

CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE OVINO PRE Y POST CONGELAMIENTO USANDO DILUTOR COMERCIAL Y DIFERENTES YEMAS DE HUEVO

Alfredo Pozo Curo, Luis Rodríguez Zamora y Rogelio Sobero Ballardó

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias Agrarias

Programa de Investigación en Reproducción y Salud Animal –Área: Animales Menores

E-mail: alfredo.pozo@unsch.edu.pe

RESUMEN

Se evaluaron las características seminales de eyaculados ovinos pre y post descongelamiento usando dilutor comercial con diferentes yemas de huevo de aves. Se utilizaron ocho eyaculados obtenidos por electroeyaculación de dos carneros criollos con un volumen de 0.9 ± 0.2 mL, pH de 6.3 ± 0.5 , motilidad masal de 4.3 ± 0.8 , concentración espermática de $524.5 \pm 231.5 \times 10^7$ espermatozoides, $84.5 \pm 5.0\%$ de vitalidad y $10.8 \pm 1.8\%$ de anomalías. Se utilizó el dilutor comercial (Triladyl®) según las indicaciones del fabricante, conformándose cuatro tratamientos en función a diferentes yemas de huevo: gallina criolla (T1), granja (T2), codorniz (T3) y mezcla proporcional de estos (T4). La fase de equilibrio duró 3.5h a temperatura ambiente (20°C). Se usaron pajillas de 0.25mL y 100×10^6 espermatozoides viables. Las pajillas se congelaron con equipo automatizado Criobath Freeze Control®. Las características seminales fueron evaluadas después de la dilución final y post descongelamiento. Se utilizaron las pruebas de hipótesis Kruskal-Wallis y test de Wilcoxon del SPSS con un nivel de significación de $p < 0.05$. Las características seminales pre congelamiento y post descongelamiento para la motilidad individual (93.0 ± 5.4 , 92.7 ± 5.7 , 92.2 ± 6.2 , 90.0 ± 6.4) (23.0 ± 16.9 , 14.8 ± 11.8 , 20.1 ± 14.0 , 24.4 ± 17.6), vitalidad (83.5 ± 3.8 , 78.9 ± 8.6 , 81.4 ± 4.1 , 80.3 ± 6.7) (18.7 ± 8.1 , 15.5 ± 12.9 , 14.9 ± 6.9 , 16.7 ± 8.9), anomalías (8.7 ± 3.8 , 8.0 ± 3.0 , 8.7 ± 3.8 , 8.0 ± 3.1) (3.4 ± 1.2 , 5.4 ± 4.2 , 4.8 ± 3.4 , 3.6 ± 1.5) y test hiposmótico (79.3 ± 7.7 , 74.7 ± 9.9 , 71.8 ± 6.2 , 73.0 ± 7.9) (7.2 ± 5.6 , 6.6 ± 4.6 , 7.9 ± 4.6 , 8.5 ± 5.0) para T1, T2, T3 y T4, respectivamente, no mostraron diferencias entre sí; sin embargo, las características seminales se redujeron significativamente dentro de cada tratamiento pre y post descongelamiento. En conclusión, las características seminales de ovinos se redujeron significativamente hasta en 70% aproximadamente pos descongelamiento, reduciendo su viabilidad para uso posterior en biotecnologías asistidas.

Palabras clave: Ovino, semen, criopreservación, electroeyaculación.

PRE AND POST FREEZING WEEKLY FEATURES USING COMMERCIAL DILUTOR AND EGG YEAS OF EGG

ABSTRACT

The seminal characteristics of pre and post defrosting ejaculate sheep were evaluated using commercial dilutor with different egg yolks of birds. Ejaculates obtained by electroejaculation of two Creole rams with a volume of 0.9 ± 0.2 mL, pH of 6.3 ± 0.5 , mass motility of 4.3 ± 0.8 , sperm concentration of $524.5 \pm 231.5 \times 10^7$ sperm, $84.5 \pm 5.0\%$ of vitality were used and $10.8 \pm 1.8\%$ of abnormalities. The commercial dilutor (Triladyl®) was used according to the manufacturer's instructions, conforming to four treatments according to different egg yolks: Creole chicken (T1), farm (T2), quail (T3) and proportional mixture of these (T4). The equilibrium phase lasted 3.5h at room temperature (20°C). Straws of 0.25mL and 100×10^6 viable sperm were used. The straws were frozen with Criobath Freeze Control® automated equipment. The seminal characteristics were evaluated after the final dilution and post defrosting. The Kruskal-Wallis hypothesis and Wilcoxon test of the SPSS with a significance level of $p < 0.05$ were used. Seminar characteristics pre-freeze and post-defrost for individual motility (93.0 ± 5.4 , 92.7 ± 5.7 , 92.2 ± 6.2 , 90.0 ± 6.4) (23.0 ± 16.9 , 14.8 ± 11.8 , 20.1 ± 14.0 , 24.4 ± 17.6), vitality (83.5 ± 3.8 , 78.9 ± 8.6 , 81.4 ± 4.1 , 80.3 ± 6.7) (18.7 ± 8.1 , 15.5 ± 12.9 , 14.9 ± 6.9 , 16.7 ± 8.9), abnormalities (8.7 ± 3.8 , 8.0 ± 3.0 , 8.7 ± 3.8 , 8.0 ± 3.1) (3.4 ± 1.2 , 5.4 ± 4.2 , 4.8 ± 3.4 , 3.6 ± 1.5) and hyposmotic test (79.3 ± 7.7 , 74.7 ± 9.9 , 71.8 ± 6.2 , 73.0 ± 7.9) (7.2 ± 5.6 , 6.6 ± 4.6 , 7.9 ± 4.6 , 8.5 ± 5.0) for T1, T2, T3 and T4, respectively, showed no differences between them; however, the seminal characteristics were significantly reduced within each pre and post defrost treatment. In conclusion, the seminal characteristics of sheep were significantly reduced after defrosting, reducing their viability for later use in assisted biotechnologies.

Key words: Sheep, semen, cryopreservation, electroejaculation.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial es una herramienta biotecnológica que permite la difusión masiva de material genético deseable. Sin embargo, en el macho se requiere garantizar que el semen llegue en perfecto estado al tracto reproductivo de la hembra, por lo tanto, el semen debe cuidarse desde su colecta hasta el momento de su uso. El semen ovino puede obtenerse a través de diversas técnicas, además, puede ser usado en estado fresco con o sin diluir, refrigerado o congelado. Sin embargo, se ha reportado la sensibilidad de

semen ovino a la criopreservación. El semen congelado utiliza dilutores que contienen crioprotectores que protegen a los espermatozoides y garantizan su fertilidad después de su descongelamiento. El triladyl® es un dilutor comercial que utiliza yema de huevo antes de ser utilizado en la congelación, el cual puede diferir en su composición, según su origen; por lo tanto, el propósito de esta investigación fue evaluar las características seminales pre y post descongelamiento del semen ovino usando un dilutor comercial con diferentes fuentes de yema de huevo (YH) de

aves como la gallina criolla, de granja, codorniz y la mezcla de éstos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se ejecutó en el Laboratorio de Reproducción y Biotecnología de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre y octubre del año 2018.

La muestra estuvo constituida por ocho (08) eyaculados procedentes de dos (02) carneros criollos jóvenes, previamente dosificados con antiparasitarios y alimentados con forraje verde asociado de alfalfa y rye grass americano.

La preparación de la dilución madre siguió las indicaciones del fabricante: 01 parte de Triladyl®: 03 partes de agua bidestilada: 01 parte de yema de huevo. El Triladyl® comercial contiene glicerol, tris, ácido cítrico, fructosa, tilosina, gentamicina, lincomicina y espectinomina. La homogenización se realizó mediante vortex y la solución final no fue filtrada. El dilutor fue preparado para cada día de trabajo programado.

Los tratamientos fueron dilutor comercial (Triladyl®) + yema de huevo de gallina criolla (T1), dilutor comercial (Triladyl®) + yema de huevo de gallina granja (T2), dilutor comercial (Triladyl®) + yema de huevo de codorniz (T3), dilutor comercial (Triladyl®) + yema de huevo de gallina criolla, de granja y codorniz (T4).

El semen se colectó mediante electroeyaculación (Electrojac 6®) de manera interdiciaria y en horas de la mañana. Para este proceso, se retiró las heces del recto con ayuda de un guante de látex lubricado. Se lavó el prepucio con suero fisiológico. Se introdujo el electrodo vía rectal y se puso en modo automático la unidad de control. El extremo libre del pene fue introducido en un tubo colector graduado protegido externamente con papel aluminio cuando se inició el estímulo eléctrico. Fueron suficientes de 2 a 4 voltios para estimular la eyaculación en ovinos machos.

