



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

EFFECTO DE LA GnRH SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y TESTOSTERONA SÉRICA EN ALPACAS

Pacheco, J.I.¹; Huanca, T.²; Santiani, A.³; Evangelista, S.S.³; Mamani, R.H.²; Quispe T.L.¹

1. Instituto de Investigación y Promoción de Camélidos Sudamericanos-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNA. Puno. Perú.
2. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Estación Illpa. Puno. Perú.
3. Laboratorio de Reproducción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. Perú.

RESUMEN

En la estación experimental Quimsachata se realizó el siguiente trabajo de investigación, con los objetivos de evaluar el efecto de la administración de un análogo de GnRH sobre 9 características seminales y la concentración de testosterona sérica post aplicación. La colección de semen fue mediante vagina artificial donde se evaluó como características seminales el color, aspecto, pH, volumen, concentración, motilidad, vitalidad, anormalidades y endosmosis del semen entero una hora después de la aplicación de 50 µg de acetato de Buserelina, por tres oportunidades, con un intervalo de 7 días entre aplicación-colección, también se evaluó la concentración sérica de testosterona a los 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 y 135 minutos post aplicación de la hormona exógena, se incrementó ligeramente el pH, la concentración, la endosmosis y el porcentaje de anormales, hubo una ligera disminución en el volumen, la vitalidad y la motilidad; la concentración de testosterona sérica se incrementa de manera creciente hasta llegar al pico a los 60 minutos, después de lo cual disminuye lentamente. Se comprobó que los incrementos no son sostenibles pues a partir de la cuarta aplicación de la hormona, disminuye la calidad espermática hasta hacerse azoospermica.

Palabras clave: GnRH, testosterona, semen, alpaca

INTRODUCCION La descarga de GnRH del hipotálamo ocurre en forma intermitente en el día y la noche, esta descarga de GnRH causa la liberación de LH aproximadamente 30 minutos después, actuando sobre las células de Leydig, que inician su producción de progesterona, gran parte de la cual es transformada en testosterona, la cual tiene vida corta (20 a 60 minutos) y es de secreción pulsátil (Senger, 2003).

La evaluación de los niveles séricos de testosterona en alpacas adultas a lo largo del año indica la existencia de diferencias estadísticas entre época reproductiva y no reproductiva como: 1142.50 ± 108.27, 992.50 ± 14.90, 877.50 ± 74.84 y 2445.00 ± 694.82 pg/mL en los meses de marzo, junio, septiembre y diciembre respectivamente (Sumar *et al.*, 1990).

Dosis repetidas de 200 ng de GnRH en toros holstein causaron un incremento en la producción seminal y las concentraciones de LH y Testosterona (Miller y Amman, 1986), mientras que dosis repetidas de 50 µg de GnRH en carneros produjeron un incremento en la concentración de testosterona sérica y un incremento de la actividad sexual (Schambacher y Lunstra, 1977). Uno de los factores que causan la baja fertilidad en las alpacas es la baja calidad seminal que presentan los machos, por lo cual se planteó esta investigación, con el objetivo de mejorar la calidad seminal la utilización de GnRH, y evaluar el efecto de esta hormona sobre el perfil sérico de testosterona.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar el efecto de la GnRH sobre las características seminales en alpacas machos y Determinar las concentraciones séricas de testosterona post aplicación de GnRH

METODOLOGÍA El estudio fue realizado en el Centro de Investigación y Producción Quimsachata-Illpa-INIA-Puno, Las determinaciones hormonales fueron realizadas en el Laboratorio de Reproducción Animal de la FMV-UNMSM-Lima-Perú. Se utilizaron tres alpacas machos enteros de la raza huacaya para la obtención de semen y tres machos para la obtención de sangre para la determinación de testosterona sérica; edad promedio 7 años, peso vivo promedio de 69.7 kg y con tamaños testiculares normales.

Grupo I.- Se administró 50 µg IM de acetato de buserelina (GnRH) en dosis única, la evaluación de semen se realizó 1 hora después de aplicada la hormona, la aplicación de hormona se hizo una vez por semana, por tres semanas seguidas y se obtuvo 3 muestras por macho lo que hace un total de 9 colecciones.

Grupo control.- Similar al grupo 1 pero se aplicó solo 5 ml de solución salina vía intramuscular 30 minutos antes de la colección.

