

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN FOCALIZADA CON LEPIDIUM
MEYENII WALP (MACA) SOBRE ESTATUS OVÁRICO EN OVEJAS**

Memoria de Título presentada como parte de
los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO

CAROLINA ALEJANDRA ARROYO RIEDEL
VALDIVIA – CHILE

2013

PROFESOR PATROCINANTE

Claudia Letelier Velásquez

PROFESOR COPATROCINANTE

José Goicochea Vargas

PROFESORES INFORMANTES

Marcos Moreira Espinoza

Juan Pablo Smulders Ramírez

FECHA DE APROBACIÓN: 26 de Marzo 2013

*A mis padres y hermanos por el esfuerzo, cariño y comprensión; a Luis por
el amor incondicional entregado durante estos últimos años*

ÍNDICE

Capítulos	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSIÓN.....	18
7. REFERENCIAS.....	22
8. ANEXOS.....	25
9. AGRADECIMIENTOS.....	27

1. RESUMEN

La nutrición es uno de los factores más importantes que influyen sobre el éxito reproductivo y se ha demostrado que la alimentación focalizada producto de la suplementación estratégica con suplementos altamente energéticos durante unos pocos días (4-6 días) previos al encaste, pueden generar un aumento sobre la foliculogénesis y la tasa ovulatoria de las ovejas. La maca (*Lepidium Meyenii* Walp), tubérculo cuyos principales centros de producción se encuentran en Perú, se caracteriza por ser adaptogénica, afrodisiaca y altamente energética, por lo que es utilizada para mejorar el rendimiento sexual y deportivo en humanos y se ha explorado su efecto sobre la fisiología reproductiva en animales machos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la suplementación focalizada con maca en dos presentaciones, cruda y pre-cocida, sobre el estatus ovárico en ovejas y la tasa ovulatoria.

En el estudio experimental se utilizaron 17 ovejas adultas que fueron sincronizadas con un protocolo corto de progesterona por 7 días (día -2) y prostaglandina el día del retiro del dispositivo (día 4). Las ovejas fueron asignadas al azar en tres grupos: maca cruda (MC, n=6), recibió 20g de maca cruda disuelta en 60ml de agua; maca pre-cocida (MP, n=6) recibió 20g de maca precocida disuelta en 60ml de agua y grupo control (GC, n=5) que recibió 80ml de agua. Los tratamientos se administraron vía oral dos veces al día desde el día 1 hasta el día 4. Las estructuras ováricas fueron monitoreadas mediante ultrasonografía transrectal (Aloka SSD-500, con sonda prostática de 7,5 Mhz) desde el inicio del tratamiento hasta el día 10 para determinar la tasa ovulatoria.

Las ovejas suplementadas con maca cruda incrementaron significativamente el n° de folículos totales (≥ 2 mm) durante el tercer día del aporte energético con respecto al grupo MP ($14,3 \pm 1,2$ MC; $8,7 \pm 2,1$ MP; $P < 0,05$) e igual que el GC ($13 \pm 3,5$), ocurriendo algo similar con los folículos medianos (4-5 mm), donde las ovejas suplementadas con maca cruda presentan mayor número que el GC y MP ($4,0 \pm 1,0$ MC; $2,0 \pm 1,0$ MP y $2,2 \pm 0,8$ GC; $P < 0,05$). El último día de suplementación (día 4) ocurre esta misma diferencia ($4,3 \pm 0,6$ MC; $2,7 \pm 0,6$ MP y $2,2 \pm 1,8$ GC; $P < 0,05$). La tasa ovulatoria promedio mostró diferencias significativas, siendo mayor en el grupo suplementado con maca cruda, la cual logró aumentar significativamente la tasa ovulatoria en las ovejas tratadas, no observándose diferencias entre los otros dos grupos ($2,0 \pm 0,0$ MC; $1,7 \pm 0,5$ MP y $1,4 \pm 0,5$ GC; $P < 0,05$). Las concentraciones plasmáticas de glucosa mostraron diferencias significativas entre grupos en último día de suplementación (día 4) donde maca cruda mostró un aumento significativo de la glucosa plasmática ($P < 0,05$) con respecto a las ovejas del GC.

La suplementación focalizada por 4 días con maca cruda produce modificación en los patrones foliculares, mejorando la tasa ovulatoria, y el proceso de cocción de la maca afectaría algún componente o valor nutricional que explicaría la respuesta diferente cuando es usada como maca precocida.

Palabras clave: maca, tasa ovulatoria, foliculogénesis, nutrición.

2. SUMMARY

EFFECTS OF FOCUS FEEDING WITH LEPIDIUM MEYENII WALP (MACA) ON THE OVARIAN STATUS IN SHEEP

Nutrition is one of the most important factors influencing the reproductive success and it has been shown that the focus feeding strategic supplementation with high energy supplements for a few days (4-6 days) prior to mating, can generate increased on folliculogenesis and ovulation rate in sheep. Maca (*Lepidium meyenii* Walp), tuber whose main production centers are located in Peru, is characterized as adaptogenic, aphrodisiac and highly energetic and it is used to improve performance in humans and has been studied its effect on the physiology reproductive male animals models. The objective of this work was to study the effect of focus supplementation with maca in two presentations, raw and pre-cooked, on ovarian status in sheep.

In the present study, 17 adult sheep were used and synchronized with a protocol of progesterone for 7 days (day -2) and day prostaglandin removal device (day 4). The sheep were randomized into three groups: raw maca (MC, n= 6), which received a mixture of 20g of raw maca dissolved in 60ml of water; pre-cooked maca (MP, n=6) received 20g maca precooked dissolved in 60ml of water and control group (CG, n=5) which received 80 ml of water. Treatments were administered orally twice daily from day 1 to 4. Ovarian structures were monitored by transrectal ultrasonography (Aloka SSD-500 with 7.5 MHz probe prostate) from the start of treatment (day 1) until day 10 to determine the ovulation rate (N°CL/ewe).

Sheep supplemented with raw maca increased the total number of follicles (≥ 2 mm) during the third day of the energetic supplementation respect to the MP group ($14,3 \pm 1,2$ MC; $8,7 \pm 2,1$ MP; $P < 0,05$) as the same as the CG ($13 \pm 3,5$), something similar with medium follicles (4-5 mm), where sheep supplemented with raw maca have higher number than CG and MP ($4,0 \pm 1,0$ MC; $2,0 \pm 1,0$ MP and $2,2 \pm 0,8$ CG; $P < 0,05$). The last day of supplementation presented this similar difference ($4,3 \pm 0,6$ MC; $2,7 \pm 0,6$ MP and $2,2 \pm 1,8$ CG; $P < 0,05$). The average ovulation rate showed significant differences, being higher in the group supplemented with raw maca, not showing differences between the two other groups ($2,0 \pm 0,0$ MC; $1,7 \pm 0,5$ MP and $1,4 \pm 0,5$ CG; $P < 0,05$). Plasma glucose concentrations were statistically significant different between groups, at the fourth day of supplementation where an increasing trend in the MC group was observed ($P < 0,05$).

Focus feeding for 4 days with raw maca produces changes in the follicular patterns, improving ovulation rate and the cooking process of maca would affect any component or nutritional value and that would explain the lack of response in the follicular patterns when it is used as precooked maca.

Keywords: maca, ovulation rate, folliculogenesis, nutrition.

3. INTRODUCCIÓN

Dentro de un sistema productivo es fundamental la eficiencia reproductiva, ya que permite mejorar la relación de animales destetados con respecto a hembras encastadas. Dentro de este contexto, la nutrición es uno de los parámetros más importantes a manejar para impactar en los sistemas productivos (Boggio 2007).

En la actualidad, para la producción de pequeños rumiantes, se está usando la entrega de suplementos en conjunto con el consumo de praderas para que las hembras lleguen a una buena condición corporal al momento del encaste. Mayoritariamente, en la zona sur del país se utilizan como suplementos granos de cereales como avena, maíz, maíz roleado, entre otros. Sin embargo, se están evaluando constantemente distintas alternativas de suplementación que mejoren y/o aumenten la tasa ovulatoria en las hembras, para lograr una mayor prolificidad. Una nueva alternativa podría ser la utilización de otras fuentes energéticas como maca (*Lepidium meyenii* Walp), que corresponde a un tubérculo de crucífera donde la raíz y parte de la planta son comestibles y muy populares por su efecto potenciador de la reproducción, estudiado en ratas (Gonzales 2010), humanos, toretes e incluso peces (Flores 2004). Este tubérculo fue utilizado desde tiempos incaicos para devolverles la fertilidad perdida al ganado que trajeron los españoles en su conquista¹.

