

Efecto del tratamiento con progesterona-eCG sobre la calidad embrionaria en llamas.

Effect of treatment with progesterone-eCG on embryo quality in llamas.

Evangelista, S.^{1*}; Cordero, A.²; Santiani, A.³; Vásquez, M.³; Huanca, T.⁴; Cardenas, O.⁴; Huanca, W.³

¹ Práctica Privada. ² Laboratorio de Microbiología. Facultad de Zootecnia – UNALM. ³ Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. ⁴ Programa Nacional de Camélidos Sudamericanos. EE – ILLPA –INIEA -PUNO

shirleyevangelista@gmail.com

Resumen

La gonadotropina coriónica equina (eCG) está siendo utilizada como tratamiento superovulatorio en los protocolos de transferencia de embriones en llamas, sin embargo se desconoce el efecto de dicha hormona sobre la calidad embrionaria. El objetivo del presente trabajo fue comparar la calidad de los embriones recuperados de llamas con o sin tratamiento progesterona-eCG. Para tal efecto, 30 llamas adultas > 4 años fueron divididas en 2 grupos: Grupo A (sin tratamiento superovulatorio) y Grupo B (tratamiento superovulatorio con eCG). La ovulación fue inducida en ambos grupos mediante monta natural y aplicación de 1 ml de GnRH. La colección y evaluación de embriones se realizó el día 7 post-cópula. Los embriones fueron clasificados en una escala (1 al 5), en donde el grado 1 correspondió a una calidad excelente y el grado 5 a embriones de calidad intranferible. En el grupo A se recuperaron 5 embriones (31,25% de recuperación embrionaria), mientras que en el grupo B se recuperaron 20 embriones (21.98% de recuperación embrionaria). El 60% de los embriones del grupo A fueron clasificados como grado 1, mientras que el 40% de los embriones del grupo B recibieron esta clasificación, sin embargo no se observan diferencias significativas. Los demás embriones de los grupos A y B fueron clasificados con grados 2, 3 y 4. No se encontraron embriones considerados intranferibles en ninguno de los grupos. Estos resultados nos permiten concluir que el tratamiento superovulatorio con eCG no afecta la calidad de los embriones de llama.

Palabras clave: eCG, calidad embrionaria, embrión, llamas.

Abstract

Protocols for embryo transfer in llamas include the use of equine chorionic gonadotropin (eCG) as superovulatory treatment, however the effect of this hormone on embryo quality is unknown. The objective of this investigation was to compare the quality of embryo recovered from llamas with or without treatment with progesterone-eCG. Thirty mature llamas older than 4 years were divided into 2 groups: group A (without superovulatory treatment) and group B (superovulatory treatment with eCG). All females were copulated and received 1ml of GnRH to ensure ovulation. Embryo collection and embryo evaluation were realized 7 days after copulation. Embryos were classified into 5 grades, where grade 1 correspond to excellent quality embryos and grade 5 to non-transferable embryos. In Group A 5 embryos were recovered (31.25% of embryo recovery), while in Group B 20 embryos were recovered (21.98 % of embryo recovery). Sixty percent of group A embryos and 40% of group B embryos were classified as grade 1, but differences are not significantly. Other embryos of both groups were classified in grades 2, 3 and 4. Any embryo was considered non-transferable. In conclusion, there is not effect of superovulatory treatment with eCG on embryo quality in llamas.

Keywords: eCG, embryo quality, embryo, llamas.

Introducción.

La calidad embrionaria es determinante para lograr el éxito de los protocolos de transferencia de embriones para todas las especies. En ese sentido, al momento de evaluar los embriones colectados se tienen en cuenta el estadio de desarrollo y parámetros morfológicos como forma, color, tamaño del espacio perivitelino, número de células degeneradas porque podrían afectar la implantación y sobrevivencia de los mismos. En camélidos sudamericanos, y en particular en llamas existen diversos trabajos en donde se utilizan tratamientos en base a eCG o FSH con la finalidad de inducir la mayor respuesta ovárica posible y por lo tanto recuperar el máximo número de embriones (Bourke *et al.* , 1992; Del Campo *et al.*, 2002; Huanca y Huanca, 2004), sin embargo, no se ha comparado la calidad de los embriones producto de tratamientos superovulatorios con respecto a la calidad en embriones recuperados en hembras sin tratamientos

superovulatorios. Es por ello que el presente estudio tuvo objetivo determinar si la administración de progesterona-eCG como tratamiento superovulatorio en llamas podría afectar la calidad embrionaria.