El eyaculado se trasladó inmediatamente al Laboratorio de Reproducción y Biotecnología para mantenerse en baño maría a 37°C. Se procedió a la evaluación inicial macro (volumen, pH, color, densidad, olor) y microscópica (motilidad masal, concentración espermática, vitalidad) del semen dentro de los 10 min posteriores a su colecta. Para fines de crioconservación, se utilizó semen de ovino con motilidad masal >4 y motilidad individual >70%. Se fraccionó el volumen total del eyaculado en cuatro tubos falcon marcados para cada tratamiento y se hizo una predilución de semen con el dilutor (para cada tratamiento) a la misma temperatura (1:1) a 37°C mantenidos en baño maría, mientras duró la evaluación inicial del semen. Con la determinación de la concentración espermática, la viabilidad y espermatozoides anormales, se determinó la dosis total con espermatozoides viables, además permitió calcular la cantidad total de dilutor. La última fracción de dilutor se agregó a la predilución a temperatura ambiente (20°C) en cada uno de los tubos marcados según tratamiento y se procedió a la evaluación de la motilidad individual, vitalidad, anomalía e integridad de membrana para cada caso. Se

dejaron los tubos con los respectivos tratamientos por 3.5h en estabilización a temperatura ambiente (20°C). Se rotularon manualmente las pajillas con plumones de color, según carnero y tratamiento. Se empacaron a temperatura ambiente cada una de las pajillas radiadas de 0.25 cc y 100 x 10⁶ espermatozoides viables con ayuda de un cargador de pajillas marca Minitub y luego fueron selladas con alcohol polivinílico en su extremo libre. Se retuvieron algunas pajuelas para el control de partida y las demás se colocaron al equipo congelador automatizado Criobath Freeze Control® (Modelo CL5500, Australia) y se activó el programa N° 05 para la congelación de semen ovino, cuya curva de descenso de temperatura parte de una temperatura inicial de +20°C hasta que el descenso no tuviera cambios marcados (-160°C) para luego sumergirse directamente a NL. Una vez terminada la congelación, se procedió a guardar las pajillas en tanques criogénicos. A los 03 días posteriores a la congelación, se procedió a evaluar las pajillas criopreservadas. La descongelación de pajillas se realizó a 37°C por un espacio de 30 segundos. Se procedió a evaluar la motilidad individual, vitalidad, anomalías y la integridad de membrana para registrarse la información en la matriz de recolección de datos.

La motilidad individual progresiva se determinó mediante el procedimiento descrito por Joshi et al. (2001), colocando una muestra de semen diluido en nueve gotas de suero fisiológico en una lámina portaobjetos y cubierta con una lámina cubreobjetos templadas y observadas a 400X. Se usó la lectura según López et al. (2012), contando primero las células espermáticas con motilidad progresiva, luego los espermatozoides con motilidad no progresiva y finalmente los inmóviles, siguiendo el sentido de las agujas del reloj y en campos diferentes.

Para la vitalidad y las anomalías se hicieron frotis colocando primero una gota de colorante Eosina (1%) y Nigrosina (5%) sobre un portaobjetos tibio (37°C), luego se colocó una gota de semen cerca a los colorantes. Se mezcló la gota de semen primero con eosina y luego con nigrosina, para posteriormente realizarse el frotis colocando otra lámina porta objetos en ángulo de 45°. Una vez secado, se observó con microscopio a 400x, evaluando 200 células espermáticas por lámina. La lectura se basó según Tribulo (2009), considerando a los espermatozoides teñidos como muertos y los no teñidos como vivos.

El test hipo osmótico se realizó mezclando la muestra de semen con solución hipo-osmótica (1:10) (citrato de sodio + fructosa) y se incubó por 45 minutos a 37°C, luego se colocó una pequeña gota de la mezcla sobre un portaobjetos y cubreobjetos para evaluarse en un microscopio a 400x, contándose 100 espermatozoides. Los espermatozoides con cola enrollada e hinchada se considerarán con reacción positiva.

Los datos al no cumplir los supuestos de la distribución de la normalidad mediante la prueba de hipótesis de Shapiro-Willk, la comparación de los grupos experimentales se realizó mediante la prueba de hipótesis no paramétrica de Kruskal-Wallis pre y post congelamiento de semen. Así mismo, se evaluaron las diferencias ocurridas en cada tratamiento mediante la prueba de hipótesis de Wilcoxon de los rangos con signo. Se utilizó el software SPSS v.22 y el nivel de significación se consideró cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Características seminales de los eyaculados puros de ovinos criollos obtenidos por electroeyaculación. C.E. Pampa del Arco, Ayacucho-2018.

Características seminales	Promedio ± D.E.	Mín.	Máx.	C.V.
Evaluación macroscópica				
Volumen (mL)	0,9 ± 0,2	0,7	1,1	20,0
pH	6,3 ± 0,5	6,0	7,0	8,2
Color	Blanco lechoso			
Densidad	Cremoso grumoso			
Olor	Inodoro			
Evaluación microscópica				
Motilidad masal	4,3 ± 0,8	3	4	10,6
Concentración espermática (Esp/mL x 10 ⁷)	524,5 ± 231,5	171	851	44,1
Vitalidad (%)	84,5 ± 5,0	80,5	92	5,9
Anormalidades (%)	5,8 ± 1,8	4	6	10,4

La tabla 1, describe las características del semen de ovinos machos obtenidos mediante electroeyaculación. Así, el volumen tuvo una media $\pm$ D.E. de $0,9 \pm 0,2$ mL, así como su rango fue similar a lo reportado por Derivaux (1982) con 0,5 a 2,0 mL. La técnica de recolección de semen también puede influir en el volumen del semen recolectado. Similar volumen obtuvo Campana (1982) mediante la misma técnica en carneros Corriedale; sin embargo, ligeramente inferiores a los obtenidos por vagina artificial en merino criollo mejorado y Blackbelly reportados por Pérez *et al* (2011) y Guerrero *et al* (2009), respectivamente; y muy inferiores a los genotipos Assaf, Canela y Blackbelly (Cabrera y Pantoja, 2008). Al respecto, Aliaga (2006) indica que el volumen del eyaculado obtenido por electroeyaculación es mayor pero de menor concentración espermática e incluso la calidad se ve comprometida por la presencia de orina. En nuestro caso, el volumen estuvo dentro de los rangos normales, así como la concentración espermática incluso mayor al reportado por Guerrero *et al* (2009) ($3,5$ a 6×10^9 espermatozoides) logrados por vagina artificial. De otro lado, como el pH

mostró valores dentro del rango normal, evidenció que las muestras recolectadas no se contaminaron al menos con orina, probablemente porque los eyaculados se obtuvieron con menor estímulo eléctrico (2 a 4 voltios).

La motilidad masal fue similar a lo obtenido por Cabrera y Pantoja (2008) pero menor que Pérez *et al* (2011), Guerrero *et al* (2009) y Apaza (2017). Además Apaza (2017) reporta vitalidades similares a nuestros resultados pero con anormalidades bastante bajas en comparación al nuestro, que podrían atribuirse a la selección más cuidadosa de machos, la alimentación suplementada y la técnica de colección de semen. Sin embargo, estas características están aún de acuerdo en su mayoría a las exigencias de la empresa Minitub (2011) requeridos para proceder al congelamiento a excepción del volumen que fue menor a los más de 1,5 mL exigidos. Por lo tanto, el volumen del semen recolectado por electroeyaculación no fue impedimento para proceder con la criopreservación.

Tabla 2. Características seminales por tratamiento al pre congelamiento de los eyaculados de ovinos criollos obtenidos por electroeyaculación en el C.E. Pampa del Arco. Ayacucho-2018.

Características seminales	TRATAMIENTOS*															
	T1				T2				T3				T4			
	Prom. $\pm$ D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. $\pm$ D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. $\pm$ D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. $\pm$ D.E.	Mín.	Máx.	C.V.
Motilidad Individual (%)	$93,0^a \pm 5,4$	82,4	97,0	5,8	$92,7^a \pm 5,7$	81,8	97,1	6,1	$92,2^a \pm 6,2$	84,4	99,0	6,7	$90,0^a \pm 6,4$	79,4	95,5	7,1
*Progresiva (%)	$86,3 \pm 8,4$	70,6	93,5	9,7	$85,2 \pm 11,0$	65,2	95,0	12,9	$85,5 \pm 9,8$	72,5	96,0	11,4	$81,1 \pm 9,7$	66,7	90,7	12,0
*No progresiva (%)	$6,7 \pm 4,6$	2,0	12,1	68,3	$7,5 \pm 5,6$	2,0	16,7	74,5	$6,7 \pm 3,8$	2,9	12,5	57,6	$8,9 \pm 4,3$	2,3	13,2	48,8
*Inmóviles (%)	$8,2 \pm 7,1$	2,0	17,7	87,7	$9,0 \pm 6,9$	2,9	18,2	76,9	$7,8 \pm 6,2$	1,0	15,6	78,9	$10,0 \pm 6,4$	4,5	20,6	63,9
Vitalidad (% vivos)	$83,5^a \pm 3,8$	77,0	88,5	4,6	$78,9^a \pm 8,6$	68,0	89,5	10,9	$81,4^a \pm 4,1$	75,0	87,0	5,1	$80,3^a \pm 6,7$	71,5	89,0	8,3
Anormalidades (%)	$8,7^a \pm 2,3$	5,0	11,0	26,0	$8,0^a \pm 3,0$	3,0	12,0	37,1	$8,7^a \pm 3,8$	5,0	15,0	44,2	$8,0^a \pm 3,1$	4,0	13,0	38,7
Test hiposmótico (%)	$79,3^a \pm 7,7$	67,0	90,0	9,7	$74,7^a \pm 9,9$	58,0	87,0	13,3	$71,8^a \pm 6,2$	62,0	79,0	8,6	$73,0^a \pm 7,9$	62,0	81,0	10,9

