

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Efecto del flushing energético sobre la población folicular, el número de cuerpos lúteos y calidad ovocitaria en cobayas primerizas

Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Médico Veterinario y
Zootecnista

Autores:

Erika Belén Lema Zhañay

María del Cisne Tenecela Pintado

Director:

Cornelio Alejandro Rosales Jaramillo

ORCID:  0000-0003-2766-7027

Cuenca-Ecuador

2024-01-19

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del flushing energético administrado a cobayas primerizas sobre la población folicular, número de cuerpos lúteos y calidad ovocitaria. Se utilizaron 64 cobayas primerizas de la línea Perú que fueron distribuidos aleatoriamente en 4 tratamientos dietéticos con diferentes niveles de energía, T0 (2400 Kcal/kg de MS), T1 (2600 kcal/kg de MS), T2 (2800 kcal/kg de MS) y T3 (3000 kcal/kg de MS). Las cobayas fueron alimentadas durante 11 días con mezcla forrajera de trébol rojo más rye-grass y sobrealimento de harina de maíz, afrecho de trigo y melaza. Todos los animales fueron sometidos a sincronización de celo mediante la aplicación de PGF2 α . Al finalizar el experimento, se sacrificaron a las cobayas y se extrajeron los ovarios. Los COC's fueron recuperados mediante el método de slicing y categorizados en tres tipos y para el conteo de folículos y cuerpos lúteos se realizaron cortes histológicos. No se encontraron diferencias significativas en el número total de folículos, clasificación folicular ni en el número de cuerpos lúteos. Sin embargo, el número total de ovocitos recuperados, la cantidad de ovocitos de categoría A y B fueron ($p < 0,05$) significativamente mayor en las cobayas del T3 (222 ovocitos), a diferencia de los demás tratamientos. Además, se observó un incremento en el porcentaje de ovocitos aptos en el T3. En conclusión, aumentar el nivel de energía en la dieta, no influyó sobre la población folicular ni en el número de cuerpos lúteos, pero sí sobre el número y calidad de ovocitos.

Palabras clave: flushing energético, cuy, folículo, ovario, ovocito

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of energy flushing administered in primiparous guinea pigs on the follicular population, number of corpora lutea and oocyte quality. Sixty-four primiparous guinea pigs from the Peru line were used and were randomly distributed in 4 dietary treatments with different energy levels, T0 (2400 Kcal/kg of DM), T1 (2600 kcal/kg of DM), T2 (2800 kcal/kg of DM) and T3 (3000 kcal/kg DM). The guinea pigs were fed for 11 days with a forage mixture of red clover plus rye-grass and supplemental feed of corn flour, wheat bran and molasses. All animals were subjected to estrous synchronization by applying PGF2 α . At the end of the experiment, the guinea pigs were sacrificed and the ovaries were removed. The COCs were recovered using the slicing method and categorized into three types and histological sections were made to count follicles and corpora lutea. No significant differences were found in the total number of follicles, follicular classification or in the number of corpora lutea. However, the total number of oocytes recovered, the number of category A and B oocytes were ($p < 0.05$) significantly higher in the T3 guinea pigs (222 oocytes), unlike the other treatments. Furthermore, an increase in the percentage of suitable oocytes was observed in T3. In conclusion, increasing the energy level in the diet did not influence the follicular population or the number of corpora lutea, but it did influence the number and quality of oocytes.

Keywords: energetic flushing, guinea pig, follicle, ovary, oocyte

Índice de contenido

Introducción	12
2. Objetivos	14
2.1. Objetivo general	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. Revisión de literatura	15
3.1. Generalidades.....	15
3.1.1. Cuy (<i>Cavia porcellus</i>)	15
3.2. Manejo reproductivo del cuy	15
3.2.1. Pubertad.....	16
3.2.3. Ciclo estral.....	16
3.2.4. Ovulación.....	17
3.3 Alimentación del cuy	17
3.3.1 Forraje en la alimentación del cuy	18
3.3.2 Concentrado en la alimentación del cuy	18
3.4 Requerimientos nutricionales del cuy	18
3.5 Nutrición y reproducción.....	19
3.5.1 Efectos nutricionales.....	20
3.5.2 Nutrientes relacionados con la reproducción	22
3.6 Flushing	24
3.6.1 Efecto fisiológico en la reproducción.....	24
3.6.2 Beneficios del uso del flushing en diferentes especies	25
3.6.3 Inconvenientes del uso del flushing	26
4. Materiales y métodos	27
4.1. Materiales	27
4.1.1 Materiales físicos.....	27
4.1.2 Materiales químicos.....	28
4.1.3. Materiales biológicos	28
4.2. Métodos	28
4.2.1 Localización y duración del experimento	28
4.2.2 Unidades experimentales	28