3.1 EFECTO DE LA NUTRICIÓN SOBRE LA REPRODUCCIÓN DEL OVINO

La prolificidad se define como la cantidad de corderos nacidos vivos por hembra parida (Viñoles 2003) y está estrechamente ligada a la tasa ovulatoria, la cual es un factor clave en la eficiencia reproductiva que puede ser mejorada mediante la nutrición (Viñoles 2003, Scaramuzzi y col 2006, Letelier y col 2008^b). Sin embargo la relación nutrición-reproducción en pequeños rumiantes es compleja y los resultados observados en distintos estudios son a menudo variables e inconsistentes (Scaramuzzi y col 2006). La mayoría de los estudios en esta área se han realizado en ovejas y han demostrado que en la hembra, tanto la sobre alimentación y la desnutrición afectan a los procesos ovulatorios, la calidad de los ovocitos y embriones, el desarrollo del feto y la viabilidad de los recién nacidos (Letelier y col 2008^b), es por ello que la condición corporal, el nivel de alimentación de las ovejas entre otros, son factores que pueden influir sobre la eficacia del sistema reproductivo (Scaramuzzi y col 2006). Los primeros estudios sobre este tema fueron realizados por White y Roberts (1927) quienes demostraron que ovejas producían 90 corderos por cada 100 ovejas cubiertas, mientras que aquellas puestas en pastos de buena calidad, llegaban a 120 corderos.

¹<http://www.lamolina.edu.pe>

3.2 TASA OVULATORIA, BALANCE ENERGÉTICO Y ALIMENTACIÓN FOCALIZADA

La tasa ovulatoria es la cantidad de óvulos liberados en cada celo (Letelier y col 2008^b) y en las ovejas, las poblaciones de folículos son muy sensibles al aporte nutricional, por lo que la foliculogénesis y la tasa ovulatoria pueden ser fácilmente manipuladas a través de la nutrición, como una herramienta de manejo económica para mejorar la prolificidad (Scaramuzzi y col 2006, Baumert 2011). A su vez, existen otros factores que pueden alterarla, tales como el genotipo de la oveja y factores medioambientales por lo que dentro de una misma raza se pueden obtener ovejas con una mayor tasa ovulatoria (Viñoles 2003, Letelier y col 2008^b, Baumert 2011). En cambio, dietas con bajas cantidades de energía y proteína disponibles pueden disminuir la tasa reproductiva al producir un descenso en la tasa ovulatoria (Scaramuzzi y col 2006), por ello es necesaria una alimentación de calidad y balanceada en su contenido energético y proteico antes del período de encaste.

Estudios de Scaramuzzi y col (2006) han demostrado que existen 3 efectos que ejerce la nutrición sobre la tasa ovulatoria en ovinos, los cuales son mediados por el balance energético positivo generado por los aportes extraordinarios de suplementación. Estos efectos se clasificaron en “estático”, “dinámico” y “agudo o inmediato”. El efecto estático se relaciona con un aumento del peso vivo a largo plazo, en la cual hembras de mayor peso corporal en comparación con aquellas más livianas, tendrían una mayor tasa de ovulación (Viñoles 2003, Letelier y col 2008^b), esto se produce durante el periodo de recuperación, el cual determina el peso con que las ovejas llegan al momento del encaste y se debe en parte a los bajos requerimientos de la oveja en esta etapa y a la mayor disponibilidad de alimentos, provocando un aumento del peso vivo (Baumert 2011). En cambio, el efecto dinámico se refiere a aumentos en la tasa de ovulación debido a los aumentos de la condición corporal durante períodos cortos de tiempo (Viñoles 2003), sin presentar cambios importantes en el peso vivo antes del apareamiento (Letelier y col 2008^b). Esta suplementación, que en la práctica se suele efectuar durante 2 a 3 semanas antes del encaste se denomina “flushing”, y tiene como objetivo influenciar positivamente la condición corporal, la tasa de ovulación y en conclusión el número de crías por parto (Scaramuzzi y col 2006). Por otro lado, el efecto inmediato o focalizado, se centra en una suplementación de muy corto tiempo (menor a 10 días) que no ejerce cambios en el peso ni en la condición corporal (Letelier y col 2008^b) y tiene efecto cuando la onda ovulatoria emerge, esto es aproximadamente el día 9-13 del ciclo estral o 4-6 días antes de la luteólisis (Baumert 2011). El objetivo de este es aumentar la actividad ovárica durante la etapa folicular aumentando el número y calidad de las ovulaciones (Letelier y col 2008^b). En resumen, un suplemento de 4-6 días en el momento de la selección del folículo preovulatorio aumenta la tasa de ovulación más de 20-30%, sin cambios en el peso corporal ni en la condición corporal.

El efecto inmediato fue descrito por primera vez por Stewart y Oldham (1986), quienes reportaron el efecto al suplementar con granos de lupino (“efecto lupino”). A partir de entonces, numerosos estudios han informado que el balance energético positivo de corto plazo, utilizado en protocolos de nutrición con diferentes sustratos como grano de lupino, grano de maíz, mezcla glucogénica, infusión de nutrientes, como aminoácidos y glucosa y hormonas metabólicas (insulina) estarían ligados a un aumento de la tasa ovulatoria (Viñoles 2003, Viñoles y col 2005, Scaramuzzi y col 2006, Letelier y col 2008^{a,b}, Baumert 2011, Avilez 2012). La tasa de ovulación se incrementa por la administración de glucosa y otros sustratos energéticos (mezclas glucogénicas), ya sea por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía

oral o por infusión en el abomaso (Teleni y col 1989, Viñoles 2003, Scaramuzzi y col 2006, Letelier y col 2008^b, Baumert 2011). En respuesta a lo anterior, se postula que los cambios metabólicos generados por la alimentación focalizada, podrían afectar el ovario directamente (Scaramuzzi y col 2006) y se asocia con un aumento de la foliculogénesis y la tasa de ovulación (Letelier y col 2008^b, Avilez 2012).

3.3 LEPIDIUM MEYENII WALP O MACA

Lepidium Meyenii Walp conocida comúnmente como maca (Gonzales 2010) es una planta cuya descripción original fue realizada en 1843 por un taxónomo botánico alemán, ubicándola dentro de la división Magnoliophyta, clase Dicotiledónea, Sub clase Dilleniidae, orden Capparales, familia Brassicaceae, género *Lepidium*, especie *Lepidium meyenii* Walp (Flores 2004). Ésta planta presenta una morfología de roseta, con una raíz pivotante que forma con el hipocótilo un órgano de almacenamiento subterráneo, que es la parte comestible. La maca es bienal, en el primer año (fase vegetativa), se forma a partir de la semilla botánica una roseta de hojas que produce el hipocótilo; en el segundo año (fase reproductiva) el hipocótilo produce de uno a tres brotes principales, los cuales desarrollan tallos en sentido radial y se ramifican en forma lateral formando las inflorescencias racimosas que producen las semillas (Flores 2004).

Sus principales centros de producción son en las regiones de Suni y Puna en los departamentos de Junín y Pasco a orillas del lago Titicaca entre los 3700 a 4500m de altura en Perú, sin embargo también se cultiva en Bolivia hasta el noroeste de Argentina (Gonzales 2010). Su domesticación y uso en la alimentación data de la época pre inca con la cultura Pumpush en la meseta del Bombón, departamento de Junín, Perú (Chacón 1997, Gonzales 2010).

Existen diferentes ecotipos de maca (raíz de *Lepidium Meyenii* Walp) según su color de raíz siendo la amarilla la más común (47,8%) y más comercializada (Alzamora y col 2007), le siguen la morada, blanca, roja y negra. Se puede consumir de distintas formas, tanto fresca como deshidratada, en forma de harina para jugos, postres o como ingrediente para licores entre otros (Gonzales 2010). En la zona andina gusta asada y la maca seca también se puede mezclar con leche dando origen a una mazamorra (Alzamora y col 2007).

La principal presentación de maca en el mercado es precocida, pudiéndose encontrar en algunos casos maca cruda y la principal diferencia entre estas presentaciones radica en que maca cruda después de ser cosechada, es sometida a un proceso de secado durante 2 o 3 días, hasta que se sequen las hojas, en un lugar adecuado con parámetros totalmente controlados para asegurar un bajo contenido de humedad final, sin desnaturalizar otros principios activos, haciéndola un producto digestible para luego ser pulverizada y almacenada quedando apta para su consumo, incluso por años, sin perder sus cualidades nutricionales. Mientras que para preparar maca precocida, la planta entera en forma de raíz es secada al sol para luego sufrir un proceso de tostado controlando las temperaturas y luego se realiza una molienda o pulverización y un tamizado que logra la homogeneización de la partícula para finalmente ser envasada (FAO 2006)².

²<http://www.fao.org>

Actualmente, a nivel mundial se han realizado varios estudios sobre ella, debido a su popularidad como un alimento natural suplementario, tanto en su país de origen como en el extranjero (Gonzales 2010), se le atribuyen numerosas virtudes y propiedades dentro de las cuales destacan su poder antiartrítico, regulador, inmunoestimulante, antidepresivas, energizante, afrodisíaco (Alzamora y col 2007), anti-estrés y fatiga (Gonzales 2010), estabilizador y controlador de la hipertensión, promueve la energía y claridad mental, mejora la resistencia de los atletas, alivia dolores premenstruales y regula el ciclo menstrual, estimula la producción de glóbulos rojos, mejora la función tiroidea, reduce el colesterol, previene la osteoporosis³ y entre los más importantes usos se encuentra su efecto positivo sobre la función sexual, el incremento significativo del número de espermatozoides (Bustos-Obregón y col 2005, Gonzales 2010) incluso después de daño espermatogénico causado por órgano fosforados (Bustos-Obregón y col 2005) y por combatir la infertilidad en mujeres².