* Tratamientos: T1 (Triladyl® + yema de huevo gallina criolla), T2 (Triladyl® + yema de huevo de gallina granja), T3 (Triladyl® + yema de huevo codorniz), T4 (Triladyl® + yemas de huevo criolla, granja y codorniz)

La tabla 2, describe las características del semen de ovinos machos criollos antes del proceso de congelamiento e inmediatamente después de la dilución final a temperatura ambiente. Dichas características como el volumen, pH, densidad, motilidad masal, la concentración espermática, vitalidad como anomalías son altas y no muestran diferencias entre los diversos tratamientos que usan yemas de huevo de diferentes orígenes; además, dichas características se encontraron dentro de los parámetros mínimos exigidos para la congelación de semen. Al parecer, a temperatura ambiente y mientras duró la fase de equilibrio por 3.5h, los componentes de los dilutores como el tris,

glicerol, ácido cítrico y fructosa (Minitub, 2011) lograron controlar aparentemente los cambios del ambiente extra e intracelular de las células espermáticas. Apaza (2017) reportó similares resultados del test hipoosmótico, un pequeño incremento en las anomalías, pero vitalidades similares al nuestro usando yemas de huevo de gallina criolla, granja y codorniz excepto una reducción significativa de la vitalidad al usarse yema de huevo de paloma, parámetros evaluados en la fase de equilibrio. Al respecto, Apaza (2017) utilizó un dilutor preparado en el laboratorio y la dilución se realizó en dos etapas, donde la fase de equilibrio (4 a 4.5 horas) lo realizó a 5°C, una vez completada la fase de descenso de la temperatura y completada la dilución final con la segunda fracción que contenía 5% de glicerol.

Tabla 3. Características pre y post descongelación de pajillas de semen ovino criollo según tratamientos. C.E. Pampa del Arco, Ayacucho-2018.

Tratamientos*	Características seminales							
	Motilidad individual (%)		Vitalidad (%)		Anomalías (%)		Test hipoosmótico (%)	
	Pre Congel.	Post Descongel.	Pre Congel.	Post Descongel.	Pre Congel.	Post Descongel.	Pre Congel.	Post Descongel.
	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.	Prom. ± D.E.
T1	93,0 ^a ± 5,4	23,0 ^b ± 16,9	83,5 ^a ± 3,8	18,7 ^b ± 8,1	8,7 ^a ± 2,3	3,4 ^b ± 1,2	79,3 ^a ± 7,7	7,2 ^b ± 5,6
T2	92,7 ^a ± 5,7	14,8 ^b ± 11,8	78,9 ^a ± 8,6	15,5 ^b ± 12,9	8,0 ^a ± 3,0	5,4 ^b ± 4,2	74,7 ^a ± 9,9	6,6 ^b ± 4,6
T3	92,2 ^a ± 6,2	20,1 ^b ± 14,0	81,4 ^a ± 4,1	14,9 ^b ± 6,9	8,7 ^a ± 3,8	4,8 ^b ± 3,4	71,8 ^a ± 6,2	7,9 ^b ± 4,6
T4	90,0 ^a ± 6,4	24,4 ^b ± 17,6	80,3 ^a ± 6,7	16,7 ^b ± 8,9	8,0 ^a ± 3,1	3,6 ^b ± 1,5	73,0 ^a ± 7,9	8,5 ^b ± 5,0

* Tratamientos: T1 (Triladyl® + yema de huevo gallina criolla), T2 (Triladyl® + yema de huevo de gallina granja), T3 (Triladyl® + yema de huevo codorniz), T4 (Triladyl® + yemas de huevo criolla, granja y codorniz)

^{a,b} Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

La tabla 3 describe las características pre y post descongelamiento de pajillas de semen de ovinos criollos según tratamientos. Se muestra diferencias significativas para la motilidad individual, vitalidad, anomalías y test hipoosmótico, con reducciones muy significativas que ponen en duda el uso de dichas pajillas en los trabajos posteriores de inseminación artificial por no cumplir con los requisitos mínimos como una motilidad progresiva de semen descongelado >40% exigido por Minitub (2011) y por la importancia que tiene la motilidad con su capacidad fertilizante (Illera, 1994). Nuestros resultados pos descongelamiento de semen ovino en comparación a los de Apaza (2017) fueron menores para la motilidad individual progresiva (51.36%, 50.72%, 50.05% y 45.98%), test hipoosmótico (55.86%, 60.50%, 59.44% y 49.30%), vitalidad (57.19%, 56.04%, 56.08% y 46.66%) e integridad de acrosoma (61.59%, 65.27%, 64.64% y 62.53%) al usar yema de huevo de gallina criolla, de granja, codorniz y de paloma, siendo para este último las reducciones significativas más notorias. Estas diferencias podrían deberse a que Apaza (2017) usó dilutores en dos fases, usando la fracción que contenía glicerol en 5% a la temperatura de 5°C, una

congelación manual con vapores de nitrógeno a una altitud de 5 cm por 10 min, mientras que nuestra dilución final fue a 20°C, con dilutor comercial que tiene Aprox. 20% de glicerol y expuesta por 3.5 horas en fase de equilibrio, aparte de que las pajillas de 0.25 ml se cargaron con 100×10^6 espermatozoides viables, factores que pudieron producir niveles altos de especies reactivas de oxígeno, más una larga exposición al glicerol pudieron generar daño microscópico a nivel de membrana, citoplasma y núcleo de los espermatozoides.

Así mismo, presumimos que la técnica de recolección del semen por electroeyaculación pudo afectar la calidad seminal para fines de criopreservación por el uso del estímulo eléctrico necesario para activar el reflejo nervioso y alterar la cascada fisiológica normal que requiere el proceso eyaculatorio y también afectar los iones a nivel de la membrana plasmática de los espermatozoides.

De otro lado, aunque no se detectó la presencia de orina en el eyaculado por el registro del pH a la colección, la presencia de mínimas cantidades e imperceptibles promovidas por la electroeyaculación pudieron afectar la estructura celular o la calidad seminal por lo que algunos investigadores como Aliaga (2006) sólo recomiendan usar este tipo de semen de manera fresca que criopreservado.

Otro factor que pudo haber afectado la reducción masiva de las características seminales post descongelamiento la

podemos atribuir a la presencia de mayor cantidad de lecitinas procedente de las glándulas bulbouretrales, cuyo incremento así como del plasma seminal sería favorecida por el uso del electroeyaculador, que hidroliza la lecitina de la yema de huevo en isolecitina, atribuyéndose su efecto citotóxico sobre los espermatozoides como lo reportan Busch y Waberski (2007). Además no olvidemos que la yema de huevo en la dilución final del triladyl® participa en un 20% del total, una cantidad dentro del promedio requerido para esta especie (Minitub, 2011).

Otro factor que afectó nuestros resultados, podría ser la dilución de un solo paso que exige el dilutor comercial triladyl®, que expuso al glicerol y su efecto tóxico a los espermatozoides (Anel *et al.*, 2003) desde un principio en la predilución y dilución final, tiempo que coincidió con el de

estabilización a temperatura ambiente (20°C), atribuyéndose dicho daño a la permeabilidad de la membrana espermática (Gao *et al.*, 1997) que aún sigue siendo considerable en comparación a temperaturas más bajas. La decisión de congelar semen con triladyl® en un solo paso fue porque el programa de congelación automatizada requiere una temperatura inicial de partida de +20°C y no permite la glicerolización a +5°C de una segunda fracción como lo exige otro protocolo de congelación descrito por Cueto *et al* (2004).

De otro lado, el uso de semen de ovinos machos jóvenes, aunado a la obtención mediante electroeyaculación y criopreservación automatizado de un solo paso, también pudieron haber sido un factor para que los espermatozoides no puedan soportar el proceso de criopreservación como lo menciona García (2014).

Tabla 4. Características seminales por tratamiento al post descongelamiento de los eyaculados de ovinos criollos obtenidos por electroeyaculación en el C.E. Pampa del Arco. Ayacucho-2018.

Características seminales	Tratamientos*															
	T1				T2				T3				T4			
	Prom. ± D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. ± D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. ± D.E.	Mín.	Máx.	C.V.	Prom. ± D.E.	Mín.	Máx.	C.V.
Motilidad Individual (%)	23,0 ^a ± 16,9	3,6	77,0	73,6	14,8 ^a ± 11,8	4,0	50,8	79,8	20,1 ^a ± 14,0	2,9	52,0	69,9	24,4 ^a ± 17,6	8,2	67,7	72,4
*Progresiva (%)	20,3 ± 16,4	3,1	75,0	80,8	13,1 ± 11,2	3,0	46,5	85,4	17,8 ± 13,0	2,5	50,0	73,0	21,4 ± 16,5	7,2	61,5	77,0
*No progresiva (%)	2,7 ± 2,7	0,5	12,0	100	1,7 ± 1,0	0,5	4,3	58,3	2,2 ± 2,4	0,4	10,6	107	3,0 ± 2,0	0,9	7,5	66,3
*Inmóviles (%)	77,0 ± 16,9	23,0	96,4	21,9	85,2 ± 11,8	49,2	96,0	13,9	80,0 ± 13,9	48,0	97,0	17,4	75,6 ± 17,6	32,3	91,8	23,3
Vitalidad (% vivos)	18,7 ^a ± 8,1	3,0	37,0	43,1	15,5 ^a ± 12,9	3,0	50,0	82,9	14,9 ^a ± 6,9	4,5	29,5	46,5	16,7 ^a ± 8,9	3,0	35,0	53,5
Anormalidades (%)	3,4 ^a ± 1,2	1,0	5,0	36,4	5,4 ^a ± 4,2	1,0	18,0	77,3	4,8 ^a ± 3,4	1,0	12,0	71,7	3,6 ^a ± 1,5	1,0	7,0	41,1
Test hiposmótico (%)	7,2 ^a ± 5,6	1,0	20,0	78,5	6,6 ^a ± 4,6	2,0	15,0	69,8	7,9 ^a ± 4,6	3,0	15,0	58,1	8,5 ^a ± 5,0	2,0	17,0	59,1

* Tratamientos: T1 (Triladyl® + yema de huevo gallina criolla), T2 (Triladyl® + yema de huevo de gallina granja), T3 (Triladyl® + yema de huevo codorniz), T4 (Triladyl® + yemas de huevo criolla, granja y codorniz)^{a,b} Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

La tabla 4, describe los resultados de la evaluación de pajillas de semen de ovinos criollos entre tratamientos después de la criopreservación. Los resultados no muestran diferencias para la motilidad individual, vitalidad, anormalidades y test hiposmótico usando diferentes tipos de yema de huevo en el dilutor.

