



XXXV

REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL

DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE

PRODUCCIÓN ANIMAL

Puno, Noviembre del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNÍA

- Bourke DA, Adam C, Kyle C. 1992. Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). *Vet Rec* 130: 424-428.
- Correa J, Ratto R., Gatica R. 1997. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and eCG used individually or combination. *AnimReprodSci* 46: 289-296.
- Fernández Baca S, Hansel W, Novoa C. 1970c. Corpus luteum function in alpaca. *BiolReprod* 3: 252–261.
- Gibson, A., Cueto, M., Iovanniti, B y Lanuza, G. 1996. *Rev. Arg. De Prod Animal*, Bs. As. 16(4):341-342.
- Hafez E. 1996. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 6ª ed. México: Interamericana McGraw–Hill. 525 p.
- Huanca W, Cárdenas O, Cordero A, Huanca T, Sapana R. 1999. Respuesta ovárica a gonadotropinas (eCG y hCG) en alpacas durante la época seca. En: *Resúmenes II Cong Mundial Camélidos*. Cusco. p. 92.
- Ratto M, Gatica R, Correa J. 1997. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*) treated with pFSH. *AnimReprodSci* 48: 325-330.
- Velásquez C, Novoa C. 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *RevInvVet, Perú* 10(1): 39-47.

RESPUESTA OVARICA A LA SUPER OVULACION Y COLECTA DE EMBRIONES EN BORREGAS CORRIEDALE EN EPOCA NO REPRODUCTIVA EN LA ESTACION EXPERIMENTAL ILLPA

González, M.L*; O. Cardenas; R. Sapana; R. Mamani.
Programa Nacional Innovación en Camélidos – Ovinos - INIA - Puno – Perú.
E-mail: mariolinogonzales@gmail.com

RESUMEN

El estudio se realizó en el mes de septiembre del 2012, en la Estación Experimental Agraria Illpa, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) a 3,820 m.s.n.m., en el departamento y provincia de Puno, distrito de Paucarcolla, con el objetivo determinar la respuesta ovárica a un estímulo superovulatorio con dos niveles de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y dos tiempos de retiro de esponjas intravaginales en borregas donantes de embriones en época no reproductiva. Se utilizaron 12 borregas de la raza Corriedale de diferente edad en condición corporal 3 (escala de 1 a 5), distribuidas aleatoriamente en tres grupos, para evaluar tres protocolos: T1. Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 14 días y 200 mg FSH-P1 (Folltropin-V, Bioniche, Canada), T2. Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 6 días y 200 mg FSH-P1, T3 Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 14 días y 100 mg FSH-P1, En todas las borregas se aplicó el día 0, esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de Acetato de Flugesterona y 330 UI Gonadotropina Corionica Equina al final del tratamiento progestacional. Las donantes fueron empadradas con carnero a tiempo fijo a las 48 y 56 horas post retiro de las esponjas intravaginales. Seis días post empadre se realizó la colecta en las donantes. Se utilizó la técnica quirúrgica de laparotomía con una incisión abdominal de 4 a 5 cm por línea media con la exteriorización de los ovarios para evaluación de respuesta ovárica y la colecta de estructuras embrionarias de los cuernos con 40 ml de medio de lavado. Los resultados del tratamiento 1 presenta un mayor número folículos preovulatorios y de cuerpos lúteos ($P < 0.05$). La tasa de recuperación de estructuras embrionarias es mayor en las borregas del tratamiento tres con un 70.5% ($P < 0.05$) y un promedio de 3 estructuras embionarias recuperadas. Los datos se han analizado mediante un diseño completamente al azar, se ha utilizado la prueba múltiple de Duncan con un nivel de significación del 5%. Los datos se han procesado utilizando el programa estadístico SAS®.