Se presume que los responsables de los efectos de la maca se encuentra dentro de su composición nutricional; 59% carbohidratos, 14% proteínas, 9% fibras y 2% de lípidos (González 2010), siendo considerado un alimento energético, ya que un kilogramo de materia seca otorga 3,2 Mcal metabolizable. Valentová y Ulrichová (2003) sugieren que los alcaloides, esteroides, glucosinolatos, isotiocianatos y macamidas de la maca probablemente son los responsables de esta aptitud para actuar como un potenciador de la fertilidad, afrodisíaco, inmunoestimulante, anabólico e influenciadora del balance hormonal. Por otra parte, posee altas concentraciones de ácidos grasos esenciales como linolénico y oleico y también contiene alta concentración de aminoácidos (ácido glutámico, glicina, alanina, arginina e histidina entre otras), algunos de ellos importantes en la reproducción, como arginina que juega un importante rol en la fertilidad masculina, estimulando la producción y la motilidad de los espermios ya que este aminoácido participa en la generación de óxido nítrico, el que, a su vez, viene siendo usado hace tiempo para contrarrestar la impotencia masculina.

Por todas las características previamente mencionadas, a esta planta se le atribuye el carácter de adaptógena que por definición es toda sustancia natural que poseen algunas plantas y hierbas que pueden ayudar al cuerpo a adaptarse a su entorno, entre ellos, ejercicios extenuantes, cambios estacionales, cansancio, mala alimentación y estrés. Un adaptógeno debe provocar tan sólo cambios mínimos en las funciones fisiológicas del cuerpo, logrando aumentar la resistencia a influencias adversas, a través de acciones físicas, químicas y bioquímicas y debe tener un efecto normalizador general, mejorando todo tipo de condiciones, sin empeorar ninguna. Suárez y col (2009) demostraron que suministrando extracto acuoso de maca amarilla, en dosis de 0,8 mg y 1,2 mg/g de peso corporal en ratas, aumentó el rendimiento físico de ellas bajo un modelo de nado forzado por lo que concluyeron que efectivamente maca tiene un papel importante como alimento adaptógeno.

³http://www.perunaturalproducts.com/la_maca.htm

3.4 EFECTOS DE MACA SOBRE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA DEL MACHO

Dentro del ámbito reproductivo, muchos son los estudios que se han realizado acerca del efecto potenciador que tiene la maca.

En el caso de los machos está descrito que tiene efecto sobre la formación de espermatozoides que radica en un proceso complejo que toma lugar en los túbulos seminíferos (Gonzales 2010). Según Oshima y col (2003), este efecto estaría relacionado con un aumento en las concentraciones séricas de testosterona, el cual estimula la espermatogénesis en los túbulos seminíferos, tal como lo demostró en su experimento en ratas. Además se evidenció a través de cortes histológicos de testículos de ratas jóvenes, que maca estimula el desarrollo de células de Sertoli, espermatoцитos y las células de Leydig (Gonzales 2010).

El efecto de la maca no sólo se ha medido a través del incremento de testosterona, sino también a través del peso testicular y epididimal demostrándose un incremento significativo en un grupo de ratones tratados por 21 días con este suplemento (Gonzales 2010). Además tratamientos con maca, incrementaron de manera significativa la concentración espermática en epidídimo de ratones tratados, confirmando que es capaz de aumentar la producción de espermatozoides (Gonzales 2010).

3.5 EFECTOS DE MACA SOBRE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA

Existen pocos estudios de los efectos que tiene maca sobre las hembras. Sin embargo, se avala la teoría de que la maca aumenta, al igual que en los machos, el potencial reproductivo incrementando la actividad folicular (Chacón 2012)⁴. Estudios realizados por este autor utilizando polvo de la raíz y administrándolo a un lote de ratas prepuberales durante 6 meses, demostró la capacidad fertilizante de la maca al obtener como resultado que aquellas hembras alimentadas con maca obtuvieron mayor número de crías en comparación con el grupo control, mientras que los resultados de otro experimento realizado por este autor afirma el hecho que maca tiene un efecto positivo sobre la reproducción en hembras, puesto que ovarios de ratas suplementadas con maca en polvo cocida, exhibieron una clara estimulación de la maduración de los folículos y ovarios de ratas suplementadas con extractos alcaloideos de maca, mostraron actividad folicular, folículos de Graaf de mediano y gran tamaño, mientras que las hembras controles exhibieron sólo folículos de Graaf pequeños.

Al parecer maca también modula posteriormente el retorno al celo en animales en anestro, esto fue demostrado en un experimento con perras, a las cuales, al otorgar 1,5 g por cada 10 kg de peso de harina cocida de maca, estas presentaron celo y durante la gestación el desarrollo de las crías se concretó de manera normal (Madrid y Chacón 2012)⁵.

⁴ Comunicación personal Gloria Chacón. Abril 2012. Autora de “Acción del extracto alcaloideo de la maca en ratas”.

⁵ Comunicación personal Gloria Chacón. Abril 2012. Autora de “Acción fertilizante de la maca como alimento en perras sin celo”.

Si bien se ha estudiado en parte el efecto de maca sobre las gónadas femeninas de ratas, humanos y perras, los estudios aún no han podido determinar con certeza cuál es su mecanismo de acción, sin embargo se postula que al ser un excelente nutriente, activa el hipotálamo, hipófisis y por ende las gonadotrofinas, logrando la maduración de folículos de Graaf y produciendo celo incluso en animales que nunca lo han presentado. Sin embargo, no ha sido estudiado su efecto en otras especies de uso doméstico, con todo el potencial que esto podría llevar, con lo cual, resulta interesante estudiar cuál sería el efecto de este suplemento adaptógeno sobre parámetros reproductivos en rumiantes.

3.6 HIPÓTESIS

La suplementación ultra corta con maca alrededor del encaste mejora la función ovárica en ovejas y modifica el estatus metabólico.

3.7 OBJETIVOS

3.7.1 Objetivo General

El objetivo general de este estudio fue determinar los efectos de la alimentación focalizada sobre el estatus ovárico y metabólico en ovejas suplementadas con *Lepidium Meyenii* Walp.

3.7.2 Objetivos Específicos

- 2.7.2.1** Determinar los efectos de la alimentación focalizada sobre la tasa ovulatoria.
- 2.7.2.2** Determinar los efectos de la maca sobre la foliculogénesis durante el tratamiento y la fase folicular sincronizada.
- 3.7.2.3** Determinar los efectos de la suplementación sobre glucosa plasmática.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 ANIMALES Y UBICACIÓN DEL ENSAYO

Diecisiete ovejas adultas de raza Austral, de entre 3 y 5 años de edad fueron utilizadas en el estudio y para detectar celo se utilizaron 2 carneros adultos de la misma raza. Todos pertenecientes al plantel ovino de Raza Austral del fundo Santa Rosa, ubicada en el predio experimental de la Universidad Austral de Chile, en el sector Cabo Blanco a 13 kilómetros de Valdivia (39° 45' 5 latitud sur y 73° 14' latitud oeste) Región de los Ríos, Chile. Al inicio del experimento se determinó la condición corporal que presentaban los animales, los cuales se encontraban en promedio en $2,75 \pm 0,2$ puntos de condición corporal en una escala de 1-5, (1, animal caquéctico y 5 animal muy gordo).

El presente trabajo fue realizado a mediados del mes de enero del 2012. A lo largo del período experimental, el rebaño se mantuvo bajo un sistema de pastoreo continuo en potreros de pradera natural y con una composición botánica en orden decreciente de gramíneas (*Lolium sp*, *Agrostis capillaris*, *Holcus lanatus*), leguminosas (*Lotus uliginosus*, *Trifolium sp*) y malezas (*Hypochoeris radicata*, *Plantago lanceolata*, *Leontodon nudicaulis*), otorgando aproximadamente a los animales una oferta diaria de 1.400kg/MS/há, además disponían de agua *ad libitum*. Por la noche los animales se resguardaban en un galpón para evitar el ataque de depredadores. El manejo de las ovejas se hizo de acuerdo a los protocolos de cuidado de los animales establecidos por la Universidad⁶.