La acción de la yema de huevo según Quinn *et al* (2009) es proteger a los espermatozoides del shock térmico mediante la formación de una película en su superficie, en especial por las lipoproteínas de menor densidad (LDL), presentes en más del 65% del total de la yema (Dauphas *et al.*, 2006). Nuestros resultados indican, que pese a la reducción significativa en las características seminales a la descongelación de las pajillas de semen, la yema de huevo pudo contribuir a

soportar el shock térmico que ocasiona el proceso de la congelación o la descongelación. Muchos trabajos han demostrado la alta sensibilidad de los espermatozoides ovinos a la congelación, reduciéndose las características seminales como el test hiposmótico, motilidad individual, vitalidad hasta en 30, 50 o 60% como lo reportan Cabrera y Pantoja (2008), Cabrera *et al* (2010), Cabrera *et al* (2011), Huamaní (2011), Santiani *et al* (2007) y Kulaksiz *et al* (2010). Nuestros resultados parecen ser alentadores cuando sean una opción a ser considerado en la intensión de criopreservar material genético de machos como recursos zoogenéticos en esta especie o sus similares usando alternativamente la electroeyaculación para recolectar semen en lugar de la vagina artificial.

A pesar de que la vitalidad se mantuvo alrededor del 20 al 25% en todos los tratamientos a la evaluación post descongelamiento, el test hiposmótico se redujo aún más, evidenciando más daño a nivel de la membrana celular lo cual ratifica la idea de que el semen ovino es muy sensible al proceso de criopreservación afectando las respuestas de fertilidad como lo indica Sandoval (2005).

En conclusión, las características seminales de motilidad individual, vitalidad y test hiposmótico de semen ovino obtenido mediante electroeyaculación y diluido con dilutor comercial Triladyl® y yemas de huevo de gallina criolla, granja, codorniz y la mezcla de éstas, se redujeron significativamente hasta en 70% Aprox. a la evaluación post descongelamiento, reduciendo las posibilidades de su uso posterior en la diseminación de genes deseables a través de biotecnologías asistidas pero más no para la criopreservación de recurso zoogenético.

AGRADECIMIENTOS

A los estudiantes de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria: Deisy Y. Acasio Espinoza, Axel Aróstegui Gutiérrez, Gustavo Taípe Llacsa, Bladimir Jayo Pariona, por su colaboración en el desarrollo de la parte experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aliaga, J. (2006). Producción de ovinos. Juan Gutemberg editores. UNA La Molina. Lima Perú.

Anel, L., de Paz, P., Álvarez, M., Chamorro, CA., Boixo, JC., Manso, A., González, M., Kaabi, M., Anel, E. (2003). Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen. *Theriogenology*, 60:1293-1308.

Apaza, L. (2017). Efecto de yema de huevo e la viabilidad de semen congelado de carnero. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano.

Busch, W., Waberski, D. (2007). Manual de inseminación artificial de los animales domésticos y de explotación zootécnica. Editorial Acribia. España.

Cabrera, P., Ayulo, A., Pantoja, C. (2011). Efecto del dilutor tris y citrato con yema de huevo de codorniz sobre la viabilidad espermática en semen de ovino congelado en pajillas. *Rev. Inv. Vet. Perú*; 22(2): 105-113.

Cabrera, P., Orellana, J., Pantoja, C. (2010). Efecto de dos dilutores sobre la motilidad e integridad de la membrana espermática en semen congelado de ovinos. *Rev. Inv. Vet. Perú*; 21(2): 154-160.

Cabrera, P., Pantoja, C. (2008). Influencia de los dilutores tris y ovine freezing sobre la integridad de la membrana citoplasmática durante la congelación de semen de ovinos en pajilla de 0.5 mL. *Rev. Inv. Vet. Perú*. 19 (2): 152-159.

Campana, V. (1982). Evaluación de semen de carneros corriedale de majada general del centro experimental de Chuquibambilla. Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Perú. Universidad Técnica de Altiplano. p. 19-25.

Cueto, M., Gibbons, A., Garcia, J., Wolff, M., Arrigo, J. (2004). Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Argentina Bariloche. Reproducción y genética. Instituto nacional de tecnología agropecuaria (INTA).

Dauphas, S., Beaumal, B., Riaublan, A., Anton, M. (2006). Hen Egg Yolk Low-Density Lipoproteins Film Spreading at the Air-Water and Oil-Water Interfaces. *J. Agric. Food Chem.*, 54:3733-3737.

Derivaux, J. (1982). Fisiología de la Reproducción de los Animales Domésticos. 2da Ed. Editorial Madrid-España.

Gao, D., Mazur, P., Criser, JK. (1997). Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa. En: *Reproductive tissue banking: scientific principles*. Eds: Karow, A.M. y Critser, J.K. Academic press, San Diego, EEUU. Pp: 263-328.

García, VWC. (2014). Optimización de los protocolos de criopreservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción xisqueta y aranesa. Tesis para optar el Grado Académico de Doctor. Universidad Autónoma de Barcelona. Pp 315.

Guerrero, H., Huanca, W., Raymundo, F., Huerta, S., Ramos, D. (2009). Uso de dilutores hipertónicos en la criopreservación de semen ovino. *Rev. Inv. Vet. Perú*. 20(1): 41-46.

Huamani, H. (2011). Efecto de la temperatura de empajillado y raza en la motilidad individual e integridad de membrana en semen congelado de carnero. Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Puno – Perú. Universidad Nacional de Altiplano.

Illera, M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. España. Editorial Aedos. p. 121-122.

Joshi, A., Bag, S., Naqvi, S., Sharma, R., Rawat, P., Mittal, J. (2001). Effect of short-term and long-term preservation motion characteristics of Garole ram spermatozoa: a prolific microsheep breed of India. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 14: 1527-1533.

López, J., Urbano, A., Cárdenas, M. (2012). Manual de laboratorio para el análisis del semen.

Kulaksiz, R., Cebi, C., Akcay, E., Daskin, A. (2010). The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka rams semen. *Small Ruminant Research*. 88: 12 – 15.

Minitube. (2011). Congelación de semen de pequeños rumiantes. Germany.

Pérez, U., Pérez, M., Mellisho, E. (2011). Viabilidad espermática en semen de carnero congelado por dos métodos. *Spermova*. 1(1):127-128.

Quinn, P., Chow, P., White, I. (1980). Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at plasma membrane site. *J Reprod Fertil*. 60:403-407.

Sandoval, R. (2005). Criopreservación de semen ovino empleando diferentes dilutores y combinaciones de agentes crioprotectores permeantes y no permeantes. Tesis de pregrado. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Mayor De San Marcos. Lima-Perú.

ICTIOZONOSIS PARASITARIA EN EL PESCADO CRUDO SEGÚN PROCEDENCIA EN LOS PRINCIPALES LUGARES DE VENTA EN HUAMANGA-AYACUCHO 2018

Magaly Rodríguez Monje

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias Agrarias

Programa de Investigación: Reproducción y Salud Animal- Área: Microbiología y Parasitología

E-mail: magaly.rodriguez@unsch.edu.pe

RESUMEN

El trabajo se realizó en los principales lugares de venta de pescado de la ciudad de Ayacucho, con el objetivo de poder determinar la prevalencia de parásitos ictiozonóticos, se trabajó con 120 muestras de 3 variedades de pescado en 4 lugares de venta a través de la técnica de observación visual, encontrando una prevalencia de 52,5%, mercado Nery García 14,17%, mercado Grau 13,33%, nazareno y Covadonga con 12,5% respectivamente, cantidad de positivos en el bonito 26, seguido del jurel con 23 muestras positivas y finalmente lisa con 14 positivas. Para el caso de *Anisakis sp.* mayor cantidad en el mercado Grau 14 positivos, seguido de Nery García 13 positivos, Nazarenos 10 positivos y finalmente en Covadonga 9 positivos. En cuanto al *Diphylllobothrium sp.* en el mercado Covadonga 9 positivos, seguido de Nery García 6 positivos, Nazareno 5 positivos y finalmente Grau 3 positivos. El tipo de parasitismo, en Nery García monoparasitismo *Anisakis sp.* 11 muestras, *Diphylllobothrium sp.* 3 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* en 4 muestras. En mercado Grau monoparasitismo *Anisakis sp.* 13 muestras, *Diphylllobothrium sp.* 2 muestras y Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* en 2 muestras. En mercado Nazareno monoparasitismo *Anisakis sp.* 10 muestras, *Diphylllobothrium sp.* 4 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* en 1 muestra. En mercado Covadonga monoparasitismo *Anisakis sp.* 7 muestras, *Diphylllobothrium sp.* 8 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* en 1 muestra.

