

gestación) es menor a los reportes del 58.3% (Nordstoga *et al.* 2009) y el 64% de la gestación total del presente estudio supera al 53.8% (Nordstoga *et al.* 2009), indican que estas variaciones son afectadas por factores como la alimentación, manejo, efecto semen del macho, etc.

CONCLUSIÓN

Que el semen procesado (congelación) de carneros con ciertas modificaciones al protocolo original produce tasas de gestación y parición satisfactorias, abriéndose la posibilidad de aplicar esta técnica de inseminación artificial con semen congelado vía cervical o vaginal en condiciones de campo en el altiplano peruano.

LITERATURA CITADA

- Donovan A, Hanrahan JP, Kummen E, Duffy P, Bonland MP. 2004. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronized oestrus. *Anim Reprod Sci* 84: 359-368.
- Elsden RP. Manual for embryo transfer. 1987. Peter Elsden and associates, Inc. 6599 Country Rd. 29C, Bellvue, CO 80512. USA
- Gil J, Rodríguez-Iraozqui M, Lundeheim N, Soderquist L, Rodríguez-Martínez H. 2003a. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell and used for cervical insemination. *Theriogenology* 59:1157-1170.
- Gil J, Lundeheim N, Soderquist L, Rodríguez-Martínez H. 2003b. Influence of extender, temperature, and addition of glycerol on post-thaw sperm parameters in ram semen. *Theriogenology* 59:1241-1255.
- Matsouka T, Imai H, Kohno H, Fukui Y. 2006. Effects of bovine serum albumin and trehalose in semen diluents for improvement of frozen-thawed ram spermatozoa. *J Reprod Dev* 52:675-683.
- Nordstoga A, Soderquist L, Adnoy T, Paulenz H. 2009. Effect of different packages and freezing/thawing on fertility of ram semen. *Reprod Dom Anim* 44: 527-531.
- Papadopoulos S, Hanrahan JP, Donovan A, Duffy P, Bonland MP, Lonergan P. 2005. In vitro fertilization as a predictor of fertility from cervical insemination of sheep. *Theriogenology* 63:150-159.
- Paulenz H, Soderquist L, Adnoy T, Nordstoga A, Gulbrandsen B, Berg KA. 2004. Fertility results after different thawing procedures for ram semen frozen in minitubes and mini straws. *Theriogenology* 61:1719-1727.
- Pérez MG, Quispe TL, Quispe F, Aguirre E, Quispe ML, Pérez UH. 2010. Porcentaje de gestación y parición en ovejas usando inseminación laparoscópica con semen congelado. *Revista de Ciencias Veterinarias* Vol. 26 Nro 3. Lima-Peru.
- Soderquist L, Lundeheim N, Nilsson B. 1999. Assessment of fertility after using different procedures to thaw ram spermatozoa frozen in mini straws. *Reprod Dom Anim* 34: 61-66.

RESPUESTA OVARICA EN VICUÑAS (*Vicugna vicugna*) A LA ESTIMULACION EXOGENA CON LA HORMONA eCG (Gonadotropina corionica equina)

Cárdenas, O*; Gonzales, M; Apaza, N; Sapana, R; Mamani, R.

Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA-IIIpa-Puno

Resumen:

El trabajo de investigación se realizó en el CIP.Quimsachata, de la Estación Experimental IIIpa-Puno-INIA, con el propósito de evaluar la respuesta ovárica en vicuñas hembras aplicando la eCG en fase luteal, se utilizaron 6 vicuñas adultas. Mediante la técnica de ultrasonografía, los animales fueron seleccionados al observar un folículo preovulatorio \geq a 7 mm, induciéndose la ovulación mediante la aplicación de 1 ml GnRH, dos días después los animales fueron evaluados mediante ecografía para confirmar la ovulación, al tercer día se empezó el protocolo de estimulación mediante la aplicación por 650 UI de eCG. El día siete se aplicó 1 ml de pPGF₂. El día ocho se evaluó los folículos preovulatorios y se inyectó 1 ml de GnRH. Día quince evaluación de la respuesta ovulatoria mediante ecografía (Formación de cuerpos lúteos). En vicuñas se observó que el ovario izquierdo (7/11) es más activo que el derecho (4/11). La respuesta ovárica a la estimulación con eCG, fue del 81.81% de los animales (9/11), con un promedio de 5.22 folículos por vicuña y 2.76 folículos por ovario con un tamaño 8.01mm. A la evaluación de cuerpos lúteos se observó en promedio 4 y 2.33 estructuras por vicuña y por ovario respectivamente, con un tamaño de 11.55 mm. Los resultados obtenidos indican una respuesta moderada de las vicuñas a la estimulación ovárica mediante la aplicación de la eCG, abriendo las posibilidades de aplicación de técnicas de reproducción asistida en esta especie.

Palabras claves: ovarios, vicuñas, estimulación, exógena, eCG

Introducción

La vicuña es un animal silvestre que constituye un recurso natural renovable de innegable potencial para el Perú, que posee el 80% de la población mundial. Las hembras vicuña alcanzan la madurez sexual al año de edad y a los dos años pueden tener el primer parto, pero es una especie considerada de estrategia K por los bajos índices reproductivos que presenta y que limita su multiplicación, esta baja tasa reproductiva podría mejorar se aplicando técnicas de reproducción asistida como la superestimulación y transferencia de embriones biotecnologías reproductiva que puede incrementar los índices de natalidad para esto, es necesario conocer la respuesta ovárica a la aplicación de gonadotropinas exógenas. Los estudios realizados hasta la fecha en camélidos domésticos sugieren una baja tasa de respuesta ovárica y recuperación de embriones, cuando la superestimulación ha sido ejecutadas durante la fase folicular (Correa y col 1997, Ratto y col 1997, Huanca y col 1999) la respuesta ovárica en alpacas al tratamiento superovulatorio con eCG en fase luteal

inducida, es mayor que la registrada en fase folicular, en número como en formación de cuerpos lúteos (Bourke y col 1992, Agüero y col 2001). El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la respuesta ovárica en vicuñas hembras aplicando la gonadotropina corionica equina en fase luteal inducida protocolo con el que en camélidos domésticos se obtuvo los mejores resultados.

Material y métodos

Localización del experimento:

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Quimsachata, perteneciente a la Estación Experimental ILLPA-PUNO del Instituto nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicado en la zona agroecológica de puna seca a 4200 msnm, en los distritos de Cabanillas y Santa Lucía, perteneciente a las provincia de San Román y Lampa, Región Puno, a 15°04' de latitud Sur y a 70°18' de longitud Oeste, durante los meses de, febrero, marzo y abril del presente año.

Material biológico:

Se utilizaron 6 animales hembras adultas, en buenas condiciones corporales (CC=2.8), para la evaluación de la respuesta ovárica de las vicuñas a la aplicación de la hormona eCG. Todos los animales experimentales estuvieron bajo las mismas condiciones alimenticias en cercos de pastos naturales.

Metodología:

Sincronización y superestimulación de hembras

Mediante la técnica de ultrasonografía transrectal se realizó la evaluación de los ovarios de las vicuñas hembras experimentales utilizando un equipo portátil Tringa Linear, equipado con una sonda veterinaria endorectallineal multifrecuencia.

Los animales fueron seleccionados secuencialmente, al observar un folículo preovulatorio \geq a 7 mm. Induciéndose la ovulación mediante la aplicación de 1 ml de un análogo sintético de la GnRH (0.0042 mg Acetato de Buserelina; Conceptal - Intervet) por vía intramuscular (im). Dos días después los animales fueron evaluados mediante ecografía, para observar la respuesta ovárica a la hormona (ovulación), al tercer día se empezó el protocolo de superestimulación mediante la aplicación por 650 UI vía im de gonadotropina corionica equina eCG (Folligon-Intervet). El día siete se aplicó 1 ml de PGF2 (Ileren equivalente a 0.150 mg de triprost). Día ocho evaluación del número de folículos preovulatorios, aplicación de 1 ml de GnRH (0.0042 mg Acetato de Buserelina; Conceptal - Intervet). Día quince evaluación de la respuesta ovulatoria mediante ecografía (Formación de cuerpos lúteos)