4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Todas las ovejas fueron sincronizadas e inducidas a la ovulación para poder entregar a manera de efecto inmediato el aporte de maca en la dieta. Para ello se utilizó un protocolo de sincronización corto de progesterona por 7 días y la aplicación de prostaglandina al retiro de este. La técnica consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal impregnado con 0,3 g de progesterona natural⁷ el día -2 del estudio experimental, tal y como se indica en el diagrama de la figura 1, al momento del retiro del dispositivo (día 4) se aplicó una inyección intramuscular de 125 µg de Cloprostenol⁸, correspondiente a un análogo sintético de la prostaglandina F2α para inducir la luteólisis en los posibles cuerpos lúteos. Veinticuatro horas retirado el dispositivo, se expusieron las hembras a los carneros para facilitar la detección de los celos y ser registrado el día del inicio de éstos. Para ello, los machos poseían arneses marcadores con tiza de color⁹ para marcar en la grupa a las que presentaban celo, registrándose en una planilla el día de presentación de estro. El día 1 del experimento, las ovejas fueron distribuidas de manera aleatoria en 3 grupos experimentales, quedando estos constituidos por el grupo maca precocida (MP, n=6) el cual recibió 20g de harina de maca precocida¹⁰ diluida en 60 ml de agua, grupo maca cruda (MC, n=6) con 20g de de harina de

⁶ **Fuente:** www.uach.cl/direccion/investigacion/uso/animales.htm (consultado en julio de 2012)

⁷ Easy-Breed®, Pfizer, Nueva Zelanda

⁸ Ciclase DL, Syntex, Argentina

⁹ Crayonheat®, USA

¹⁰ Macavit, Perú

maca cruda¹¹ preparada con la misma cantidad de agua y el grupo control (GC, n=5) las cuales recibieron 80 ml de agua. La mezcla fue administrada a todos los grupos vía oral con ayuda de jeringas plásticas de 60 ml de volumen, 2 veces al día, a las 8:00 hrs de la mañana y 18:00 hrs de la tarde, durante 4 días. Para identificar correctamente los grupos, se les pintó en la parte superior de la cabeza con pintura spray especial para marcaje de ganado, color verde a aquellas del grupo MP, color azul al grupo MC y no se pintaron a las controles.



Figura 1. Esquematzación del diseño experimental

4.3 DETERMINACIÓN DEL ESTATUS OVÁRICO

La respuesta ovárica de todas las ovejas fue monitoreada diariamente a partir del día 1, correspondiente al inicio del aporte con maca, hasta el día 10, mediante ultrasonografía transrectal. Todas las mañanas que duró el estudio, los animales eran liberados del galpón y guiados hacia la manga en donde se les extrajo una muestra sanguínea de la vena yugular y se les proporcionaba la dieta correspondiente durante los días del aporte. Posteriormente, se ingresaban a otro galpón en donde las hembras se colocaban en una camilla metálica en decúbito dorsal, especial para la transferencia de embriones en la especie. Cada borde de la camilla poseía una extensión en forma de gancho cubierta por material blando, para una mejor sujeción del animal sin provocarle daño y así cumplir con el bienestar animal. Para observar el ovario junto con sus estructuras, se utilizó un ecógrafo portátil¹² con un transductor lineal prostático de 7,5 Mhz. Antes de ingresar el transductor al recto del animal, se lubricó con un gel de contacto hidrosoluble de manera tal que no lastime la mucosa rectal del animal y facilite el ingreso de la sonda, para mejorar la transmisión de las ondas emitidas por la misma, con el fin de facilitar la visualización de las estructuras. Cuando fue necesario, se removió manualmente el material fecal de la ampolla rectal para posteriormente ingresar cuidadosamente el transductor vía rectal, orientándolo perpendicular a la pared abdominal. Una vez ingresada la sonda, se ubicó la vejiga urinaria sirviendo este como punto de referencia, e inmediatamente craneal a ella se ubican los cuernos uterinos, luego se hacía un barrido rotando el transductor 90° lateralmente a favor de las manecillas del reloj y 180° contra las manecillas del reloj, sin dejar de tener contacto con los cuernos uterinos. Una vez que se logró visualizar en el monitor los ovarios, se procedió a elaborar un mapa ovárico individual

¹¹Maca cruda, Perú

¹²Aloka SSD-500®; Aloka Ltda, Japón

de cada ovario/oveja por día. Esto se realizaba durante la administración del aporte glucogénico por la mañana. El seguimiento se realizaba a todas las estructuras presentes en el ovario (folículos ≥ 2 mm de diámetro y cuerpo lúteo).

Las mediciones del tamaño de las estructuras ováricas se realizaron congelando la imagen ubicando los calibradores (calipers) electrónicos del ecógrafo en un extremo de la pared folicular, en el extremo del estroma ovárico, en el caso de los folículos. Para la medición de los cuerpos lúteos fue necesario congelar la imagen para determinar su mayor diámetro. Luego los folículos fueron agrupados según tamaño en cuatro categorías: folículos totales (todos aquellos folículos con ≥ 2 mm de diámetro), pequeños (2-3 mm de diámetro), ≥ 4 mm de diámetro y grandes (≥ 6 mm de diámetro).

El análisis del folículo ovulatorio de mayor tamaño (FDL-1) fue realizado retrospectivamente observando el mapa ovárico y con eso se pudo determinar el tamaño de este al inicio de la fase folicular subsecuente a la retirada de las esponjas, además de la tasa de crecimiento diario que mostró en ese periodo de tiempo. De la misma manera se realizó el seguimiento del segundo folículo ovulatorio en aquellas que ovularon 2 veces (FDL-2).

Para evaluar los efectos de la suplementación ultra-corta sobre la tasa ovulatoria 7 días después del retiro del dispositivo junto con la aplicación de prostaglandina, se realizó un examen ultrasonográfico para determinar el número de cuerpos lúteos presentes en el ovario.

4.4 DETERMINACIÓN DE LA GLUCOSA PLASMÁTICA

Para estudiar el efecto de maca sobre el estatus metabólico, se determinó el efecto de los distintos tratamientos sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa a través de la extracción sanguínea por punción en la vena yugular realizada dos veces diarias (mañana y tarde) desde el día 1 hasta el día 4 utilizando jeringas desechables de 5 ml y aguja hipodérmica desechable de 18G X 1 ½. Luego las muestras sanguíneas fueron puestas dentro de tubos heparinizados y centrifugadas durante 15 minutos a 15.000 rpm a una temperatura de 4°C. Posteriormente se extrajo el plasma y se almacenó a -20°C hasta su posterior análisis.

Las concentraciones plasmáticas de glucosa fueron evaluadas utilizando el sistema enzimático por fotometría¹³ en el cual se utilizó un espectrofotómetro¹⁴ a una longitud de onda de 505 nm. Para realizar el análisis, primero se descongelaron las muestras durante 5 minutos a temperatura ambiente, luego fueron centrifugadas a 14.000 rpm por 15 minutos, se incubaron a baño maría¹⁵ durante 15 minutos para finalmente leer el resultado en el espectrofotómetro. Para analizar los resultados obtenidos se generó una curva estándar para interpolar los valores de las muestras problemas.

¹³GLUCOSA PAP® Liquiform, Labtest, España

¹⁴SHIMADZU modelo UVMINI-1240

¹⁵LAB. COMPANION CW-20G®

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los efectos del tratamiento sobre las variables estudiadas fueron primeros sometidos a una prueba de normalidad con la finalidad de establecer el tipo de análisis de comparación que se utilizaría. Los datos resultaron ser no parametricos aplicándose entonces análisis de comparación de medias de ambos grupos a través de la prueba “t” de Student para muestras independientes y en el caso de la tasa ovulatoria fue evaluada usando el test de Mann-Whitney. El programa estadístico utilizado para ello fue IBM SPSS Statistics versión 19. Los resultados fueron entregados en promedios, DE y EE y la significación estadística utilizada fue $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 EFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN FOCALIZADA SOBRE LA TASA OVULATORIA

La tasa ovulatoria promedio fue modificada significativamente en el grupo MC respecto al GC ($2,0 \pm 0,0$ MC; $1,6 \pm 0,5$ MP y $1,4 \pm 0,5$ GC; $P < 0,05$; Figura 2), sin mostrar diferencias con MP. Con respecto a la distribución del tipo de ovulaciones presentes, las ovejas tratadas con MC presentaron un 100% de ovulaciones dobles, mientras que el grupo MP obtuvieron un 67% de ovulaciones dobles y 33% simples, en cambio el GC, fue el grupo con menor porcentaje de ovulaciones dobles, alcanzando solo un 40% de ellos y 60% de ovulaciones simples. No se observó en ninguno de los grupos ovulaciones triples.

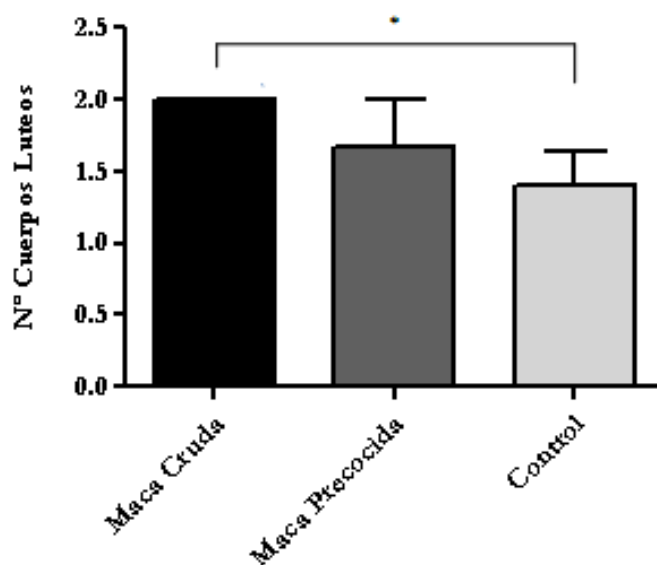


Figura 2. Tasa ovulatoria (n°CL/oveja) en ovejas que recibieron alimentación focalizada por 4 días con maca cruda y maca precocida y ovejas control. Diferencias significativas entre los valores son indicadas con *, $P < 0,05$.