Palabras clave: Parásitos, pescado, prevalencia.

PARASITIC ICTHIOZONOSIS IN RAW FISH ACCORDING TO ORIGIN IN THE MAIN PLACES OF SALE IN HUAMANGA-AYACUCHO 2018

ABSTRACT

The work was carried out in the main places of sale of fish of the city of Ayacucho, with the objective of being able to determine the prevalence of ichthiozoonotic parasites, we worked with 120 samples of 3 varieties of fish in 4 places of sale through the technique of visual observation, finding a prevalence of 52.5%, Nery Garcia market 14.17%, Grau market 13.33%, Nazarene and Covadonga with 12.5% respectively, number of positives in beautiful 26, followed by horse mackerel with 23 positive samples and finally smooth with 14 positive. In the case of *Anisakis sp.* more in the market Grau 14 positives, followed by Nery Garcia 13 positives, Nazarenes 10 positives and finally in Covadonga 9 positives. As for *Diphylllobothrium sp.* in the Covadonga 9 positive market, followed by Nery Garcia 6 positive, Nazareno 5 positive and finally Grau 3 positive. The type of parasitism, in Nery Garcia monoparasitism *Anisakis sp.* 11 samples, *Diphylllobothrium sp.* 3 samples and Biparasitism *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* in 4 samples. in the market Grau monoparasitism *Anisakis sp.* 13 samples, *Diphylllobothrium sp.* 2 samples and Biparasitism *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* in 2 samples. in the Nazarene market monoparasitism *Anisakis sp.* 10 samples, *Diphylllobothrium sp.* 4 samples and Biparasitism *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* in 1 sample. in market Covadonga monoparasitism *Anisakis sp.* 7 samples, *Diphylllobothrium sp.* 8 samples and Biparasitism *Anisakis sp.* + *Diphylllobothrium sp.* in 1 sample.

Key words: Parasites, fish, prevalence.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, existe una gran variedad de recursos hidrobiológicos cuyas investigaciones sobre parasitología han estado dirigidas principalmente hacia aspectos como la descripción taxonómica, el conocimiento de índices parasitarios y/o enfocados solo a algunos especímenes, como a nematodos y cestodos principalmente (Bermejo et al 2000; Pérez, 1997; Jara, 1995; Tantaleán y col 1982), sin embargo el conocimiento de la composición parasitaria de cada especie de peces es parcial, es por esta razón la necesidad de ampliar el estudio sobre la totalidad de parásitos que presentan los peces, sobre todo de las

pesquerías locales las cuales consumimos, así como conocer sobre la bioecología, la patología que presentan y más aún si éstos parásitos pueden ser transmitidos al hombre.

La mayoría de los peces, tanto en estado silvestre como en cautividad, se encuentran infestados por parásitos cuyas lesiones pasan inadvertidas en la mayoría de los casos. Sin embargo, las poblaciones de peces en cautividad, los parásitos causan a menudo, serios brotes de enfermedad, debido a las altas densidades mantenidas en esas condiciones que los favorecen, de forma que éstos pueden aumentar hasta un nivel muy alto y causar problemas. Muchas especies de parásitos son huéspedes de la mayoría de las especies en el

medio silvestre. Sin embargo, en las poblaciones mantenidas en cautividad, los parásitos causan a menudo serios brotes de enfermedad, específicos, al menos en cierto grado, y sólo son capaces de infestar a un número limitado de especies y pueden tener efectos muy distintos sobre cada una. Por eso hoy en día las ictiozoonosis son las enfermedades transmitidas al ser humano por bacterias, virus y parásitos, a través del consumo de pescado, productos pesqueros y productos de la acuicultura (Urribarren, 2010; Quijada y col 2010).

Las enfermedades transmitidas por consumo de alimentos de origen animal son consideradas un problema en salud pública. En el caso de los organismos acuáticos existen diversos agentes que pueden provocar enfermedades en los humanos si estos no son consumidos de manera adecuada. Dentro de estos agentes se encuentran los parásitos cuyo ciclo de vida en muchos de ellos requieren de los organismos acuáticos para llevar a cabo su ciclo, esto repercute en la salud humana, ya que al consumir la fase infectante del parásito provoca diversos trastornos en la salud de éste. Es importante que el Médico Veterinario se involucre en esta área con la finalidad de prevenir la presentación de enfermedad en el ser humano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de ejecución: El presente trabajo de investigación se llevó en los principales lugares de venta de pescado como son mercado Nery García, Mercado Grau, Mercado Nazareno, Mercado Covadonga, se realizó el muestreo de 3 variedades de pescados. Como son: Jurel, Lisa y bonito. Luego se procedió a realizar el análisis en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria.

De las muestras: Se trabajó con un total de 120 muestra, 30 de cada variedad durante los meses de abril a diciembre.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Prevalencia de parásitos ictiozoonóticos de pescado crudo en principales lugares de venta.

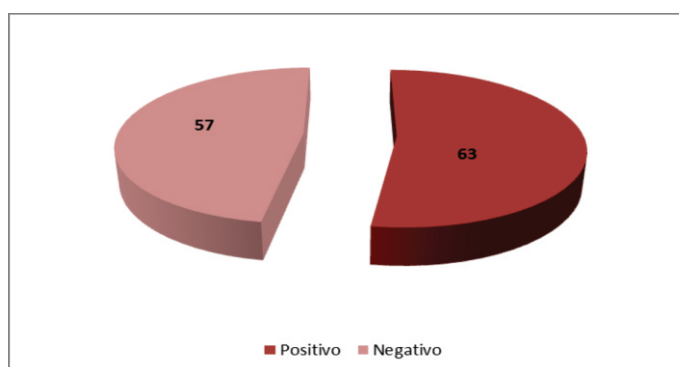


Gráfico 1. Prevalencia de parásitos ictiozoonóticos en pescado.

En el gráfico 1 se muestra la prevalencia de parásitos en pescado con 63 (52,5%) positivos y 57 (47,5%) negativos. Estos resultados resultan ser similares a los reportados por Serrano y col, (2017) quien en su estudio tuvo como objetivo evaluar la presencia de parásitos en cinco especies de peces marinos (*Sarda chiliensis chiliensis* (bonito), *Scomber japonicus peruanus* (caballa), *Trachurus picturatus murphyi*

Metodología

Técnicas visuales

Los principales métodos que se han utilizado clásicamente para la detección de parásitos en el pescado son los controles visuales, la transiluminación con UV y luz blanca y la microscopía clásica (NTON 03004-98).

a. Examen visual simple

Antes de que se destinen al consumo humano, los pescados y productos a base de pescado deben ser sometidos a un control visual por sondeo para la detección de parásitos visibles. Esta inspección tiene como objetivo obtener una primera información de cualquier parásito en el pescado que por su tamaño permita ser detectado a simple vista antes de su puesta en el mercado. Algunos parásitos pueden detectarse en un primer momento mediante inspección visual simple. Este examen visual es un método más sencillo de detección de parásitos y está basado en la búsqueda de parásitos en vísceras y musculatura del pescado. A pesar de ser un método muy sencillo y de no requerir de personal especializado para su realización, no es un método muy fiable ya que no es muy eficaz y no distingue entre parásitos vivos y muertos (NTON 03004-98).

b. Transiluminación

La transiluminación consiste en exponer el pescado, generalmente fileteado, a un haz de luz blanca o luz UV, teniendo en cuenta que ante la presencia de parásitos, estos se mostrarán opacos, facilitando así su eliminación. Esta es una técnica rápida y de bajo costo ya que no requiere ni maquinaria ni personal especializado pero se ha demostrado que es una técnica con baja eficacia y subjetiva ya que la detección siempre estará condicionada por parámetros propios de la muestra como el grosor del filete, la presencia o ausencia de piel, el contenido en aceite y sobre todo la experiencia del operador (NTON 03004-98).

(jurel), *Mugil cephalus* (lisa) y *Coryphaena hippurus* (perico) destinados al consumo humano. Se utilizaron 150 peces (30 por especie) procedentes de los terminales pesqueros de Chorrillos y Villa María del Triunfo en la provincia de Lima, Perú, entre enero y marzo de 2014, habiendo una mayor prevalencia en lisa (86.7%), seguida de perico (76.7%).