Palabras clave: Respuesta ovárica – Superovulación - Embriones - Ovinos

INTRODUCCIÓN

La variación en la respuesta ovulatoria con la aplicación de hormonas exógenas es hasta la fecha una de las principales limitaciones en la eficiencia de los programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones en ovinos (Herrera-Camacho et al 2008). La transferencia de embriones en ovinos permite introducir nuevas razas mediante la implementación de núcleos genéticos élite para reconformar la ganadería, mejorar la rentabilidad y su competitividad. Así mismo la transferencia de embriones permite que se identifique un considerable número de animales excepcionales por su mérito genético y se optimice las ventajas de la técnica como transporte, almacenamiento de embriones, calidad sanitaria. El objetivo del estudio fue, determinar la respuesta ovárica a un estímulo superovulatorio con dos niveles de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y dos tiempos de retiro de esponjas intravaginales en borregas donantes de embriones.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el mes de septiembre del 2012, en la Estación Experimental Agraria Illpa, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), en el Centro de Investigación y Producción Illpa ubicado a 3,820 m.s.n.m., en el departamento y provincia de Puno, distrito de Paucarcolla, zona agroecológica Suni. En el estudio se utilizaron 12 borregas de la raza Corriedale de diferente edad en condición corporal 3 (escala de 1 a 5), mantenidas bajo condiciones de pastoreo extensivo, en las que se realizó la superovulación. Las borregas se dividieron aleatoriamente en tres grupos, para evaluar tres protocolos:

T1. Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 14 días y 200 mg FSH-P1 (Folltropin-V, Bioniche, Canada), en 6 dosis decrecientes cada 12 horas a partir del día 12 (50, 50, 30, 30, 20, 20 mg FSH'P1).

T2. Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 6 días y 200 mg FSH-P1, en 6 dosis decrecientes cada 12 horas a partir del día 4 (24, 24, 16, 16, 10, 10 mg FSH'P1).

T3 Protocolo de superovulación en donantes sincronizadas con esponjas intravaginales por 14 días y 100 mg FSH-P1, en 6 dosis decrecientes cada 12 horas a partir del día 12 (50, 50, 30, 30, 20, 20 mg FSH'P1).

En todas las borregas se aplicó el día 0, esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de Acetato de Flugesterona (Chronogest, Intervet international B.V. Holanda) y una aplicación vía intramuscular profunda de 330 UI Gonadotropina Corionica Equina (eCG) (Folligon, Intervet Internacional B.V. Holanda) al final del tratamiento prostestacional.

Las donantes fueron empadradas con carnero a tiempo fijo a las 48 y 56 horas post retiro de las esponjas intravaginales.

Seis días post empadre se realizó la colecta en las donantes, para ello, se administro 0.3 ml de tranquilizante Acepromacina maleato (Promazil, Sanivet, Perú), 5 ml de anésteico local (Lidocaina clorhidrato al 2%, (Lab. Terbol, Bolivia) y colocadas en una camilla diseñada para ovinos. Se utilizó la técnica quirúrgica de laparotomía con una incisión abdominal de 4 a 5 cm por línea media con la exteriorización de los ovarios para evaluación de repuesta ovárica y la colecta de estructuras embrionarias de los cuernos a través de la fijación de Sonda Foley N° 10 en la base del cuerno. El flujo de líquido de lavado (PBS + BSA 2%) fue dirigido de la unión utero tubárica a través de un cateter G18 x 2" hacia el cuerno uterino con salida directa a una placa Petri, cada cuerno fue lavado con 40 ml de medio de lavado. Una vez ubicado las estructuras embrionarias se paso a una placa pequeña con medio de rehidratación Holding (SYNGRO Holding Bioniche, USA), previo a su congelamiento.

Los datos se han analizado mediante un diseño completamente al azar. Las variables número de folículos y cuerpos lúteos previo al análisis se han transformado a logaritmo de base 10 (\log_{10}), las variable tasa de ovulación se ha transformado a valores angulares, las variables tasa de recuperación de embriones y número de estructuras embrionarias $[x + 1]$ se han transformado. Se ha utilizado la prueba múltiple de Duncan con un nivel de significación del 5%. Los datos se han procesado utilizando el programa estadístico SAS®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio, respecto al uso de la esponja intravaginal se reporto una perdida en el tercer grupo, la cual fue excluida del estudio.