5.2 EFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN FOCALIZADA SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR

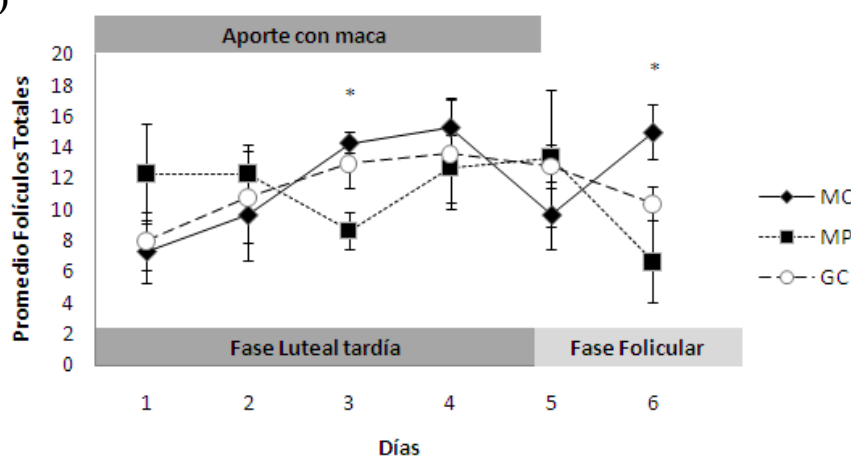
Durante el tratamiento, el número de FT (folículos totales) no fue diferente entre los grupos al inicio del estudio, sin embargo, el día 3 de la AF, estos aumentaron en el grupo MC con respecto al grupo MP ($P<0,05$) mostrando un aumento del 65% más de folículos totales, a diferencia del GC que sólo presentó un 5% más de folículos presentes en ese día. En el día 4 esta diferencia desaparece, como se puede observar en la figura 3A.

En cuanto al número promedio de folículos pequeños (2-3 mm de diámetro), se observa que no hubo diferencias entre los distintos tratamientos durante los 4 días en que se dieron los respectivos tratamientos, tal como lo muestra la figura 3B.

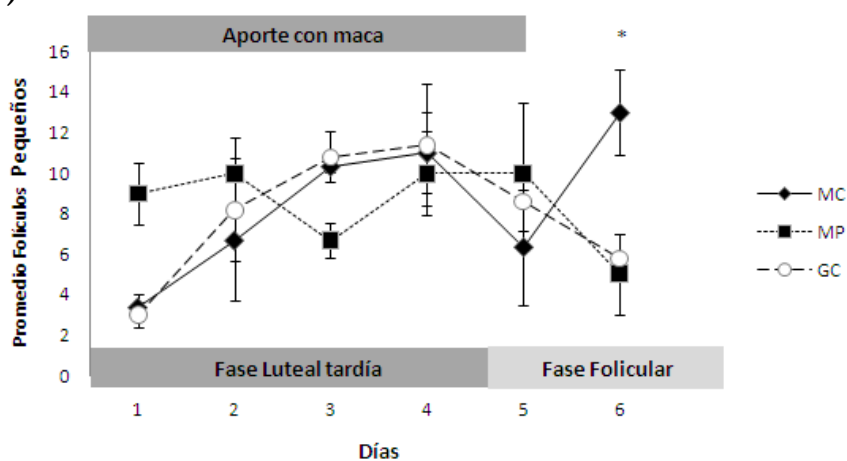
Con respecto al número promedio de folículos ≥ 4 mm, no se observaron diferencias entre los tres grupos al inicio del experimento ($4,0\pm 2,6$ MC; $3,3\pm 3,0$ MP y $0,0\pm 0,0$ GC; $P>0,05$; Figura 3C). Sin embargo, al tercer día de suplementación se observó un promedio de estos folículos significativamente mayor en el grupo de animales que recibió el aporte con maca cruda ($4,0\pm 1,0$ MC; $2,0\pm 1,0$ MP y $2,2\pm 0,8$ GC; $P<0,05$) manteniéndose esto hasta el cuarto día. En cuanto a los folículos grandes (≥ 6 mm de diámetro), se pudo observar un incremento en el promedio de estos folículos en el grupo MC.

Posterior al retiro del dispositivo e iniciando la fase folicular, se observó que los FT en el grupo MC fueron mayores respecto al grupo MP, donde el promedio de estos folículos fue significativamente mayor ($13,0\pm 3,6$ MC; $5,0\pm 3,4$ MP y $5,8\pm 2,5$ GC, $P<0,05$), ocurriendo algo similar con los folículos pequeños donde las ovejas suplementadas con maca cruda presentan mayor número que el GC y MP, siendo una diferencia significativa respecto a MP ($P<0,05$). Por otra parte se observó que los folículos ≥ 4 mm durante la fase folicular aumentaron en el GC significativamente con respecto a los grupos suplementados con maca.

A)



B)



C)

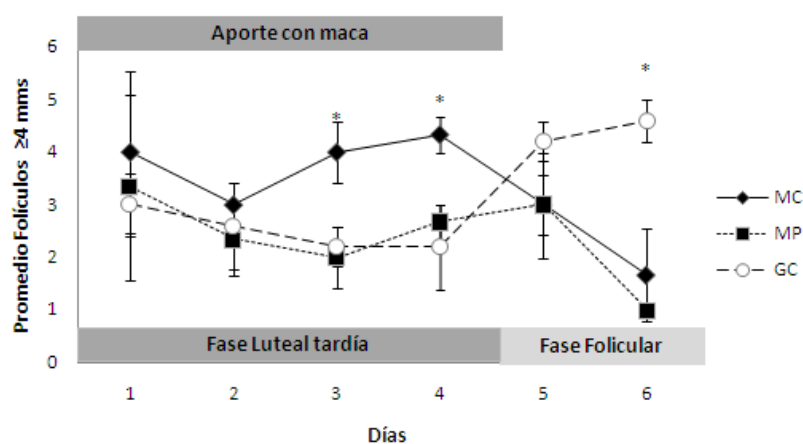


Figura 3. Número promedio ($X \pm EE$) de folículos en ovejas que recibieron alimentación focalizada durante 4 días y en ovejas control. Folículos (A) totales, ≥ 2 mm de diámetro, (B) pequeños, de 2-3 mm de diámetro y (C) ≥ 4 mm de diámetro. Diferencias significativas entre los valores son indicadas con, * $P < 0,05$.

5.3 EFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN FOCALIZADA SOBRE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA PLASMÁTICA DURANTE EL APORTE CON MACA

Las concentraciones plasmáticas de glucosa no muestran modificaciones significativas entre los grupos tratados con las diferentes presentaciones de maca cruda o precocida a lo largo del estudio, excepto el día 4, donde la suplementación con maca cruda muestra un aumento significativo de la glucosa plasmática ($P < 0,05$) con respecto a las ovejas del GC, alcanzando $4,0 \pm 0,6$ mmol/L de glucosa, siendo esta relación de un 31% más respecto al GC y de un 28% más que MP, como se observa en la figura 2.

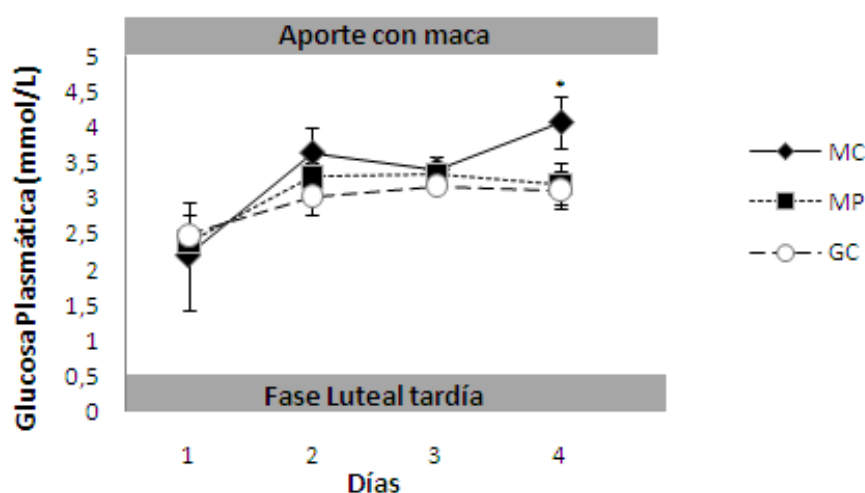


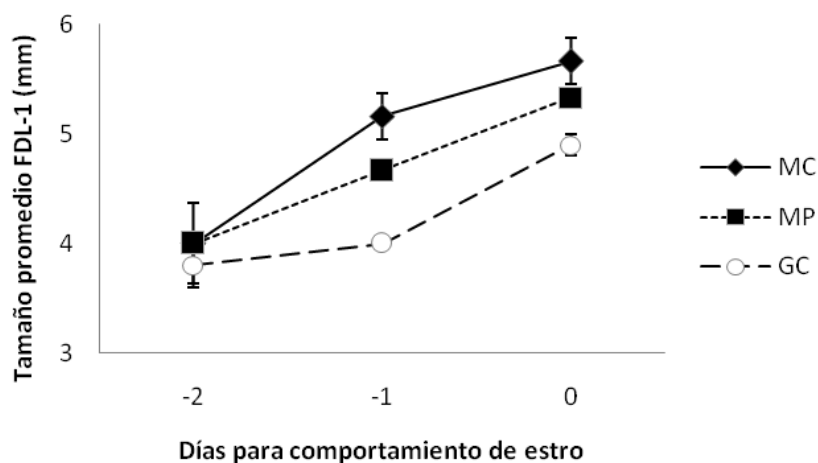
Figura 4. Concentraciones de glucosa plasmática ($X \pm EE$) en ovejas que recibieron alimentación focalizada durante 4 días con maca cruda (MC) y precocida (MP) en la fase luteal tardía y ovejas control. Diferencias significativas entre los valores son indicadas con *, $P < 0,05$.