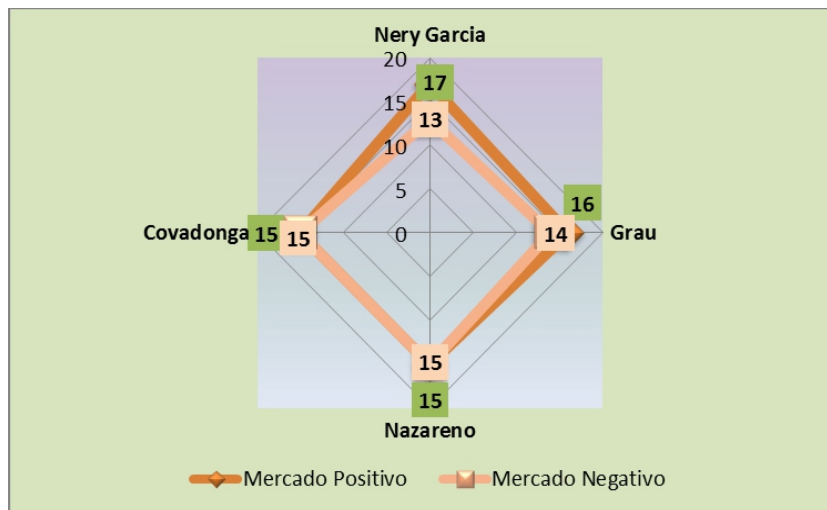


Gráfico 2. Prevalencia de parásitos ictiozoonóticos en pescado en principales lugares de venta.

En el gráfico 2 se muestra la prevalencia de parásitos y en pescado en los principales lugares de venta, se encontró en el mercado Nery García una mayor prevalencia con 17 positivos que representa el 14,17%, seguido del mercado Grau con 16 positivos (13,33%), seguido de nazareno y Covadonga con 15 positivos (12,5%) respectivamente.

Estudios realizados a nivel nacional e internacional demuestran la presencia de especies parasitarias en los recursos hidrobiológicos (Pérez et al., 1999; Llerena et al., 2001; Cabrera et al., 2002; Iannacone, 2004; Aragort 2006; Iannacone y Alvarino, 2009; Vásquez-Ruiz y Jara-Campos, 2012; Chero et al., 2014). El parasitismo en peces ocasiona pérdidas socioeconómicas, ya sea por la transmisión al humano de patógenos de importancia en salud pública como el *Anisakis sp* y *Diphyllobotrium pacificum*, o aquellas que, al estar presentes, pueden ocasionar el deterioro o daño del

producto, el cual debe ser descartado de las líneas de comercio o producción, según lo establece la normativa sanitaria vigente. Un ejemplo de ello es la normativa peruana que establece consideraciones sanitarias durante las operaciones de procesamiento del pescado fresco previo a la congelación y del pescado que será sometido al proceso de curado. Una de estas indica que el pescado que se encuentre parasitado se descartará de la línea de proceso (Decreto Supremo N° 040-2001-PE). Es de interés nacional mantener actualizada la data de la fauna parasitaria presente en las especies hidrobiológicas destinadas al consumo humano directa o indirectamente, con la finalidad de establecer programas sanitarios y recomendaciones para garantizar la inocuidad de los productos. En tal sentido, el objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de parásitos en cinco especies de peces marinos destinados al consumo humano directo.

2. Parásitos ictiozoonóticos en pescado crudo en principales lugares de venta.

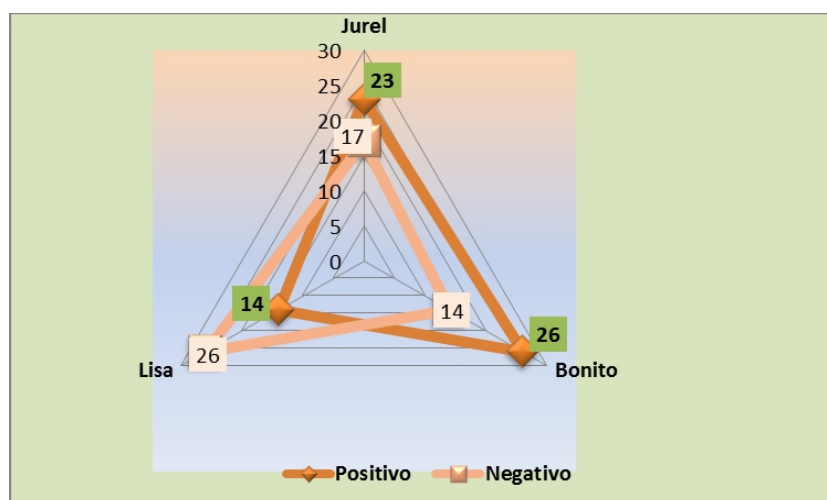


Gráfico 3. Parásitos ictiozoonóticos en pescado en principales lugares de venta.

En el gráfico 3 se muestra la prevalencia de parásitos en pescados, se analizó 30 muestras de cada especie de pescado, donde se encontró la mayor cantidad de positivos en el bonito con 26, seguido del jurel con 23 muestras positivas y

finalmente la lisa con 14 positivas. Los principales focos contaminantes de los pescados, siendo estos la tabla de picar, los cuchillos, las mesas y paredes y las propias manos de los vendedores.

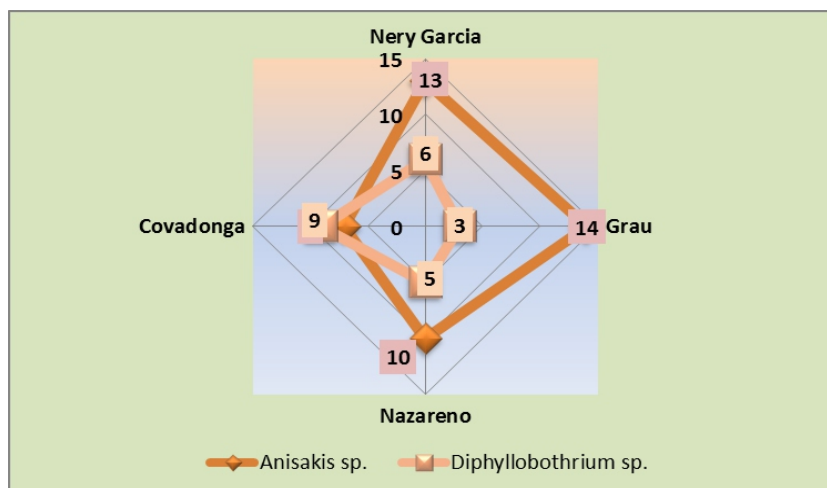


Gráfico 4. Parásitos ictiozoonóticos en pescado en principales lugares de venta.

En el gráfico 4 se muestra la presencia de parásitos en los principales lugares de venta, para el caso de *Anisakis sp.* se tiene mayor cantidad en el mercado Grau con 14 positivos, seguido de Nery García con 13 positivos, Nazarenos con 10 positivos y finalmente en Covadonga con 9 positivos a *Anisakis sp.* En cuanto al *Diphylllobothrium sp.* el mayor número en el mercado Covadonga con 9 positivos, seguido de Nery García con 6 positivos, Nazareno con 5 positivos y finalmente Grau con 3 positivos para *Diphylllobothrium sp.* Resultados diferentes a los nuestros reporto Serrano y col, (2017). Se utilizaron 150 peces (30 por especie) procedentes de los terminales pesqueros de Chorrillos y Villa María del Triunfo en la provincia de Lima, Perú, entre enero y marzo de 2014. Se encontraron 13 especies de parásitos: monogéneos (*Monocotyle sp.*), digéneos (*Dinurus sp.*), protozoos (*Henneguya sp.*), acantocéfalo (*Rhadinorhynchus sp.*), cestodos (*Diphylllobothrium pacificum*, *Hepatoxylon trichiuri*, *Tentacularea coryphaenae*, *Nybelinia sp.*), nematodos (*Anisakis simplex*, *Anisakis physeteris*, *Contracaecum sp.*, *Proleptus sp.*) y artrópodos (*Caligus sp.*). Los parásitos más frecuentes fueron *Hepatoxylon trichiuri*, *Nybelinia sp.* y *Proleptus sp.* Asimismo, se encontraron parásitos de importancia en salud pública, como el *Anisakis sp.* en todas las especies, a excepción de la lisa, y del

Diphylllobothrium pacificum en bonito y perico. Por otra parte Quiroz (2014) investigó en 132 ejemplares de *Trachurus picturatus murphyi* (jurel), procedentes del terminal pesquero de Villa María del Triunfo, analizados durante el periodo de Enero a Marzo del 2013. Se reportan 6 especies; copépodo *Lernanthropus trachuri* ($P=47.73\%$, $II=9$, $IMI=1.94$, $A=0.92$); isópodo *Ceratothoa gaudichaudii* ($P=4.55\%$, $II=3$, $IMI=2.17$, $A=0.10$); cestodos *Tentacularea coryphaenae* ($P=20.45\%$, $II=2$, $IMI=1.07$, $A=0.22$) y *Diphylllobothrium sp.* ($P=0.76\%$; $II=1$; $IMI=1$; $A=0.01$); nematode *Anisakis sp.* ($P=19.70\%$; $II=3$; $IMI=1.35$; $A=0.27$); coccidio *Eimeria sp.* ($P=100\%$) y larvas de cestodos (tres) que no pudieron ser identificados ($P=1.52\%$; $II=3$; $IMI=2$; $A=0.03$). Se destaca la presencia de las larvas *Diphylllobothrium sp.* y *Anisakis sp.* (presentes en el tejido muscular), por su relación con la zoonosis y cuya principal transmisión se da por el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocido, infectado por dichas larvas. Resultados que son similares a los nuestros. Los parásitos, que se encontraron fueron dos parásitos principales que afectan a peces, el *Anisakis, spp.* y el *Diphylllobothrium spp.*, si bien no van a causar daños graves en la salud de la población, si causan molestias estomacales, repercutiendo en la salud.