Materiales y métodos.

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Quimsachata del INIEA-Puno, ubicado a 4200 msnm, en el distrito de Santa Lucia, provincia de Lampa, departamento de Puno a 15°04' de latitud Sur y a 70°18' de longitud Oeste, durante los meses de enero a marzo del 2006. Se seleccionaron 30 llamas hembras con edad entre 4 - 6 años y con buen historial reproductivo, las cuales fueron distribuidas al azar en los Grupos A (sin tratamiento superovulatorio) y B (tratamiento superovulatorio con eCG). En el grupo A, el día 0 se realizó el empadre y la aplicación de 1 ml de GnRH i.m. (0.042 mg de Acetato de Buserelina), 7 días después de la cópula se realizó la colección y evaluación de embriones. El Grupo B recibió el siguiente tratamiento para sincronizar e inducir la superovulación: el día 0 se aplicó 1 ml de LH i.m., el día 3 se insertó una esponja vaginal impregnada con 60 mg acetato de medroxiprogesterona conjuntamente con 1000 UI de eCG i.m., el día 7 se efectuó la remoción de la esponja vaginal y la aplicación de 1 ml de PGF_{2α} (0,150 mg de triaprost). El día 8 se realizó el empadre y la aplicación de 1 ml de GnRH i.m. (0,042 mg de Acetato de Buserelina). Siete días después de la cópula se realizó la colección y evaluación de embriones. La colección de embriones se realizó mediante el método no quirúrgico descrito por Huanca y Huanca (2004). La evaluación se realizó a un aumento de 50x. Los embriones se clasificaron de excelente (1) a intransferible (5) siguiendo la escala de clasificación embrionaria de la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (Stringfellow y Seidel, 1998)), que se muestra en Cuadro N°1. La prueba de Chi cuadrado fue utilizada para determinar diferencias entre grupos de acuerdo a la calidad embrionaria, mientras que la prueba de T de Student fue utilizada para determinar diferencias entre el número promedio de embriones entre grupos.

Cuadro 1. Escala de Clasificación Embrionaria de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones.

Grado	Características
1	Excelente calidad. No fragmentado, de forma esférica y simétrica, sin ninguna irregularidad y células completas.
2	Buena calidad. Bordes con algunas irregularidades en el contorno y muy poco daño en las células que lo conforman.
3	Mediana calidad. Embrión pequeño con zonas oscuras, contornos irregulares y con algunas células dañadas.
4	Mala calidad. Embrión colapsado. Muestran áreas de degeneración y muchas células destruidas.
5	Intransferible. Embriones colapsados muy oscuros o retardados, mórulas oscuras y todos los estadios más jóvenes a mórula u ovocitos sin fertilizar.

Resultados y discusión.

En el cuadro 2 se observa que el grupo B tuvo una mayor respuesta ovárica observada como mayor número de cuerpos lúteos con respecto al grupo A (91 vs. 16, respectivamente). Esto se explica porque las llamas del grupo B recibieron la administración de 1000 UI de eCG, en comparación con el grupo A, en donde se realizó la recuperación de embriones en hembras que no habían recibido ningún tratamiento para estimular un mayor desarrollo folicular. Los números totales de embriones recuperados y número promedio de embriones/animal en el grupo B fueron mayores que en el grupo A, explicándose por el tratamiento con progesterona y eCG que recibió el grupo B, lo cual permitió la sincronización de la onda folicular, el crecimiento folicular múltiple y por lo tanto el mayor desarrollo de cuerpos lúteos posteriores a la inducción de la ovulación. Sin embargo la tasa de recuperación embrionaria en el grupo A (31.25%) fue mayor que en el grupo B (21.98%) aunque sin observarse diferencias significativas. Esto podría explicarse porque en el grupo B, el número de folículos y cuerpos lúteos desarrollado en respuesta al tratamiento progesterona-eCG pudo interferir con la captación de ovocitos por el oviducto durante la ovulación. Además, 2 hembras del grupo B no llegaron a ovular, mientras que otra del mismo grupo no se recuperaron embriones a pesar de observarse varios cuerpos lúteos,. Además la tasa de recuperación embrionaria hallada en ambos grupos se encuentra dentro de los rangos reportados en otros trabajos que varían desde 0% (Correa *et al.*, 1994) hasta 50% en el mejor de los casos (Del Campo *et al.*, 1995).