Las evaluaciones fueron hechas de las muestras de semen colectadas por vagina artificial, al volumen se determinó a la observación del tubo falcon graduado. El color por observación sobre una superficie oscura. El aspecto al inclinar el tubo falcon suavemente y observando cuán rápido discurre el semen por las paredes del tubo, describiéndose el aspecto en: líquido, semi viscoso, viscoso y muy viscoso. El pH realizando la medición con un pH-metro digital portátil HANNA® con sensibilidad de 0.01; La vitalidad mediante el porcentaje (%) de vivos y muertos, coloreados con eosina-nigrosina por 1 minuto y observados a 400 aumentos (40X). Motilidad mediante el conteo de espermatozoides motiles, sobre una lamina portaobjetos temperada y observados a 200 aumentos (20X). Concentración mediante el conteo de los espermatozoides utilizando una cámara de Neubauer, Anormalidades mediante el conteo del porcentaje de espermatozoides anormales previamente coloreados con Eosina-Nigrosina. Endosmosis mediante test hipoosmótico utilizando solución hipoosmótica con una osmolaridad de 150 mosmol.

Se obtuvieron muestras de sangre (2 ml) por venipunción yugular utilizando un vacutainer, las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 15 min, el suero obtenido fue almacenado en crioviales y mantenido en congelación a -20°C hasta su valoración. Las muestras fueron obtenidas el día de la aplicación de hormonas, a los siguientes tiempos post aplicación: 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 y 135 minutos, obteniéndose un total de 10 muestras por macho, lo que hace 120 muestras en total. La determinación de la concentración de testosterona fue hecha mediante la técnica de Radioinmunoanálisis, de acuerdo al protocolo recomendado por el fabricante (MP Biomedicals®, USA)

El análisis estadístico Para la evaluación de cada una de las características macro y microscópicas cualitativas (volumen, pH, concentración, vitalidad, motilidad, anormalidades y endosmosis) y para la comparación de las concentraciones de testosterona se utilizó un diseño de bloque completo al azar; Se obtuvo las transformaciones de estandarización, los análisis de varianza, la prueba de

Duncan (volumen, pH, concentración espermática y concentración de testosterona), prueba de Scheefe (motilidad, vitalidad, endosmosis y anomalías) y la prueba de chi cuadrado (color, aspecto) utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.2. (2009).

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. RESULTADOS

Características seminales cuantitativas de alpacas tratadas con GnRH (GI).

GRUPO	VOLUMEN (mL)	pH	CONCENTRACION (millones/mL)	VITALIDAD (%)	MOTILIDAD (%)	ENDOSMOSIS (%)	ANORMALIDADES (%)
G I (GnRH)	1.767 ^a	7.66 ^a	110 333 333.00 ^a	64.444 ^a	45.222 ^a	34.444 ^a	27.222 ^a
Grupo control	2.922 ^a	7.89 ^a	66 444 444.44 ^a	76.667 ^a	42.222 ^a	22.000 ^{ab}	26.222 ^a

Letras diferentes indican diferencia estadística entre características seminales evaluadas (P<0.05)

Características seminales cualitativas de alpaca del grupo I.

	Color			Aspecto		
	Bl.cristalino	Bl opaco	Bl lechoso	liquido	semi viscoso	viscoso muy viscoso
G1	-	77.8	22.2	11.2	44.4	44.4
G2	11.1	77.8	11.1	44.4	55.6	-

El volumen del eyaculado de machos tratados con GnRH tuvo un promedio de 1.76 mL, es ligeramente inferior al grupo control y podría deberse a que el incremento de testosterona sérica saturó los receptores a testosterona, iniciando la transformación a dihidrotestosterona (O'Donnellet *et al.*, 2006), la cual actúa en el proceso de erección y eyaculación, y al incrementarse la concentración sérica de dihidrotestosterona, la eyaculación en menor tiempo y con menor volumen.

Las muestras de semen colectado después de la aplicación de GnRH tuvieron mayoritariamente un color blanco opaco, el cual estuvo presente en el 77.8 % de las muestras, mientras que el 22.2 % de las muestras tuvieron un color blanco lechoso, similar al grupo control, evidenciando que fueron eyaculados completos y estaría relacionado a la concentración (Urquieta *et al.*, 2005)

El pH de las muestras de semen de animales tratados con GnRH va desde 6.95 a 8.33, el que se encuentra ligeramente superior a reportes anteriores, pero es similar al promedio del grupo control, lo cual estaría indicando que se encuentra dentro del pH fisiológico, similar al reporte de Bravo, (1997), quien indica un pH de 7.8.