4.2.3. Tratamientos y diseño experimental	28
4.2.4. Bioseguridad.....	29
4.2.5. Desarrollo experimental.....	29
4.2.6. Metodología de evaluación	30
4.2.7. Análisis estadístico	33
5. Resultados y discusión	34
5.1 Número y clasificación de folículos	34
5.2 Número de cuerpos lúteos	35
5.3 Recuperación de ovocitos	36
5.4 Clasificación de COC's	37
Conclusiones	39
Recomendaciones	40
Referencias	41
Anexos	53

Índice de figuras

Figura 1: Corte histológico de ovario de cobaya. A: Folículo primordial (flecha amarilla), folículo primario (flecha negra). B: Folículo secundario (flecha roja). C: folículos antrales, pequeño (flecha azul), mediano (flecha blanca), grande (flecha verde). 32

Figura 2: Clasificación de ovocitos de cobaya (A, B, C). Ovocitos tipo A con cinco o más capas de células del cúmulo (A). Ovocitos tipo B con menos de cinco capas de células del cúmulo (B). Ovocitos tipo C con pocas o ninguna capa de células del cúmulo u ovocitos desnudos (C). 33

Índice de tablas

Tabla 1: Concentración recomendada de nutrientes en dietas para cuyes de acuerdo a la etapa de vida.	18
Tabla 2: Criterios de clasificación folicular y reconocimiento del cuerpo lúteo.	21
Tabla 3: Clasificación de COC´s según su morfología.	22
Tabla 4: Dieta basal para el período de adaptación y raciones ajustadas del sobrealimento para el período experimental.	29
Tabla 5: Promedio y error estándar por tipo de folículos ováricos en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.	35
Tabla 6: Promedio y error estándar del número de cuerpos lúteos en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.	36
Tabla 7: Promedio y error estándar de ovocitos totales recuperados en ovarios de cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía (flushing energético).	37
Tabla 8: Promedio y error estándar de ovocitos de acuerdo a la clasificación (A, B y C) en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.	37

Índice de Anexos

Anexo 1: Instalación del galpón	48
Anexo 2: Forraje trébol rojo y rye-grass	48
Anexo 3: Medición de la cantidad del concentrado	48
Anexo 4: Pesaje de la cantidad de forraje	49
Anexo 5: Alimentación de las cobayas	49
Anexo 6: Limpieza y desinfección de las pozas	49
Anexo 7: Muestras de ovarios para histología	50
Anexo 8: Ovarios recolectados en cajas petri mantenidas a una temperatura de 38°C	50
Anexo 9: Método de slicing	50
Anexo 10: Ovocitos de categoría A y B	51
Anexo 11: Ovocitos de categoría C	51
Anexo 12: Cortes histológicos de los ovarios	51
Anexo 13: Folículos antrales grandes	52
Anexo 14: Folículos antrales medianos y pequeños	52
Anexo 15: Folículos secundarios y primarios	52
Anexo 16: Folículos primordiales	53
Anexo 17: Corte histológico de cuerpos lúteos	53

Agradecimientos

Primeramente, agradezco a Dios por la sabiduría que he recibido para culminar mi carrera universitaria, luego a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca por la formación académica recibida, a sus docentes; de manera especial a mi director de tesis Dr. Cornelio Rosales quién dedicó parte de su tiempo para guiarme y culminar mi investigación. Gracias a todos mis compañeros y amigos de la facultad por haber compartido experiencias gratas durante todo este tiempo de aprendizaje, en especial a mi compañera de tesis quien con su apoyo y esfuerzo hemos logrado la ejecución de esta tesis y formar una hermosa amistad.