Cuadro 2. Número de cuerpos lúteos y embriones colectados.

	Grupo A (n=15)	Grupo B (n=15)
N° Cuerpos Lúteos Total	16	91
N° Embriones Total	5	20
N° Prom. Embriones*	0.33 ± 0.48	1.33 ± 2.53
Tasa de Recuperación embrionaria¹	31,25 %	21,98 %

*Valores son promedios ± desvío estándar.

¹(N° cuerpos luteos/N° embriones recuperados) x 100.

Todos los embriones que se recuperaron en ambos grupos fueron blastocistos eclosionados con tamaños variables. Considerando como transferibles los embriones entre los grados 1 al 4, en el cuadro 3 se puede observar que el 100 % de los embriones recuperados en el presente estudio fueron calificados como fértiles y transferibles aunque de diversos grados de calidad, lo cual es superior a lo hallado por Correa *et al.* (1997) quien obtuvo un 90,48 % (19/21) de embriones clasificados como fértiles y un 9,52 % (2/21) fue clasificado como muertos o degenerados. Además se determinó que el 60% de los embriones obtenidos en el Grupo A y el 40% de los embriones del Grupo B fueron de excelente calidad (grado 1), aunque si diferencias estadísticas entre grupos. Asimismo, en el grupo A, se observaron embriones de grado 2 y 4, mientras que en el grupo B, también se encontraron embriones grado 2, 3 y 4. Estos resultados nos sugieren que la administración de la hormona eCG produce un crecimiento folicular múltiple que se refleja en un mayor número de embriones recuperados, sin alterar la calidad embrionaria.

Cuadro 3. Porcentaje de Calidad de Embriones Colectados.

Grados de Calidad	Grupo A (n=15)	Grupo B (n=15)
1 (Excelente)	3 (60 %)	8 (40 %)
2 (Buena)	1 (20 %)	6 (30 %)
3 (Mediana)	0 (0 %)	5 (25%)
4 (Mala)	1 (20 %)	1 (5%)
5 (Intransferible)	0 (0 %)	0 (0 %)
Total	5 (100 %)	20 (100 %)

Conclusiones

Los resultados del presente trabajo nos permiten concluir que la aplicación de eCG como tratamiento superovulatorio no afecta la calidad de los embriones de llama, por lo tanto podría ser empleado como una buena alternativa para inducir crecimiento folicular múltiple en los protocolos de transferencia de embriones en llamas.

Literatura citada.

- Bourke, D.A.; Adam C.L.; Kyle, C.E.; Young, P.; Mcevoy, T.G. 1992. Superovulation and embryo transfer in the llama. In: Proc. 1st Int. Camel Conference Newmarket. pp. 183-185.
- Correa, J.E.; Ratto, M.H.; Gatica, R. 1994. Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con progesterona y gonadotropinas. Arch. Med. Vet. 26: 59-64.
- Correa, J.E.; Ratto, M.H.; Gatica, R. 1997. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and eCG used individually or combination. Anim. Reprod. Sci. 46: 289- 296.
- Del Campo, M.; Del Campo, H.; Adams, G.; Mapletoft, R. 1995. The application of new reproductive technologies to South American camelids. Theriogenology. 43: 21- 30.
- Del Campo, M.; Toro, F.; Von Baer, A.; Montecinos, S.; Donoso, X.; Von Baer, L. 2002. Morphology and physiology of llama (*Lama glama*) and alpaca a (*Lama paco*) embryos. Theriogenology. 57: 581. Abst.
- Huanca, W.; Huanca, T. 2004. Transferencia de embriones en camélidos sudamericanos. Rev. Mundo Veterinario. 2(6): 12-16.
- Ratto, M.H.; Gomez, C.; Wolter, M.; Berland, M.; Adams, G. 1999. Superstimulatory response and oocyte collection in alpacas. En: Res. II Cong. Mund. Camélidos. Cusco. pp. 96-97.
- Stringfellow, D.A.; Seidel, S.M. 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society: a Procedural Guide and General Information for the use of embryo transfer technology, emphasizing sanitary precautions. International Embryo Transfer Society. Tercera edición. 173 p.