5.4 EFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN FOCALIZADA SOBRE LOS FOLICULOS OVULATORIOS

El análisis del crecimiento individual del folículo ovulatorio de mayor tamaño (FDL-1), mostró que al retiro del dispositivo (día 4) no hubo diferencias entre los tamaños de este en los distintos tratamientos, presentando todos 4 mm de diámetro promedio aproximadamente, sin embargo de los 17 folículos ovulatorios monitoreados, el grupo MC presenta 6/6 folículos de tamaño medio al inicio de la fase folicular, a diferencia de otros grupos que mostraron 4/6 y 2/5 en el grupo MP y control respectivamente. Por su parte, al analizar las ovulaciones dobles durante la alimentación focalizada, se puede apreciar que aquel folículo ovulado de menor tamaño (FDL-2) no presentó diferencias significativas de tamaño al retiro del dispositivo entre tratamientos, siendo este de 3,3 mm de diámetro promedio ($3,3 \pm 0,5$ MC; $3,5 \pm 0,5$ MP y $3,0 \pm 0,0$ GC; $P > 0,05$), donde el de GC es el que muestra el de menor diámetro.

Una vez identificado retrospectivamente a FDL-1, se puede apreciar que presentaba tasas de crecimiento similares desde el retiro del dispositivo intravaginal hasta el momento del estro ($0,5 \pm 0,3$ MC; $0,4 \pm 0,4$ MP y $0,3 \pm 0,1$ mm de diámetro GC; $P > 0,05$, Figura 5A), aunque nuevamente se puede apreciar una mayor tasa de crecimiento en el grupo MC. Lo mismo ocurre con FDL-2 representado en la figura 5B.

A)



B)

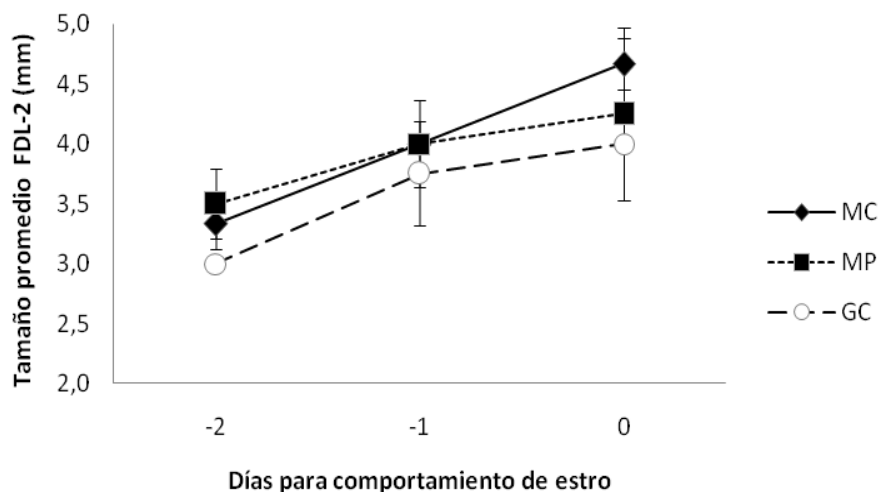


Figura 5. Diámetro promedio ($X \pm EE$) de los folículos ovulatorios durante la fase folicular sincronizada en ovejas que recibieron alimentación focalizada durante 4 días con maca cruda (MC) y maca precocida (MP) y ovejas control (GC). (A) FDL-1 y (B) FDL-2. Diferencias significativas entre los valores son indicadas con *, $P < 0,05$.

6. DISCUSIÓN

El estudio evaluó los posibles efectos de maca sobre el estatus metabólico, la dinámica folicular y la tasa ovulatoria en rumiantes, usando como modelo la especie ovina, los experimentos fueron realizados al final del anestro y los celos fueron sincronizados con un protocolo corto de progesterona, para poder entregar el suplemento al final de la fase luteal, cuando se genera la onda ovulatoria en la oveja (Viñoles 2003), evidenciándose efectos positivos sobre estas variables.

Con respecto a la tasa ovulatoria, las ovejas suplementadas con maca cruda presentaron un aumento significativo de este parámetro, a diferencia de los animales tratados con maca precocida (figura 2) y con las control, obteniéndose un 43% más de ovulaciones dobles respecto a estas últimas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Letelier y col (2008^b) en un trabajo con alimentación focalizada, donde alcanzó un 46% más de ovulaciones dobles y con Avilez (2012), quien también alcanzó un 44% más de ovulaciones dobles, sin embargo, los resultados no son constantes entre autores (Viñoles y col 2005, Baumert 2011) las cuales no logran aumentar la tasa ovulatoria, aunque alcanzan alrededor de un 18% más de ovulaciones dobles. Pareciera que la raza ejerce un efecto importante en el resultado a la suplementación, ya que Viñoles y col (2005) y Baumert (2011) utilizaron razas menos prolíficas. En el caso de Baumert (2011), la raza utilizada fue Romney Marsh, la cual alcanza 1,1 corderos por oveja parida, en cambio en el estudio de Letelier y col (2008^b) la raza utilizada fue Manchega, la cual es más prolífica, al igual que la raza Austral en el caso del actual trabajo.

Pocos son los estudios relacionados con maca y su efecto sobre la tasa ovulatoria, sin embargo, en el actual estudio se logra demostrar que este suplemento provocaría un estímulo positivo sobre este parámetro, al igual que lo demostrado por Chacón (2012)¹⁶, quien al administrar polvo de la raíz de maca en ratas prepuberales, obtuvo un mayor número de crías. Existen otros trabajos mostrando el efecto positivo de maca sobre la reproducción, donde la suplementación en perras en anestro logra que todas presenten celo y queden preñadas (Madrid y Chacón 2012)¹⁷. Según Valentová y Ulrichová (2003), el mecanismo por el cual *Lepidium Meyenii* Walp incrementaría la tasa ovulatoria, aún no es clara, pero gracias a los resultados descritos, se postula que los alcaloides de la maca, esteroides, glucosinolatos, isotiocianatos y macamidas probablemente son los responsables de esta aptitud estimulante, actuando como un potenciador de la fertilidad, ya que estos actuarían como un excelente nutriente y activador del eje hipotálamo- hipófisis, por lo que las concentraciones de hormonas GnRH, FSH y LH se encontrarían mayores a lo normal logrando que ovulen un mayor número de ovocitos y disminuyendo la atresia de estos durante la fase folicular, lo que se traduciría en un mayor número de folículos de Graaf maduros.

La dinámica folicular generada durante la entrega de maca cruda demuestra un aumento significativo de posibles folículos con capacidad de ovular (4-5 mm) como lo muestra la figura 4C. Resultados similares a este estudio fueron reportados por Letelier y col 2008^a, quienes al

¹⁶ Comunicación personal Gloria Chacón. Abril 2012. Autora de “Acción del extracto alcaloideo de la maca en ratas”.

¹⁷ Comunicación personal Gloria Chacón. Abril 2012. Autora de “Acción fertilizante de la maca como alimento en perras sin celo”.

suplementar con maíz roleado durante 5 días, observaron un incremento de un 60% de los folículos ≥ 4 mm, resultado bastante cercano a lo encontrado en el presente estudio, donde el incremento fue de un 50%. De igual manera, Baumert (2011) y Avilez (2012) observaron este aumento de folículos de esa categoría, con lo cual es probable que sea en esta categoría donde los folículos son rescatados de la atresia (Viñoles 2003).