Erika Belén Lema

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por haberme dado la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida, terminar mi carrera universitaria. También agradezco a una persona muy especial, a mi mamá, por su motivación, su apoyo, sus consejos y enseñanzas he podido seguir adelante. Así mismo quiero agradecer a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca por abrirme las puertas y ser parte de ella y a todos los docentes de la carrera de Medicina Veterinaria por brindarme su ayuda y sus conocimientos. Agradezco también a mi tutor de tesis el Doctor Cornelio Rosales quien me ha guiado durante la elaboración de la tesis. Por último, agradezco a mi compañera de tesis por su responsabilidad y dedicación que ha demostrado a lo largo del desarrollo de la tesis.

María del Cisne Tenecela Pintado

Dedicatorias

Dedico este trabajo a mis abuelos, en especial a mi abuela Carmen, que, aunque ya no está físicamente a mi lado, me llena de gozo saber que me cuida desde el cielo y estará orgullosa de que haya logrado mi meta. Luego a mis queridos padres Wilson y Fabiola y mi hermano Josué quienes son los promotores principales de mis sueños, ya que sin su ayuda no habría alcanzado mi objetivo y finalmente va dedicado a todas esas personas especiales que forman parte de mi vida, las cuales me apoyan a seguir adelante día a día.

Erika Belén Lema

Esta tesis se la dedico principalmente a Dios porque Él es el motor de mi vida, mi fortaleza y mi guía y por todas las bendiciones que me ha dado a mí y a mi familia. También dedico esta tesis a mi madre Sarita porque ella sola me ha podido criar y darme los estudios y por ser un gran ejemplo para mi vida. Por último, va dedicado a mi papá que hace años partió de este mundo.

María del Cisne Tenecela Pintado

Abreviaturas utilizadas

CIDR: Dispositivo progestágeno intravaginal
COC's: Complejo cúmulo-ovocitos
DS: Materia seca
ED: Energía digestible
EE: Error estándar
FSH: Hormona folículo estimulante
GH: Hormona del crecimiento
GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina
g: Gramos
h: Horas
IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina 1
Kcal/kg: Kilocalorías por kilogramo
Kg: Kilogramo
LH: Hormona luteinizante
MS: Materia seca
m: Metros
m.s.n.m: Metros sobre el nivel del mar
PGF2 α : Prostaglandina F2 alfa
T: Tratamiento
 μ m: Micrómetros

Introducción

El cobayo (*Cavia porcellus*) es considerado un animal roedor pequeño y originario de los Andes Sudamericanos, se calcula que su domesticación ocurrió hace 3000 años, se lo conoce como cuy, curi, acure, conejillo de Indias, entre otros nombres, dependiendo de la zona de distribución. Se los puede clasificar de acuerdo a la conformación de su cuerpo y por la forma y color de su pelaje. Actualmente en los países andinos existen varias líneas de cuyes, sin embargo, entre las más conocidas están la línea Perú, Andina e Inti (Ataucusi, 2015).

El cobayo es considerado un animal de interés zootécnico por sus características de adaptación a cualquier condición ambiental, resistencia a enfermedades, precocidad, prolificidad y de fácil manejo, por lo que su crianza se ha convertido en una excelente alternativa de negocio y su carne representa una fuente de alimento (Vivas, 2013; INIA, 2021; Usca et al., 2022).

Su ciclo productivo consta de tres etapas que son: lactancia, recría/engorde y reproducción, esta última representa la etapa más exigente en las hembras y es donde el productor debe tener un correcto manejo para optimizar la fertilidad, prolificidad y sobrevivencia de las crías (Ataucasi, 2015). Son animales sensibles a los estímulos ambientales, entre éstos está el nivel de nutrientes en la dieta que desempeña un rol importante en el desarrollo reproductivo de las hembras (Bauer et al., 2007).

La relación entre la reproducción y nutrición ocurre a través del equilibrio energético del animal; los nutrientes estimulan la programación y expresión de las vías metabólicas que influyen en los procesos reproductivos como en el sistema hipotálamo - hipófisis - gónada. El suministro de energía, afecta las secreciones hormonales y las funciones de las membranas celulares en el tracto reproductivo; actualmente existe una nueva técnica que ayuda a mejorar el desempeño reproductivo, conocido como flushing alimenticio (Joshi, 2022).