3. Tipo de parasitismo ictiozoonótico en pescado crudo en principales lugares de venta.

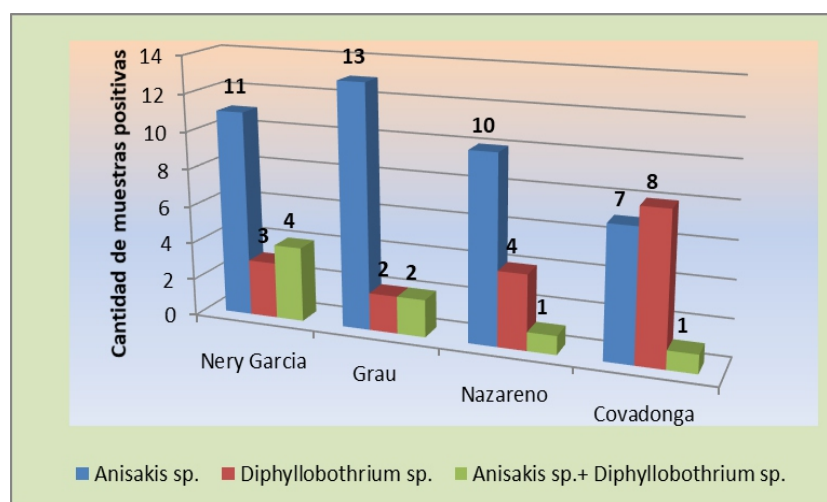


Gráfico 5. Tipo de parasitismo en pescado en principales lugares de venta.

En el gráfico 5 podemos observar el tipo de parasitismo, se encontró en Nery García monoparasitismo *Anisakis sp.* 11 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 3 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 4 muestras. En mercado Grau monoparasitismo *Anisakis sp.* 13 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 2 muestras y Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 2 muestras. En mercado Nazareno monoparasitismo *Anisakis sp.* 10 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 4 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 1 muestra. En mercado Covadonga monoparasitismo *Anisakis sp.* 7 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 8 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 1 muestra. Resultados diferentes a los nuestros reporto Serrano y col (2017) con objetivo evaluar la presencia de parásitos en cinco especies de peces marinos, reporto que el 61.3% de los especímenes presentaron al menos un parásito, habiendo una mayor prevalencia en lisa (86.7%), seguida de perico (76.7%). Asimismo, se encontraron parásitos de importancia en salud pública, como el *Anisakis sp.* en todas las especies, a excepción de la lisa, y del *Diphyllobothrium pacificum* en bonito y perico. Así mismo Quiroz (2014) encontró resultados al análisis de 132 ejemplares de *Trachurus picturatus murphyi* (jurel), procedentes del terminal pesquero de Villa María del Triunfo, analizados durante el periodo de Enero a Marzo del 2013. Los parásitos hallados fueron contabilizados para determinar prevalencia (P), Se destaca la presencia de las larvas *Diphyllobothrium sp.* y *Anisakis sp.* (presentes en el tejido muscular), por su relación con la zoonosis y cuya principal transmisión se da por el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocido, infectado por dichas larvas.

Conclusiones

La prevalencia de parásitos en pescado con 63 (52,5%) positivos y 57 (47,5%) negativos.

La prevalencia de parásitos en pescado en los principales lugares de venta, se encontró en el mercado Nery García una mayor prevalencia con 17 positivos que representa el 14,17%, seguido del mercado Grau con 16 positivos (13,33%), seguido de nazareno y Covadonga con 15 positivos (12,5%) respectivamente.

La prevalencia de parásitos en pescados, se analizó 30 muestras de cada especie de pescado, donde se encontró la mayor cantidad de positivos en el bonito con 26, seguido del jurel con 23 muestras positivas y finalmente la lisa con 14 positivas.

La presencia de parásitos en los principales lugares de venta, para el caso de *Anisakis sp.* se tiene mayor cantidad en el mercado Grau con 14 positivos, seguido de Nery García con 13 positivos, Nazarenos con 10 positivos y finalmente en Covadonga con 9 positivos a *Anisakis sp.* En cuanto al *Diphyllobothrium sp.* el mayor número en el mercado Covadonga con 9 positivos, seguido de Nery García con 6 positivos, Nazareno con 5 positivos y finalmente Grau con 3 positivos para *Diphyllobothrium sp.*

El tipo de parasitismo, se encontró en Nery García monoparasitismo *Anisakis sp.* 11 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 3 muestras y el Biparasitismo

Anisakis sp. + *Diphyllobothrium sp.* en 4 muestras. En mercado Grau monoparasitismo *Anisakis sp.* 13 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 2 muestras y Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 2 muestras. En mercado Nazareno monoparasitismo *Anisakis sp.* 10 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 4 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 1 muestra. En mercado Covadonga monoparasitismo *Anisakis sp.* 7 muestras, *Diphyllobothrium sp.* 8 muestras y el Biparasitismo *Anisakis sp.* + *Diphyllobothrium sp.* en 1 muestra.

AGRADECIMIENTO

A Sulma Hinostroza Palomino y Miguel Rodríguez Quispe, por su colaboración para el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cabrera, R. Coronado, C., Ampuero, S. 1994. Parásitos de Otáridos de la costa peruana y su importancia sanitaria. Boletín de Lima. 16 (91-96): 77-80.
- Chero, J., Sáez, G., Iannacone, J., Aquino, W. 2014. Aspectos ecológicos de los helmintos parásitos de lorna *Sciaena deliciosa* (Tschudi, 1846) (Perciformes: Sciaenidae) adquiridos del Terminal Pesquero de Ventanilla, Callao, Perú. Neotrop. Helminthol., 8(1):59-76. ISSN: 1995-1043 on line.
- Serrano, M., Quispe, M., Hinostroza, E., Plasencia, L. 2017. Detección de Parásitos en Peces Marinos Destinados al Consumo Humano en Lima Metropolitana.
- Jara, C. 1995. Prevalencia e intensidad de parasitismo por helmintos en cuatro especies de peces de la zona norte del mar peruano. Revista peruana de parasitología 13: 76-83, 1998
- Llerena C, Chávez, A y Casas A. 2001. Frecuencia de larvas *Diphyllobothriidae* y larvas *Anisakidae* en peces marinos comerciales del terminal pesquero de Ventanilla – Callao. Revista de Investigaciones del Perú, vol.12, pp. 45-48.
- Quiroz G. 2014. Estudio de la parásitofauna en el jurel (*Trachurus picturatus murphyi*, chirichigno y Vélez 1998), con énfasis en zoonosis parasitaria tesis para optar al título de ingeniero pesquero Lima- Perú la molina.
- Norma NTON 03004-98 Modalidades de control visual para detectar parásitos en productos pesqueros.
- Pérez, I; Chávez, A; Casas, E.1999. Presencia de formas parasitarias en peces comerciales del mar peruano. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 10v. 4p.
- Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Maraño F, Sastre J, Vernal ML, Rodríguez Bedate CA. 2000. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. Int Arch Allergy Immunol; 123:120-129.
- Quijada J, Lima DS C, Avdalov N. 2010. Enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América

Latina. Infopesca Internacional; 24:17-23. [Citado: 2010 febrero 1º] Disponible en URL:
ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/IIsimcope/palestra_nelson_avdalov.pdf

Quijada, J. Avdalov, N. Lima dos Santos, CA. 2005. Presencia de Ictiozoonosis en países de Latinoamérica enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América Latina. (en línea). INFOPECA INTERNACIONAL n° 24 : 16 - 2. Consultado_12mar_2013. Disponible en: http://www.simcope.com.br/II_Simcope/pdf/palestra_nelson_avdalov.pdf.

Tantaleán, M., Huiza, A. 1984. La *Diphyllbothriasis* y su epidemiología en el Perú. Los hospederos paraténicos de *Diphyllbothrium pacificum*. Bol Med Trop UNMSM (Lima) 3:3-4.

Uribarren BT. 2010. Recursos en Parasitología. Paragonimosis Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. [Citado: 2010 febrero 1º]. Disponible en URL:
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trematodos/paragonimosis.php>.

DOSIS DE GALLINAZA PROCESADA EN RENDIMIENTO Y CALIDAD DE MAZORCA DE VARIEDADES DE *Zea mays* L. AYACUCHO, 2018

Rolando Bautista Gómez

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias Agrarias
Programa de Investigación en Cultivos Alimenticios - Área de Investigación en Maíz Morado
E-mail: rolando.bautista@unsch.edu.pe

RESUMEN

El experimento se realizó en el Centro Experimental Canaán propiedad de la Universidad de Huamanga-Ayacucho, con el objetivo de determinar la dosis de gallinaza procesada Terrasur que reporte el mayor rendimiento de mazorca y mayor índice de tinción en tres variedades de maíz morado. Se utilizó tres variedades (INIA 601, INIA 615 y PMV 581) y cuatro dosis de gallinaza Terrasur (00, 1.0, 2.0 y 3.0 t.ha⁻¹). Se utilizó el diseño estadístico de Bloque Completo Randomizado aleatorizado mediante el Diseño de Parcelas Dividas, adjudicándose la variedad a las parcelas y dosis de gallinaza Terrasur a las subparcelas, estableciéndose 03 repeticiones y 12 tratamientos. El distanciamiento entre surcos fue de 0.80 m y 0.40 m entre golpes con 3 plantas por golpe y 4 surcos por subparcela. De los resultados obtenidos se tiene las siguientes conclusiones: La mayor longitud de mazorca se obtuvo con la variedad PMV 581 con 12.7 cm, el diámetro de mazorca y peso de tusa se incrementa conforme se incrementa la cantidad de gallinaza Terrasur, obteniéndose 3.56, 3.67, 3.71 y 3.89 cm de diámetro de mazorca y 13.7, 13.9, 14.3 y 15.1 gr, de peso de tusa con 0.0, 1.0, 2.0 y 3.0 t.ha⁻¹ de gallinaza Terrasur, respectivamente. El mayor peso de mazorca se obtuvo con la variedad INIA 615 con 131.2 gr, y ésta se incrementa conforme se incrementa la dosis de gallinaza Terrasur. El mayor rendimiento de mazorca se obtuvo con la variedad INIA 615 con 4 093 kg.ha⁻¹ y con la dosis 3.0 t.ha⁻¹ de gallinaza Terrasur. El índice de tinción varía de 4.11 a 4.73. La mayor rentabilidad se obtuvo con los tratamientos T₈ y T₄ (Variedad INIA 615 y MV 581 con 3.0 t.ha⁻¹ de gallinaza Terrasur) con 207.1 y 170.3% respectivamente.