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante la prueba t-student. Previo al análisis las variables número de folículos superestimulados y número de cuerpos lúteos se han transformado a la variable tamaño de cuerpo lúteo se ha transformado a \log_{10} . Los datos se procesaron con el programa estadístico SAS 9.2 haciendo uso del procedimiento TTEST y MEANS.

Resultados y discusión

Folículos preovulatorios

Las vicuñas fueron evaluadas mediante ecografía transrectal, con la finalidad de determinar la presencia en uno de los ovarios de un folículo preovulatorio \geq a 7 mm para iniciar el protocolo de sincronización y superestimulación.

Tabla 1. Número y tamaño de folículos al día cero, en vicuñas (promedio \pm desviación estándar)

Lado de ovario	Número de vicuñas	Número promedio por hembra	Tamaño promedio
Derecho	4	1.00 \pm 0.00	8.00 \pm 1.41
Izquierdo	7	1.14 \pm 0.14	9.07 \pm 2.62
Total general	11	1.09 \pm 0.30	8.68 \pm 2.24

En la tabla 1, se observa que el número promedio de folículos por hembra al día cero fue de 1.09 \pm 0.30, en vicuñas el ovario izquierdo (7/11) demostró ser más activo que el derecho (4/11), sin embargo no existe diferencia significativa entre los ovarios ($p \geq 0.05$); en un trabajo realizado en guanacos por laparoscopia se observó en el ovario izquierdo (83% de los ovarios tenían folículos ≥ 10 mm) mayor presencia de folículos mientras que el ovario derecho, presentaba solo folículos ≤ 3 mm (Gibbson *et al.*, 1996), valores similares encontrados en este trabajo; el tamaño promedio de los folículos al día cero para el inicio del protocolo de superestimulación fue de 8.55 \pm 2.30 mm, considerado como folículo preovulatorio, no existiendo diferencia significativa entre ovarios ($p \geq 0.05$). El desarrollo folicular en camélidos está dividido en tres fases que aproximadamente dura 12 días, fase de crecimiento, fase de madurez donde el folículo alcanza el tamaño preovulatorio (entre 7 a 12 mm) y la fase de regresión (Bravo y Sumar, 1982), se ha determinado que la velocidad de crecimiento de los folículos en vicuñas es de 1.88 mm por día (Agüero y col, 2001; Miragaya y col, 2004).

Estimulación ovárica

Tabla 2. Número y tamaño de folículos superestimulados al día ocho, en vicuñas (promedio \pm error estándar)

Lado de ovario	Número de ovarios	Número promedio por ovario	Tamaño promedio por ovario
Derecho	9	3.33 \pm 0.60	7.65 \pm 0.34
Izquierdo	8	2.13 \pm 0.30	8.57 \pm 0.60
Total general	17	2.76 \pm 0.37	8.08 \pm 0.34
Respuesta a la superestimulación de vicuñas	9/11 (81.81%)		
Folículos superestimulados por hembra (prom. \pm DS)	5.22 \pm 1.86		
Tamaño del folículo (prom. \pm EE)	8.01 \pm 0.43		