En la Tabla 1, el tratamiento 1 presenta un mayor número folículos preovulatorios y número de cuerpos lúteos ($P < 0.05$), con una tasa de ovulación similar. La tasa de recuperación de estructuras embrionarias es mayor en las borregas del tratamiento tres ($P < 0.05$) con un promedio de 3 estructuras embionarias recuperadas.

Tabla 1. Respuesta ovárica y producción de estructuras embrionarias en borregas Corriedale superovuladas en época no reproductiva.

Tratamiento	No	Variable	Promedio	Des. Est.	Coef. Var.	Mínimo	Máximo
T1.	4	N° folículos	14.8 ^a	9.6	65.4	8	29
		N° cuerpos lúteos	13.3 ^a	10.6	80.2	6.0	29
		Tasa ovulación	87.5	25.0	28.6	50.0	100.0
		N° estructuras embionarias recuperadas	2.0	2.3	115.4	0.0	4.0
		Tasa de recuperación de estructuras	16.0 ^b	23.6	148.0	0.0	50.0
T2	4	N° folículos	7.0 ^{ab}	1.4	20.2	6.0	9.0
		N° cuerpos lúteos	5.8 ^{ab}	0.9	16.6	5.0	7.0
		Tasa ovulación	83.1	12.3	14.7	71.4	100.0
		N° estructuras embionarias recuperadas	2.5	1.7	69.3	1.0	5.0
		Tasa de recuperación de estructuras	43.0 ^{ab}	28.1	65.4	20.0	83.3
T3	4	N° folículos	5.3 ^b	1.5	28.6	4.0	7.0
		N° cuerpos lúteos	4.7 ^b	2.5	53.9	2.0	7.0
		Tasa ovulación, %	83.3	28.9	34.6	50.0	100.0
		N° estructuras embionarias recuperadas	3.0	1.73	57.7	2.0	5.0
		Tasa de recuperación de estructuras, %	70.5 ^a	30.0	42.6	40.0	100

Diferentes letras entre filas indican diferencia estadística $P < 0.05$.

La respuesta a la superovulación fue variable entre borregas (Tabla 1), la tasa de recuperación de estructuras embrionarias en el tratamiento 3 fue de 70.5 % siendo similar a Herrera-Camacho et al, 2008. El número promedio de embriones por colecta fueron inferiores a los reportados por Torres et al 1987, a los obtenidos de 4.7 embriones/borrega por Herrera-Camacho et al, a los obtenidos de 7.3 ± 3.3 y 1.6 ± 0.9 estructuras embrionarias por Pliego 2005 en ovinos pelibuey, cuando administro dosis de 280 y 220 mg de FSHp, a los 7.41 ± 1.07 reportados por Jarquin el 2009 y a los 7.6 ± 1.0 obtenidos por Gibbons en 1995 en época reproductiva.

CONCLUSIONES

En el estudio se obtuvo una mejor respuesta ovárica y en la colecta de embriones cuando se usa dosis de 100 mg FSH-P1 y son sincronizadas con esponjas intravaginales por 14 días, respuesta supeditada a factores como época, raza, nutrición y dosis.

BIBLIOGRAFÍA

- Gibbons, A y I. Cueto. 1995. transferencia de embriones. en ovinos y caprinos. INTA EEA Bariloche – Argentina. www.biblioteca.org.ar/libros/210335.pdf
- Herrera-Camacho, J., J. Aké-Lopez, J. Ku-Vera y G. Willians. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. Tecnicas Pecuarías. www.tecnicapecuaria.org.mx/publicaciones/publicacion04.php
- Jarquin, S. 2009. Efecto de la sincronización con una o dos esponjas de FGA sobre la respuesta superovulatoria en ovejas. Tesis Zootecnia – Universidad Papaloapam – México. www.unpa.edu.mx/tesis_Loma/tesis.../Tesis_SheilaJarquin.pdf
- Pliego, G. 2005. Respuesta ovárica a un estímulo de superovulación con diferentes niveles de FSH en ovinos pelibuey. Tesis MVZ. Universidad Veracruzana-Mexico cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/.../GuadalupePliegoPalacios.
- Torres, S.; Y. Cognié y G. Colas. 1987. Transfer of superovulated sheep embryos obtained with different FSH-p. Theriogenology

