (2017). Short communication: Establishment and maintenance of donkey-in-mule pregnancy after embryo transfer in a non-cycling mule treated with oestradiol benzoate and long-acting progesterone. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Volume 15(4), e04SC01. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2017154-11653>

Camargo CE. (2018). A mula (*Equus mulus*) como receptora de embriões equinos (*Equus caballus*): Aspectos reprodutivos, hormonais e ultrassonográficos da gestação. *Tese de Doutorado*. Recuperado de: [doi:10.13140/RG.2.2.11083.44320](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11083.44320)

Camargo CE, Rechsteiner SF, Macan RC, Kozicki LE, Gastal MO, Gastal EL. (2020). The mule (*Equus mulus*) as a recipient of horse (*Equus caballus*) embryos: Comparative aspects of early pregnancy with mares. *Theriogenology*, 145, (217-225). Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.10.029>

Camillo F, Vannozzi I, Rota A, Di Luzio B, Romagnoli S, Aria G, Allen W. (2003). Successful non-surgical transfer of horse embryos to mule recipients. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(5), 380-385. Recuperado de: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00444.x>

Canisso IF, Loux SC, Lima FS. (2020). Biomarkers for placental disease in mares. *Theriogenology*, 150, 302-307. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.073>

Canisso IF, Panzani D, Miró J, Ellerbrock RE. (2019). Key aspects of donkey and mule reproduction. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 35(3), 607-642. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.08.014>

Cozzi B, Morei G, Ravault JP, Chesneau D, Reiter RJ. (1991). Circadian and seasonal rhythms of melatonin production in mules (*Equus asinus* × *Equus caballus*). *Journal of Pineal Research*, 10(3), 130-135. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1991.tb00829.x>

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] Cuervo-Arango J. (2019). Cycle management of recipient mares to optimize the post-ET pregnancy rate of *in vivo* and *in vitro* produced embryos. En: Losinno et al., (eds). *Equine Assisted Reproduction*, (61 - 68). FAVE Editorial, La Plata, Argentina.

Davies CJ, Antczak DF, Allen WR. (1985). Reproduction in mules: Embryo transfer using sterile recipients. *Equine Veterinary Journal*, 17(S3), 63–67. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb04595.x>

Gibson C, Ruijter-Villani M, Stout TAE. (2017). Negative uterine asynchrony retards early equine conceptus development and upregulation of placental imprinted genes. *Placenta*, 57, 175-182. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.07.007>

González SM, Gomes RG, Souza AK, Silva CB, Silva-Santos KC, Seneda M. (2015). Evidences of regular estrous cycles in mules and successful use of these animals as recipients for donkey embryos. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(10), 869–872. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.07.010>

Heaton K, Ragle C, Godderidge MT, Farrell A, Tibary A. (2018). Estrous behavior in mules — An owner's perspective. *Journal of Equine Veterinary Science*, 60, 109–112.e2. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.09.010>

Henry M, Gastal EL, Pinheiro LEL, Guimaraes, SEF. (1995). Mating pattern and chromosome analysis of a mule and her offspring. *Biology of Reproduction*, 52(monograph_series1), 273–279. Recuperado de: https://doi.org/10.1093/biolreprod/52.monograph_series1.273

Kydd J, Boyle MS, Allen WR, Shephard A, Summers PM. (1985). Transfer of exotic equine embryos to domestic horses and donkeys. *Equine Veterinary Journal*, 17(S3), 80–83. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb04601.x>

Losinno L, Pietrani M. (2017). Pautas para mejorar la eficiencia en programas de transferencia embrionaria en equinos. En: Losinno, Herrera, Pietrani (eds). *Reproducción Asistida en Equinos I*, (69-76). FAVE Editorial. LaPLata, Argentina.

Losinno L, Pietrani M. (2019). Guidelines for improving efficiency in equine embryo transfer programs. En: Losinno, Sanchez, Stout, Pietrani (eds). *Equine Assisted Reproduction*, (143-155) (ISBN 978-958-59883-1-6).FAVE Editorial. La Plata, Argentina

Losinno L, Urosevic M. (2015). Equine embryo transfer. Technical and practical considerations for application on horse production programs. 19TH International Symposium on Animal Science (ISAS) and 20th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction (ICBAR), Novi Sad, Serbia (pp23-30) (ISBN 978-86-7520-346-9).

Lozano CB, Von Chong EA, Meza LC. (2011). Mosaicismo linfocitario de equus mulus fértil y estudio cromosómico de su cría. *AbanicoVet*, 1(2), 27-33. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/abanico/av-2011/av112d.pdf>

RESEÑA

Correa Garza y Losinno La mula: una alternativa [...] Lunelli D, Pires Neves P. (2018). Características do ciclo estral e da dinâmica folicular em fêmeas muaras (Equus mulus). *Tese de Doutorado*. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10183/194565>

McCue P. (2019). Hormone therapy for assisted reproduction in mares. En: Losinno et al., (editores). *Equine Assisted Reproduction*, (47 - 52). FAVE Editorial. La Plata, Argentina.

McCue P, Squires E. (2015). Management of Recipients. En: McCue P, Squires E. (eds). *Equine Embryo Transfer*, (97-104). Jackson, WY: Teton NewMedia.

McCue P, Squires E. (2015). Management of the Donor Mare. En: McCue P, Squires E. (eds). *Equine Embryo Transfer*, (97-104). Jackson, WY: Teton NewMedia.