Los efectos observados en este estudio podrían ser explicados en base a que maca es una crucífera que contiene altas concentraciones de L-arginina, la cual al ser metabolizada por la enzima óxido nítrico sintasa, genera óxido nítrico (ON), molécula de señalización y radical libre, ubicuitario y que tiene un papel crucial en varios sistemas fisiológicos, especialmente en la reproducción, ya que el ON se ha implicado en espermatogénesis, comportamiento sexual, foliculogénesis, ovulación y desarrollo temprano como la activación y maduración de ovocitos, junto con el retraso del envejecimiento de los mismos (Goud y col 2005). Además es considerado un transmisor que interviene en la activación del glutamato a nivel central, la que a su vez, se encuentra en varios núcleos hipotalámicos liberadores de GnRH, produciendo una estimulación de la liberación de GnRH (Hernández 2009). Se ha investigado que el ON puede actuar también directamente como un transmisor en el hipotálamo, hipófisis y gónadas teniendo una acción estimuladora en las gonadotrofinas y en conclusión sobre LH y FSH (Hernández 2009). También tiene efecto directo sobre el ovario (Scaramuzzi y col 2006, Hernández 2009), especialmente durante la fase de luteólisis, ya que el ON estimula la síntesis de PGF2a, mientras disminuye la secreción de progesterona actuando posiblemente como luteolítico (Hernández 2009). Esto último, junto con la capacidad de prevenir la atresia y apoptosis de folículos en desarrollo (Goud y col 2005) podría explicar la mayor cantidad de folículos ≥ 4 mm de diámetro con el tratamiento de maca cruda, durante la fase luteal tardía, ya que al hacer regresar antes el cuerpo lúteo, generaría una onda más temprana y podría colaborar en el rescate de esta categoría de folículos, de tal forma, tendrían mayor tiempo para el crecimiento respecto a los folículos del grupo control como se aprecia en la figura 4C.

Al analizar la dinámica folicular durante la fase folicular sincronizada del presente estudio, se observa que el número de folículos con posibilidad de ovular fue menor a lo reportado por Letelier y col (2008^b) y Avilez (2012). Los resultados del experimento pueden deberse a que el folículo de mayor tamaño se desvía más temprano que en los otros estudios, en parte por lo explicado anteriormente. De igual manera, el número de folículos totales en esta etapa tuvo un incremento significativo, lo cual tampoco concuerda con Letelier y col (2008^b) y que sostiene una posible teoría de que ese pool de folículos alcanza la dominancia y por lo mismo sale de ella más temprano que cuando se utilizan otras fuentes glucogénicas.

En cuanto al análisis del tamaño del folículo ovulatorio al momento del retiro de la esponja, se observa que los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron similares a los resultados obtenidos por Avilez (2012), en donde FDL-1 tiene un mayor tamaño respecto a FDL-2, de igual manera el tamaño del folículo ovulatorio al momento de la presentación de celo, se observa que los resultados obtenidos en este estudio son parecidos a los reportados por Viñoles y col (2005) y Avilez (2012), alcanzando tamaños similares en los grupos. Al separar y analizar el crecimiento individual de FDL-1 y FDL-2, se observa que FDL-1 tiene una mayor tasa de crecimiento respecto a FDL-2 a diferencia de lo reportado por Letelier y col (2008^b), donde FDL-2 posee una mayor tasa de crecimiento.

La suplementación por 4 días con 20 g de maca cruda provocó en los animales un aumento de las concentraciones de glucosa plasmática sólo el último día del tratamiento, a diferencia de los que recibieron maca precocida y control (figura2).

El aumento de glucosa plasmática no fue similar a lo reportado por Letelier y col (2008^b) cuando aportaron una mezcla glucogénica por los mismos días, ya que en este y otros estudios, las concentraciones aumentan desde el primer día de suplementación, manteniéndose altas durante todo el tratamiento glucogénico (Viñoles y col 2005, Letelier y col 2008^{a,b}, Viñoles y col 2010, Baumert 2011, Avilez 2012). Puede ser que maca no logre generar tempranamente el balance energético positivo transitorio que se genera en otros estudios, por lo tanto, la posterior respuesta a las variables reproductivas no sean totalmente explicadas por la vía de la neoglucogenesis y que la vía que utilice sea debido a la composición química de maca por la presencia de glucosinolatos, isotiocianatos y macamidas (Valentová y Ulrichová 2003). Los glucosinolatos son un grupo de metabolitos secundarios, que principalmente se presentan en crucíferas y su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo (Ávalos y Pérez-Urria 2009), estos al ser degradados por la enzima mirosinasa, la cual se encuentra en forma natural en la propia planta, produce la hidrólisis del enlace glicosídico generando como producto de la reacción catabólica, glucosa, sulfato e isotiocianatos entre otros (Ramos y col 1998), por lo que este aumento de glucosa disponible podría ser una de las razones por la cual aumentó la glucosa plasmática en el presente estudio.

En otro ámbito, la diferencia observada en los resultados entre la maca cruda y precocida pueden estar relacionados a los distintos procesos que sufrieron las plantas para su transformación y conservación. Esparza (2010) pudo observar que existe una disminución en el contenido de glucosinolatos e isotiocianatos y un aumento de bencilamina, ácidos grasos y, sobre todo, macamidas, durante el proceso de secado tradicional, con lo cual existe una diferencia notable entre maca seca y maca fresca, en cuanto al contenido de estos compuestos y el proceso de secado tradicional es el responsable de esa diferencia. Sin embargo, no se han descrito estudios que confirmen estas diferencias entre maca cruda y precocida, por lo que sólo se puede suponer que la temperatura aplicada durante el tostado posiblemente provoque que la maca precocida pierda propiedades tales como la cantidad de proteínas, ya que al someterla a altas temperaturas puede ser que éstas se desnaturalicen siendo menor su efecto en la reproducción, tal y como se puede apreciar en este estudio.

6.1 CONCLUSIONES

Los antecedentes presentados en este estudio permiten concluir que:

- 1) La alimentación focalizada por cuatro días con maca cruda produce una modificación en los patrones foliculares ovulatorios, aumentando la tasa ovulatoria.
- 2) El proceso de secado y molienda (conservación) de maca afectaría la tasa ovulatoria y la foliculogénesis.
- 3) La alimentación focalizada con maca cruda provoca un aumento tardío de la concentración de la glucosa plasmática, a diferencia de otros sustratos utilizados en alimentación focalizada.

7. REFERENCIAS

- Alzamora L, E Alvarez, D Torres, H Solís, E Colona, J Quispe y M Chanco. 2007. Efecto de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón sobre la producción de óxido nítrico *in vitro*. *Rev peru biol* 13(3), 215–217.
- Ávalos A, E Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)* 2(3), 119-145.
- Avilez C. 2012. Efecto de leptina y ghrelina sobre la función ovárica en ovejas tratadas con una dieta glucogénica. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Baumert A. 2011. Efectos de la alimentación focalizada con una mezcla glucogénica sobre el estatus ovárico en ovejas. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Boggio J. 2007. Evaluación de la aptitud reproductiva potencial y funcionalidad del toro. Capacidad de Servicio. Instituto de reproducción animal, Universidad Austral de Chile. Pp:1
- Bustos-Obregón E, S Yucra, GF Gonzales. 2005. *Lepidium meyenii* (Maca) reduces spermatogenic damage induced by a single dose of malathion in mice. *Asian J Androl* 7, 71-76.
- Chacón G. 1997. La importancia de *Lepidium peruvianum* Chacón sp nov. maca en la alimentación del ser humano y animal 2000 años antes y después de Cristo y en el siglo XXI. *Servicios Gráficos Romero* 8(22), 62-71.
- Esparza E. 2010. Metodología para el análisis rápido de metabolitos secundarios bioactivos de Maca (*Lepidium meyenii*, Walpers). *PUCP* 24, 1-2.
- Flores J. 2004. Efecto en la tasa de crecimiento de Artemiasp. (Cepa Virrila) sustituyendo parcialmente la dieta algal con diferentes concentraciones de harina de “maca” (*Lepidium meyenii* Walp). *Tesis*, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Mayor Nacional de San Marcos, Perú.
- González JM. 2010. Evaluación de la expresión de Ccna1, Cyp17, StAR y Prm2 en la espermatogénesis de ratones Swiss Rockefeller tratados con *Lepidium meyenii* Walp (maca). *Tesis de Magister*, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Mayor Nacional de San Marcos, Perú.
- Goud A, P Goud, M Diamont, H Abu-Soud. 2005. Nitric oxide delays oocyte aging. *Biochemistry* 44, 11361-11368.
- Hernández J. 2009. L-Arginina y su relación con la tasa ovulatoria en ovejas. *Tesis de post grado*, Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, México.

- Letelier C, A Gonzalez-Bulnes, M Hervé, J Correa, R Pulido. 2008. Enhancement of ovulatory follicle development in maiden sheep by short-term supplementation with steam-flaked corn. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 222-227.
- Letelier C, F Mallo, T Encinas, JM Ros, A González-Bulnes. 2008. Glucogenic supply increases ovulation rate by modifying follicle recruitment and subsequent development of preovulatory follicles without effects on ghrelin secretion. *Reproduction* 136, 65-72.
- Oshima M, Y Gu, S Tsukada. 2003. Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on blood levels of Estradiol- 17B, progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. *J Vet Med Sci* 65(10), 1145–1146.
- Ramos G, P Frutos, FJ Giráldez, AR Mantecón. 1998. *Arch. Zootec* 47, 597-620.
- Scaramuzzi RJ, B Campbell, J Downing, N Kendall, M Khalid, M Muñoz-Gutiérrez, A Somchit. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction, Nutrition, Development* 46, 339-354.
- Stewart R, CM Oldham. 1986. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proc Aust Soc Anim Prod* 16, 367-370.
- Suárez S, R Oré, I Arnao, L Rojas, J Trabucco. 2009. Extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp (maca) y su papel como adaptógeno, en un modelo animal de resistencia física. *An Fac med* 70(3), 81-5.
- Teleni E, J Rowe, K Croker, P Murray, W King. 1989. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes II responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acids. *Reproduction, Fertility and Development* 1, 117-125.
- Valentová K, J Ulrichová. 2003. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*— prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 147(2), 119-30.
- Viñoles C. 2003. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. *Doctoral thesis*, Department of Clinical Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Viñoles C, M Forsberg, GB Martin, C Cajarville, J Repetto, A Meikle. 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129, 299-309.
- Viñoles C, B Paganoni, KMM Glover, JTB Milton, D Blache, MA Blackberry, GB Martin. 2010. The use of a ‘first-wave’ model to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction* 140, 865–874.