Palabras clave: Variedades de maíz morado, dosis de gallinaza, contenido de antocianina.

DOSE OF GALLINAZA TERRASUR PROCESSED CHIKEN MANURE IN YIELD AND QUALITY OF CROWNED OF VARIETIES OF *Zea mays* L. AYACUCHO, 2018

ABSTRACT

The experiment was carried out at the Canaán Experimental Center owned by the University of Huamanga-Ayacucho, with the objective of determining the dose of Terrasur processed chicken manure that reported the highest crowned yield and highest staining index in three varieties of purple corn. Three varieties were used (INIA 601, INIA 615 and PMV 581) and four dose of Terrasur chicken manure (00, 1.0, 2.0 and 3.0 t.ha⁻¹). The randomized Randomized Complete Block statistical design was used through the Design of Divided Plots, the variety being awarded to the plots and dose of Terrasur chicken manure to the subplots, establishing 03 repetitions and 12 treatments. The distance between rows was 0.80 m and 0.40 m between strokes with 3 floors per stroke and 4 rows per subplot. From the results obtained, the following conclusions are reached: The longest cob length was obtained with the PMV 581 variety with 12.7 cm, the diameter of the crowned and the weight of increases as the amount of Terrasur chicken manure increases, obtaining 3.56, 3.67, 3.71 and 3.89 cm in diameter of cob and 13.7, 13.9, 14.3 and 15.1 gr, weight of with 0.0, 1.0, 2.0 and 3.0 t.ha⁻¹ of Terrasur chicken manure, respectively. The highest ear weight was obtained with the INIA 615 variety with 131.2 gr, and this increases with increasing dose of Terrasur chicken manure. The highest ear yield was obtained with the INIA 615 variety with 4 093 kg.ha⁻¹ and with the dose of 3.0 t.ha⁻¹ of Terrasur chicken. The staining index varies from 4.11 to 4.73. The highest profitability was obtained with treatments T₈ and T₄ (Variety INIA 615 and MV 581 with 3.0 t.ha⁻¹ of Terrasur chicken) with 207.1 and 170.3% respectively.

Key words: Varieties of purple corn, dose of chicken manure processed, anthocyanin content.

INTRODUCCIÓN

El Perú goza de condiciones geográficas y climáticas propicias para el cultivo de maíz morado y constituye uno de los principales productores y exportadores en el mundo (Sierra Exportadora, 2011), sin embargo, en la región Ayacucho, el cultivo se practica eminentemente en sistemas de agricultura familiar y semi intensivo con procesos y/o tecnologías ancestrales, lo cual se traduce en baja productividad y bajo contenido de antocianinas en la tusa y

grano. Estudios recientes han demostrado que la antocianina de maíz morado actúa como un poderoso antioxidante natural, que previene la degeneración de algunas células del cuerpo y ayuda en la prevención del cáncer, arterioesclerosis, diabetes y artritis, además de reducir la presión arterial y el colesterol en la sangre.

Los rendimientos promedios de los cultivos en general y del maíz morado en particular son muy bajos, debido entre otros factores por la baja fertilidad de los suelos y el

desconocimiento de la variedad mejor adaptada a la región, por lo que es importante el uso de abonos orgánicos, entre ellos la gallinaza Terrasur, cuya composición muestra una gran riqueza y diversidad de macro y micro elementos esenciales que aseguran una nutrición equilibrada y completa del cultivo, favoreciendo la parte física y actividad microbiana del suelo, además, la materia orgánica más que un aportador de nutrientes es considerado como un mejorador de la parte física y biológica del suelo, haciendo más disponible para la planta, los nutrientes existentes en el suelo. Por ello es importante realizar ensayos de rendimiento en variedades que mejor se adapten a la zona de estudio en interacción con niveles de abonos orgánicos baratos, disponibles y sostenibles.

Por las consideraciones expuestas, se plantea la ejecución del presente experimento con la finalidad de alcanzar los siguientes objetivos:

- Determinar la dosis de gallinaza procesada Terrasur que reporte el mayor rendimiento de mazorca en tres variedades de maíz morado.
- Determinar la dosis de abono orgánico Terrasur que reporte el mayor índice de tinción en tres variedades de maíz morado.
- Estudiar el mérito económico de los tratamientos en estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material

El experimento se realizó en el Centro Experimental de Canaán, ubicado en el distrito de Andrés Bello Cáceres Dorregaray, provincia de Huamanga y región Ayacucho a las coordenadas de 13° 43' 33" Latitud Sur, 74° 32' Longitud Oeste y a una altitud de 2750 msnm. La pendiente del terreno varía de 1 – 1.5% y es clasificado ecológicamente como Bosque Seco Montano Bajo Subtropical.

El suelo del lugar del experimento, posee un pH ligeramente ácido, contenido de materia orgánica bajo, contenido de nitrógeno total pobre, contenido de fósforo disponible alto y potasio disponible medio. Según el análisis físico del suelo es clasificado como un suelo de textura franco arcilloso y por las características físicas y químicas que presenta, este suelo es considerado apropiado para el cultivo de maíz morado.

La temperatura máxima, media, mínima fueron de 23.92,

16.32 y 9.06 °C, respectivamente y la precipitación total durante el periodo comprendido entre el mes de setiembre a diciembre de 2017 y enero a agosto de 2018 alcanzó los 554.23 mm, que es considerado como un año con buena humedad para la región sierra.

El estudio corresponde a la utilización de tres variedades de maíz (PMV – 581, INIA - 615 Negro Canaán e INIA - 601 Negro Cajamarca) y la aplicación de dosis de gallinaza Terrasur (0.0, 1.0, 2.0 y 3.0 t.ha⁻¹). Para la distribución de las unidades experimentales se utilizó el diseño estadístico de Bloque Completo Randomizado aleatorizado mediante el Diseño de Parcelas Dividas, adjudicándose la variedad a las parcelas y niveles de gallinaza Terrasur a las subparcelas, estableciéndose 03 repeticiones y 12 tratamientos. Para el análisis estadístico se realizaron los análisis de varianza y luego la prueba de Tukey.

Métodos

La preparación del terreno se realizó el 14 de noviembre del 2017 utilizando un tractor agrícola. La aplicación de la gallinaza Terrasur y la siembra se realizó el 19 de diciembre del 2017, depositando tres semillas por golpe y con una densidad de siembra de 25 kg.ha⁻¹, en surcos distanciados a 0.8 m y 0.40 m entre golpes. La gallinaza Terrasur se incorporó previo a la siembra de acuerdo a las dosis establecidas, al fondo del surco y a chorro continuo y luego se cubrió con una ligera capa de suelo, para evitar el contacto directo con las semillas. El control de malezas y el raleo se realizó el 10 de enero de 2018 a los 22 días después de la siembra. El control de plagas y enfermedades se realizaron el 10 y 27 de febrero y el 10 de marzo de 2018. La cosecha se culminó el 30 de mayo del 2018 a los 150 días después de la siembra.

Se evaluaron las variables de longitud y diámetro de mazorca, peso de tusa y mazorca, rendimiento de mazorca e índice de tinción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracteres de productividad

Longitud de mazorca

En la tabla 3.1 se muestra el ANVA de la longitud de mazorca de tres variedades de maíz en cuatro dosis de gallinaza Terrasur, donde se observa que existe alta significación estadística en la fuente de variación de las dosis de gallinaza Terrasur, con un coeficiente de variabilidad de 3.55%.

Tabla 1. ANVA de la longitud de mazorca de tres variedades de maíz en cuatro dosis de gallinaza Terrasur. Canaán 2750 msnm Ayacucho.

F. Variación	GL	SC	CM	Fc	P> F
Bloque	2	0,01653889	0,00826944	0,01	0,99 ns
Variedad (V)	2	1,95013889	0,97506944	1,19	0,3923 ns
Error (a)	4	3,26911111	0,81727778		
Dosis Terrasur (D)	3	7,166675	2,38889167	14,22	<.0001 **
Interacción (VxD)	6	3,89861667	0,64976944	3,87	0,0118 ns
Error (b)	18	3,02428333	0,16801574		
Total	35	19,32536389			

C.V. = 3,55%