Los resultados sobre la respuesta ovárica a la estimulación con eCG, se muestran en la tabla 2, donde se observa que el porcentaje de vicuñas que respondieron, fue de 81.81%, con un promedio de 5.22 \pm 1.86 folículos por vicuña y con un tamaño 8.01 \pm 0.43 mm. El número promedio de folículos por ovario al día ocho es de 2.76 \pm 0.37 mm no se observa diferencia significativa entre ambos ovarios ($p \geq 0.05$); el tamaño promedio por ovario fue de 8.08 \pm 0.34 mm, no observándose diferencia estadística entre ambos ovarios ($p \geq 0.05$). Llamas hembras fueron sometidas a un tratamiento de superestimulación ovárica con 1000 UI de eCG obteniéndose una respuesta ovárica de 7.5 \pm 1.0 folículos por animal (Huanca y col. 2005). Se evaluó la respuesta ovárica en vicuñas al tratamiento con 750 UI de eCG que previamente fueron tratados con progestágenos, a través de la observación directa de las estructuras desarrolladas en los ovarios, en promedio se observó 22.77 \pm 4.26 folículos desarrollados por animal (Aba y col. 2005), datos diferentes a los encontrados en este trabajo.

Formación de cuerpos lúteos

Después de la ovulación comienza la hipertrofia y luteinización de las células de la granulosa. Posteriormente el tejido de este cuerpo lúteo se agranda principalmente por hipertrofia de las células luteínicas (Hafez, 1996). El cuerpo lúteo es claramente detectado por ecografía alrededor del día 3-4 después de la monta en alpacas, y a los 4-5 días post-monta en llamas, (Fernández Baca *et al.*, 1970; Adams *et al.*, 1991)

Tabla 3. Número y tamaño de cuerpos lúteos, en vicuñas (promedio \pm error estándar)

Lado de ovario	Número de ovarios	Número promedio por ovario	Tamaño promedio por ovario
Derecho	7	2.43 \pm 0.53	12.15 \pm 1.58
Izquierdo	5	2.20 \pm 0.37	13.53 \pm 3.11
Total general	12	2.33 \pm 0.33	12.73 \pm 1.51
Porcentaje de vicuñas que ovularon	7/9 (77.78%)		
Cuerpos lúteos por hembra (prom. \pm DS)	4.00 \pm 1.73		
Tamaño del cuerpo lúteo (prom. \pm EE)	11.55 \pm 0.81		

En la tabla 3, se observa que el porcentaje de vicuñas superestimuladas que ovularon fue 77.78%, con un promedio de 4 cuerpos lúteos por vicuña y un tamaño 11.55 mm. El cuerpo lúteo alcanza un diámetro máximo (12 – 14 mm) al día 8-9 post-monta en camélidos domésticos, (Adams *et al.*, 1991), dato similar al encontrado en el presente estudio en vicuñas. El número promedio de cuerpos lúteos por ovario al día quince de iniciado el protocolo es de 2.33 \pm 0.33 no se observa diferencia significativa entre ambos ovarios ($p \geq 0.05$); el tamaño promedio por ovario fue de 12.73 \pm 1.51 mm, no se observa diferencia estadística entre ambos ovarios ($p \geq 0.05$). Los datos observados en el presente trabajo son menores a las respuestas obtenidas por Velásquez y Novoa (1999) y Novoa *et al.* (1999) en alpacas, quienes reportan 17.80 \pm 8.34 cuerpos lúteos en animales tratados con 1000 UI y 12.6 \pm 1.8 cuerpos lúteos en alpacas tratados con 750 UI de eCG, posiblemente por la dosis de hormona utilizado en los animales experimentales.

Conclusiones

- En vicuñas el ovario izquierdo (7/11) demostró ser más activo que el derecho (4/11). La respuesta ovárica a la estimulación con eCG, fue de 81.81% (9/11), con un promedio de 5.22 folículos por vicuña y 2.76 folículos por ovario con un tamaño 8.01 mm.
- A la evaluación de cuerpos lúteos se observó en promedio 4 estructuras por vicuña con un tamaño de 11.55 mm. El número promedio de cuerpos lúteos por ovario al día quince de iniciado el protocolo es de 2.33

Bibliografía citada

Adams G, Sumar J, Ginther O. 1991. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim Reprod Sci* 24:127-138

- 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.
- Gibbson, 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, Sapaná 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. Sapaná; 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 Foliculo 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 repuesta 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 reconfigurar 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 Foliculo 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).