White RG, JA Roberts. 1927. Fertility and sex ratio in Welsh Mountain Sheep. *Welsh Journal Agric* 3, 170.

8. ANEXOS

ANEXO 1: Resumen aceptado en el 17° CONGRESO CHILENO DE MEDICINA VETERINARIA, Valdivia 2012.

Efecto de la suplementación focalizada con *Lepidium Meyenii* Walp (Maca) sobre el estatus ovárico en ovejas*

Arroyo, C.¹, Avilez C¹, Goicochea¹, Letelier C¹

¹Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Email: uach.claudialetelier@gmail.com

Introducción: La nutrición es uno de los factores más importantes que influyen sobre el éxito reproductivo y se ha demostrado que la alimentación focalizada producto de la suplementación estratégica con suplementos altamente energéticos durante unos pocos días (4-6 días) previos al encaste, pueden generar un aumento sobre la foliculogénesis y la tasa ovulatoria de las ovejas. La maca (*Lepidium Meyenii* Walp), tubérculo cuyos principales centros de producción se encuentran en Perú, se caracteriza por ser adaptogénica, afrodisiaca y altamente energética, por lo que es utilizada para mejorar el rendimiento en humanos y se ha estudiado su efecto sobre la fisiología reproductiva en animales machos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la suplementación focalizada con maca en dos presentaciones, cruda y pre-cocida, sobre el estatus ovárico en ovejas. **Material y Métodos:** En el estudio experimental se utilizaron 17 ovejas adultas que fueron sincronizadas con un protocolo corto de progesterona por 7 días (día -2) y prostaglandina al día del retiro del dispositivo (día 4). Las ovejas fueron asignadas al azar en tres grupos: maca cruda (MC, n=6), que recibió una mezcla de 20g de maca cruda disuelta en 60ml de agua; maca pre-cocida (MP, n=6) que recibió 20g de maca precocida disuelta en 60ml de agua y grupo control (GC, n=5) que recibió 80ml de agua. Los tratamientos se administraron vía oral dos veces al día desde el día 1 hasta el día 4. Las estructuras ováricas fueron monitoreadas mediante ultrasonografía transrectal (Aloka SSD-500, con sonda prostática de 7,5 Mhz) desde el inicio del tratamiento (día 1) hasta el día 10 para determinar la tasa ovulatoria (N°CL/oveja). **Resultados y Discusión:** Las ovejas suplementadas con maca cruda incrementaron el n° de folículos totales (≥ 2 mm) durante el tercer día del aporte energético con respecto al grupo MP ($14,3 \pm 1,2$ MC; $8,7 \pm 2,1$ MP; $P < 0,05$) e igual que el GC ($13 \pm 3,5$), ocurriendo algo similar con los folículos medianos (4-5 mm), donde las ovejas suplementadas con maca cruda presentan mayor número que el GC y MP ($4,0 \pm 1,0$ MC; $2,0 \pm 1,0$ MP y $2,2 \pm 0,8$ GC, $P < 0,05$). El último día de suplementación (día 4) presenta esta misma diferencia ($4,3 \pm 0,6$ MC; $2,7 \pm 0,6$ MP y $2,2 \pm 1,8$ GC; $P < 0,05$). La tasa ovulatoria promedio mostró diferencias significativas, siendo mayor en el grupo suplementado con maca cruda, no observándose diferencias entre los otros dos grupos ($2,0 \pm 0,0$ MC; $1,7 \pm 0,5$ MP y $1,4 \pm 0,5$ GC; $P < 0,05$). Estas diferencias pueden deberse a la presencia de sustancias que en el caso del procesamiento de la maca pre-cocida se perderían y los cuales, serían los responsables de esta respuesta observada en MC, actuando como un potenciador de la fertilidad, e influenciando el balance hormonal y energético. **Conclusiones:** La suplementación focalizada por cuatro días con maca cruda produce modificación en los patrones foliculares, mejorando la tasa ovulatoria, y El proceso de cocción de la maca afectaría algún componente o valor nutricional que explicaría la falta de respuesta cuando es usada como maca precocida.

ANEXO 2. Poster expuesto en el 17° CONGRESO CHILENO DE MEDICINA VETERINARIA, Valdivia 2012.



9. AGRADECIMIENTOS

Quisiera partir agradeciendo a mi madre Marianne, por todos los consejos y cariño entregado, espero ser un fruto positivo de tu largo trabajo como madre y te puedas sentir orgullosa de lo que cosechaste, ya que gran parte de lo que soy es gracias a ti, estoy muy orgullosa de ti. También agradecer a mi padre Gonzalo, por esforzarte siempre para darme la mejor educación y así poder optar a mi vocación; la Medicina Veterinaria. Nunca olvidaré tus sabias palabras: “La educación, hija, es la única herencia que te puedo dejar”.

A mis hermanos Alberto, Alejandro y Antonio por ser una fuente de inspiración para terminar pronto mi carrera. Gracias por los buenos momentos y a pesar de tener varios años de diferencia, he aprendido con ustedes que los hermanos son un regalo único en la vida, y espero poder servirles de ejemplo algún día de que si uno se esfuerza y es apasionado en lo que hace, todo es posible a pesar de las adversidades de la vida.

A Luis por el infinito amor que me has entregado en estos años juntos, realmente eres el mejor compañero que la vida me pudo haber entregado. Gracias por siempre incentivarme a ser mejor persona y a terminar pronto mi tesis. Debo reconocer que contigo he pasado los mejores años de mi vida, te amo mucho.

A la familia Norambuena Suazo por tratarme como una hija y hermana más, gracias por todos los consejos, la buena disposición y por siempre ayudarme en lo que necesite, los quiero mucho.

A Ariela Subiabre, quien siempre me ha dejado las puertas abiertas de su casa y sin su ayuda, me hubiese retrasado más de lo previsto en mi tesis.

A mis amigos que me acompañaron durante mi paso por la Universidad, gracias por todas las aventuras vividas, desde vuelcos en autos hasta historias de fantasmas, reuniones religiosas (CVX), etc. Marcaron mi vida universitaria a tal punto que separarme de ustedes se me ha hecho muy difícil, les deseo lo mejor y me llevo los mejores recuerdos gracias a ustedes.

Mención especial a mi gran amiga y hermana de comunidad, Carolina Opitz. Sin duda alguna fuiste un pilar fundamental en mi formación profesional y siempre estuviste ahí en cualquier momento que yo te necesitara, lo cual valoro muchísimo. Espero haberte servido de apoyo en nuestro camino juntas, tanto como tú lo fuiste para mí.

A mi gran amigo y hermano de años, Rodrigo Hofmann, porque a pesar de la distancia, nuestra amistad siempre ha sido igual. Gracias por ser tan buen amigo y siempre alentarme y escucharme cuando yo lo necesité.

A mi querido padrino, Renán Vásquez, quien siempre se preocupó y confió en mí, eres el mejor padrino del mundo.

Al grupo FIC que si bien compartimos terminando la etapa universitaria, debo decir que fue un agrado conocerlos y trabajar con ustedes en pos de la comunidad. La confianza y amistad generada no lo quitará nada.

Al grupo de trabajo del laboratorio de reproducción; Carolina Avilez, Angélica Baumert, Iván Cid, Francois Codjambassis, María José Contreras, Angela Jiménez, Sebastián Motrán, Mario Oliva y César Ulloa, por todas las risas y chistes en el día, ayudarme a terminar mi tesis y siempre darme ánimo para seguir adelante. Somos como una mini familia dentro del laboratorio y espero que esa esencia se siga manteniendo a lo largo del tiempo, son los mejores.

De manera muy especial agradecer a mi profesora patrocinante, Claudia Letelier, por la infinita paciencia que tuvo conmigo durante el desarrollo de mi tesis, por entregarme conocimientos tanto teóricos como prácticos, por incluirme dentro de su equipo de trabajo permitiéndome trabajar dentro del área ovina; mi gran pasión y vocación. De verdad muchas gracias por la confianza que me tuvo y las oportunidades de aprender que me dio. A todos ustedes los extrañaré muchísimo.

Por último, quiero agradecer a todos los profesores que hicieron esto posible, entregándome las herramientas necesarias para mi futuro laboral, en especial a Pamela Muñoz por ser siempre generosa conmigo.

A todos ustedes muchas gracias de corazón y les deseo lo mejor en el futuro y que Dios los bendiga.