McLean A, Varnum A, Ali A, Heleski C, Navas González FJ. (2019). Comparing and contrasting knowledge on mules and hinnies as a tool to comprehend their behavior and improve their welfare. *Animals*, 9(8), 488.

Recuperado de: <https://doi.org/10.3390/ani9080488>

Mestre A, Antczak DF, Allen WR. (2011). Equine Chorionic Gonadotropin (eCG). En: McKinnon et al., (eds). *Equine Reproduction* (1648-1664). United Kingdom: Blackwell Publishing.

Oliveira IV, Canisso IF, Segabinazzi LG, Dell'Aqua CPF, Alvarenga MA, Papa FO, Dell'Aqua JA. (2018). Synchronization of cyclic and acyclic embryo recipient mares with donor mares. *Animal Reproduction Science*, 190, 1–9.

Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.016>

Pessoa M, Cannizza A, Reghini M, Alvarenga M. (2011). Embryo transfer efficiency of quarter horse athletic mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31(12), 703-705. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.06.001>

Pietrani M, Etcharren V, Losinno L. (2011) Primera potranca nacida de una mula por transferencia embrionaria en Argentina. Proc. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal, Viña del Mar, Chile.(63-65)

Pietrani M, Losinno L, Cuervo-Arango J. (2019). Effect of the interval from prostaglandin F2alpha treatment to ovulation on reproductive efficiency rates in a commercial equine embryo transfer program. *Journal of Equine Veterinary Science*, 78, 123 - 126. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.04.006>

Quintero MF, Zarco QL. (1996). Transferência de embriones híbridos (E. caballus x E. asinus) en mulas. *Veterinaria México*, 27, 175-177. Recuperado de: <https://biblat.unam.mx/es/revista/veterinaria-mexico/articulo/transferencia-de-embriones-hibridos-e-caballus-x-e-asinus-en-mulas>

Rong R, Chandley AC, Song J, McBeath S, Tan PP, Bai Q, Speed RM. (1988). A fertile mule and hinny in China. *Cytogenetic and Genome Research*, 47(3) 134-139. Recuperado de: <https://doi.org/10.1159/000132531>

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Schiestl A, Camargo CE, Szczerbowski CR, Lunelli D. (2013). Acompanhamento ultrassonográfico da dinâmica folicular em mulas (*Equus mulus mulus*). XIV Conferência Anual da ABRAVEQ (poster)

Shaw E, Houpt KA. (2010). Short report: Pre- and post partum behaviour in mules impregnated by embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*, 17(S3), 73-73. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb04597.x>

Short RV, Chandley AC, Jones RC, Allen WR. (1974). Meiosis in interspecific equine hybrids. II. The przewalski horse/domestic horse hybrid. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 13(5), 465–478. Recuperado de: <https://doi.org/10.1159/000130300>

Sieme H, Rau J, Tiedemann D, Oldenhof H, Barros L, Sánchez R, Blanco M, Martinsson G, Herrera C, Burger D. (2018). Equine Embryo Transfer. En: Niemann H, Wrenzycki C. (eds). *Animal Biotechnology 1*, (179–192). Recuperado de: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92327-7_8

Silva ES, Pantoja JC, Puoli JN, Meira C. (2015). Ultrasonography of the conceptus development from days 15 to 60 of pregnancy in non-cyclic recipient mares. *Ciência Rural*, 45(3), 512–518. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20140517>

Squires E. (2020). Current reproductive technologies impacting equine embryo production. *Journal of Equine Veterinary Science*, 89, 102981. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102981>

Squires E, McCue P, Vanderwall D. (1999). The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 51(1), 91–104. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00234-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00234-9)

Stewart F, Allen W. (1995). Comparative Aspects of the evolution and function of the chorionic gonadotrophins. *Reproduction in Domestic Animals*, 30(4), 231–239. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1995.tb00152.x>

Stout TAE. (2006). Equine embryo transfer: Review of developing potential. *Equine Veterinary Journal*, 38(5), 467–478. Recuperado de: <https://doi.org/10.2746/042516406778400529>

Summers PM, Shephard AM, Hodges JK, Kydd J, Boyle MS, Allen WR. (1987). Successful transfer of the embryos of Przewalski's horses (*Equus przewalskii*) and Grant's zebra (*E. burchelli*) to domestic mares (*E. caballus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 80(1), 13–20. Recuperado de: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0800013>

Taylor MJ, Short RV. (1973). Development of the germ cells in the ovary of the mule and hinny. *Journal of Reproduction and Fertility*, 32(3), 441–445. Recuperado de: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0320441>

RESEÑA

Correa Garza y Losinno

La mula: una alternativa [...]

Urias-Castro C, Zarco L, Boeta AM. (2017). The role of equine chorionic gonadotropin in the stimulation of luteal steroidogenesis in mares carrying horse or mule pregnancies. *Journal of Equine Veterinary Science*, 50, 1–7.

Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.10.012>

VonMeyeren M, Losinno L. (2017). Análisis de costos de producción en modelos de programas de transferencia de embriones equinos en Argentina. En: Losinno L, Pietrani M (eds). *Bioteχνologías reproductivas en equinos II*, (359-363). FAVE Editorial. La Plata, Argentina.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés relacionado a cualquier recomendación o menciones hechas en este trabajo.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. Carlos Eduardo Camargo por su gentileza al compartir con nosotros su experiencia y fotografías y con la Dra. Melina Pietrani por su revisión profesional de este trabajo.