SUPLEMENTACION DEL MEDIO DE MADURACION CON CISTEAMINA Y SU EFECTO SOBRE EL DESARROLLO *In vitro* DE OVOCITOS BOVINOS

Quintanilla L.¹; Benavides L.²; Ampuero A.² y Huanca W.¹

¹Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Email:

whuanca2002@yahoo.com

²Laboratorio de Producción Agropecuaria, Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos

RESUMEN

El estudio se realizó entre Mayo y Junio del 2012, con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de cisteamina en el medio de maduración sobre la tasa de división y desarrollo de ovocitos bovinos fecundados y cultivados *In vitro* hasta los 8-9 días post fecundación. Ovocitos obtenidos de ovarios de hembras bovinas sacrificadas en un centro de sacrificio fueron distribuidos en: T₁ (n=321) Medio de Maduración TCM-199 y T₂ (n=359) Medio de Maduración TCM-199 + 100mM de cisteamina. Los ovocitos fueron madurados por 24 horas en condiciones de 5 % CO₂ y 39°C, con humedad máxima. Cumplido el periodo de maduración fueron fecundados con semen congelado de un solo toro, sometido previamente a una gradiente discontinua de Percoll. Los presuntos cigotos de ambos tratamientos fueron cultivados en medio KSOMaa bajo 39°C y 5 % de CO₂, evaluándose la tasa de división a 72 horas y desarrollo embrionario al día 7 post fecundación. Los resultados indican una tasa de división de 43.6% para el T₁ y 45.9% para el T₂ (n.s.) y un 17.9 % y 20.9 % para T₁ y T₂, respectivamente (p<0.05). Los resultados señalan que si bien no se reportan diferencias significativas entre los ovocitos madurados con o sin inclusión de cisteamina, si se reportan diferencias en la tasa de desarrollo embrionario a los 7 días de cultivo, entre los tratamientos de maduración con y sin cisteamina, por un posible efecto beneficioso de la cisteamina sobre los ovocitos fecundados.

Palabras claves: Fecundación *In vitro*, cisteamina, bovinos

INTRODUCCION

La producción de embriones *In vitro* se presenta como una alternativa biotecnológica para contribuir al mejoramiento genético o a mejorar los esquemas de manejo reproductivo en bovinos y otras especies. Los reportes sobre la tasa de embriones obtenidos bajo condiciones *In vitro* aun son deficientes y no superan el 50 % de embriones en estadio de blastocisto, por lo que se requiere incrementar la tasa de embriones obtenidos, mediante investigaciones que se orienten a optimizar los factores que pueden afectar la tasa de blastocistos obtenidos.

Entre los eventos que afectan la producción de embriones *In vitro* se consideran a la primera división embrionaria, evento crítico para el subsecuente desarrollo del embrión (Lonergan et al., 1999); activación del genoma embrionario en la etapa de 8 a 16 células (Memili y First, 2000); compactación de la mórula en el día cinco (Boni et al., 1999) y la consiguiente formación del blastocisto a los días seis ó siete post fecundación (Watson, 1992). Uno de los factores considerados es el efecto de las sustancias reactivas al oxígeno (ROS), componentes producidos durante el metabolismo del ovocito y que podría generar un posible efecto negativo sobre el éxito de los protocolos. La producción de ROS es controlada por varios antioxidantes y entre los antioxidantes no enzimáticos se incluyen el glutatión (GSH), a-tocoferol, beta-caroteno ascorbato, y la vitamina C (Agarwal et al., 2005). El glutatión (GSH), un importante antioxidante soluble en agua, se sintetiza a partir de los aminoácidos glicina, glutamato y cisteína. Durante el desarrollo del ovocito en el ovario, el GSH se acumula en el ovocito protegiéndolo en estadios posteriores a la fecundación (Urdaneta, 2005). El incremento en el contenido de GSH