La concentración espermática en el grupo 1 se incrementó, con un promedio de 110 388 889.9, superior a lo reportado por Bravo, (1997) quien indica una concentración de 56 200 000 espermatozoides /mL, también es superior al grupo 2, indicando que la aplicación de GnRH induce una mayor liberación de espermatozoides en el eyaculado, similar a lo reportado en camellos por (Willmenet *et al.*, 1992).

La vitalidad de los espermatozoides eyaculados luego de la aplicación de GnRH fue de 64.4 %, este promedio se encuentra dentro del rango de vitalidad descrito para esta especie, siendo ligeramente inferior al grupo control.

Los espermatozoides del grupo 1 presentaron una motilidad de 45.22 %, esta baja motilidad podría deberse a que un mayor porcentaje de los eyaculados fueron viscosos y semiviscosos, lo cual no permitieron una mayor motilidad y solamente se observó motilidad oscilatoria (Sumar, 1983).

El porcentaje de endosmosis en el grupo 1 fue de 34.4 %, este porcentaje es ligeramente superior a lo descrito en el grupo control, posiblemente por la alta concentración de testosterona sérica que estaría causando una alteración de la composición química de las secreciones prostáticas y bulbouretrales (Garnica *et al.*, 1993).

El porcentaje de espermatozoides anormales en eyaculados de alpacas tratadas con GnRH presenta un promedio de 27.2 %, estos valores son ligeramente superiores a reportes previos quienes también utilizaron la tinción de Hancock para esta determinación, (Giuliano *et al.*, 2007; Carretero *et al.*, 2009), es similar a lo indicado en camellos tratados con GnRH, donde se vio el incremento de espermatozoides anormales en el eyaculado (Willmenet *et al.*, 1992).

Concentraciones promedio de testosterona sérica (ng/mL) en los tres grupos de estudio (GI, GII y GIII).

	Hora de colección (min)									
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135
G1	1.375	4.091	4.622	6.388	15.275	7.759	6.708	6.758	6.038	6.233
G2	1.913	1.829	1.433	1.399	1.126	1.013	0.611	0.808	0.587	1.039

Letras diferentes indican diferencia estadística entre características seminales evaluadas (P<0.05)

En el grupo 1, se observaron las mayores cantidades séricas de Testosterona, presentando un comportamiento diferente al grupo control, iniciando con una concentración que se encuentra dentro de lo descrito para la especie, pero a partir del minuto 15, inicia la elevación de la concentración, llegando a su pico de concentración a los 60 minutos post aplicación de la hormona exógena, a partir de los 60 minutos se inicia el descenso, pero continua con cantidades elevadas hasta la última hora de muestreo.

CONCLUSIONES

Las características seminales del grupo tratado con GnRH se incrementaron visiblemente en concentración, vitalidad, motilidad y endosmosis. Se observó un pico de testosterona del grupo I a los 60 minutos post aplicación de GnRH; evidenciando que el tratamiento

con dos hormonas exógenas interfieren en los procesos de eyaculación y liberación de testosterona.

BIBLIOGRAFÍA

- BRAVO, PW. 2002. The reproductive process of South American camelids. Seagull Printing, Salt Lake City. UT. USA.
- GARNICA, J., G. ACHATA y PW. BRAVO. 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. AnimReprodSci. 32, 85-90.
- MILLER, CJ. and RP. AMMAN. 1986. Effects of pulsatile injection of GnRH into 6-14 weeks olds Holstein bulls. J Anim Sci. 62, 1332-1339.
- O'DONELL, L., SJ. MEACHEM, PG. STANTON and RI. McLACHLAN. 2006. Endocrine regulation of spermatogenesis. In: Knobil and Neill's. Physiology of reproduction. By: Neill, J.D. Third edition. Academic Press. St Louis USA.
- SCHANBANCHER, BD and DD. LUNSTRA, 1977. Acute and chronic effects of gonadotropin releasing hormone on reproductive characteristics of rams during the nonbreeding season. J. Anim. Sci. 44, n° 4. pp 650-655.
- SENGER, PL. 2003. Pathways to pregnancy and parturition. Second edition revised. Current Conceptions, inc. Pullman, Washington, USA.
- SUMAR, J., F. FRANCO Y V. ALARCÓN, 1990. Niveles de testosterona circulante en la alpaca (*Lama pacos*) y llama (*Lama glama*) en diversas estaciones del año. Memorias II jornada internacional de biopatología andina. Instituto de la altura. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú.
- URQUIETA, B., P. FLORES, C. MUÑOZ, E. BUSTOS-OBREGON Y J. GARCIA-HUIDOBRO. 2005. Alpaca semen characteristics under free and directed mounts during a mating period. AnimReprodSci. 90: 329-339.
- WILLMEN, T., H. SIEME, H. MERKT, F. SAAD, HO. HOPPEN and D. WABERSKY. 1992. Semen preservation and hormonal effects on semen quality in the camel. Reprod. Dom. Anim., 28, 91-96.

EFECTO DEL PESO VIVO SOBRE LA MORTALIDAD EMBRIONARIA EN BORREGAS CORRIEDALE Y CRIOLLO MEDIANTE INSEMINACION ARTIFICIAL.

URVIOLA, A*; ALENCASTRE, R.; URVIOLA, J.; DEZA, H.

RESUMEN

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y producción Chuquibambilla, de la Universidad Nacional del Altiplano, en época reproductiva. El objetivo fue determinar la mortalidad embrionaria en función al peso corporal de borregas Corriedale y Criollas, como el periodo en el que se produce la mayor mortalidad. Para lo cual se utilizaron 90 borregas (45 Corriedale y 45 Criollas), en cada raza fueron distribuidas en 3 grupos de acuerdo al peso; en Corriedale se consideró borregas de peso bajo (menos de 40kg), peso medio (41kg a 43kg) y peso alto (mayor a 43kg), y en borregas criollas en forma similar se consideró borregas de peso bajo (menos de 35kg), de peso medio (36kg a 40kg) y peso alto (Mayor a 40kg). A los 17 días, post inseminación se tomó en cuenta el retorno a celo mediante el uso de carneros vasectomizados. La presencia del embrión se determinó mediante ecografía, en 3 momentos (día 25, día 38, y día 45), se registró algunas medidas biométricas a los embriones. Los resultados se expresan en porcentaje, y para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Chi Cuadrado. A la primera ecografía (25d), el 100% de las borregas Corriedale y Criollas se encontraban preñadas. A la segunda ecografía (38d), en borregas Corriedale, se encontró 13,33% y 6,67% de mortalidad embrionaria en borregas de peso bajo y peso medio respectivamente, no se presentó ningún caso de mortalidad en las de peso alto. En borregas Criollas de peso bajo, peso medio y peso alto a la segunda ecografía se encontró el 26,67%, 6,67% y 13,33% de mortalidad embrionaria respectivamente. A la tercera ecografía (45d) la mortalidad embrionaria en borregas Corriedale de peso bajo y peso alto fue de 7,69% y 6,67% respectivamente; contrariamente en borregas de peso medio no se observaron casos de mortalidad embrionaria. En borregas criollas no se generó ningún caso de mortalidad embrionaria. No se encontró diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre pesos y periodos para mortalidad embrionaria.

Palabras Claves: Borregas, Mortalidad Embrionaria, Ecografía

INTRODUCCION

La crianza de ovinos se encuentra concentrada principalmente a nivel de pequeños productores bajo sistemas extensivos de manejo, basando su alimentación con pastos naturales de las zonas alto andinas. A nivel de la crianza familiar, predomina el ovino Criollo, con buena rusticidad pero bajos niveles productivos de lana y carne, y el ovino Corriedale que contribuye con el mejoramiento de ovinos criollos. (Alencastre, 1999)

La inseminación artificial con semen fresco es la técnica que está más difundida en nuestro medio (Alencastre, 1997), por su sencilla y fácil aplicación, sobre todo en ovinos corriedale (Hafez, 1987).

A pesar de la aplicación de esta técnica, el porcentaje de natalidad es bajo, llegando a un 51.73% (Choquehuanca, 1981), este bajo índice está influenciado por distintos factores, entre ellos la mortalidad embrionaria (Guevara, 1996). En la inseminación artificial, el semen se deposita en la cervix, y casi siempre fertiliza si se realiza en el momento correcto del ciclo estral; sin embargo se produce una elevada mortalidad embrionaria luego de la fertilización y reconocimiento materno, por lo que el animal que estuvo gestante retorna al estro en un periodo de tiempo de 17 días aproximadamente, y aparentemente nunca estuvo preñada. (Ayalon, 1978; Lamming et al., 1989; Dunne et al., 2000).

La mortalidad embrionaria se produce en las dos primeras fases del desarrollo del embrión. Toda modificación del medio materno en el curso de estos dos periodos puede interferir gravemente sobre el desarrollo del embrión y jugar un papel determinante en la etiología