El flushing es una estrategia alimentaria que se basa en aumentar el nivel de energía en la dieta durante un corto período de tiempo (Martínez, 2012), induciendo cambios a nivel metabólico y reproductivo, y se lo ha utilizado unas semanas antes de la cubrición en pequeños rumiantes, cerdos y bovinos que ha dado buenos resultados en la tasa de ovulación, el número de óvulos fertilizados, buena implantación embrionaria y un correcto desarrollo del feto (Amin, 2014). En el caso de especies monotocas como las ovejas, al inicio del apareamiento ha mejorado la condición corporal de aquellas hembras de bajo peso para

permitir que un gran número de hembras presenten celo y queden gestantes (Niekerk, 2020), además puede aumentar la tasa de parición de un 10% a un 20%, incrementando la productividad de la camada (ProviCo, 2023). En bovinos hay reportes de que el flushing energético estimula el inicio temprano de la pubertad, asociado con el surgimiento de pulsos de LH de alta frecuencia y de baja amplitud. También ha producido cambios en la dinámica folicular, ondas foliculares, tasa de crecimiento del folículo dominante, y en las concentraciones de progesterona en el cuerpo lúteo (Chelikani et al., 2003; Domingues et al., 2020).

En animales de ovulación múltiple como las cerdas, el uso de flushing en mestizas nulíparas y primíparas antes de los 14 días previos a la monta, ha permitido mejorar la obtención de 11,13 lechones en promedio en comparación a 8,63 lechones sin uso del flushing alimenticio, logrando obtener 2,50 lechones más cuando no se aplica flushing (Jimenez et al., 2017). Durante la gestación, el aumento del nivel de energía dietética ha incrementado el peso corporal y un mayor número de lechones destetados durante el primer parto (Jin et al., 2018).

En cobayas multíparas y primíparas se ha informado que el empleo de flushing 15 días antes y después del empadre, da resultados óptimos en los parámetros productivos como son la ganancia de peso de las hembras al empadre, al parto y destete, peso de la camada, número de crías nacidas y destetadas (Gualle, 2019).

Se debe considerar que el efecto del flushing en ciertas condiciones posee baja efectividad, tal es el caso cuando se aplica en animales con una condición corporal alta ya que acumulan grasa en sus órganos reproductivos y la fertilidad disminuye (Solorzano & Sarria, 2014).

Bajo las consideraciones antes mencionadas, en esta investigación se aplicó el flushing energético en cobayas primerizas durante 11 días consecutivos en su etapa reproductiva con el fin de evaluar el efecto del nivel de energía sobre algunas características relacionadas con el ovario.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Evaluar los efectos del flushing energético en cobayas primerizas sobre la población folicular, número de cuerpos lúteos y calidad ovocitaria.

2.2. Objetivos específicos

- Cuantificar y clasificar los folículos ováricos en cobayas primerizas sometidas a diferentes regímenes de flushing energético.
- Registrar el número de cuerpos lúteos en cobayas primerizas.
- Clasificar los ovocitos tras el efecto de flushing en cobayas primerizas

3. Revisión de literatura

3.1. Generalidades

3.1.1. Cuy (*Cavia porcellus*)

El cuy es considerado un animal roedor pequeño, herbívoro, monogástrico, conocido por sus diferentes nombres dependiendo la zona en la que se encuentre, como por ejemplo cuye, cobaya, cobayo, curí, conejillo de indias, guinea pig, entre otros; científicamente este animal pertenece a la familia Caviidae siendo originario de la región andina de Bolivia, Ecuador, Colombia y Perú (Chauca, 1997; FAO. 2000).

Estos pequeños animales pertenecen a la especie *Cavia porcellus* y se los puede clasificar de diferentes formas: por su conformación, en tipo A que se caracteriza por un cuerpo rectangular y de tipo B por presentar un cuerpo triangular; según su forma de pelaje los cobayos se pueden clasificar en 4 tipos que son, tipo 1 (pelo lacio, corto y pegado al cuerpo), tipo 2 (pelo corto, lacio y arrosado e irregular), tipo 3 (pelo lacio, largo e irregular) y tipo 4 (pelo erizado y crespo); y por último por su coloración de pelaje se los clasifica en, cobayos de pelaje simple (un solo color) y compuesto (dos o más colores) (Guerra, 2009; Ataucusi, 2015).

Los cobayos sobresalen de las demás especies por la facilidad de adaptarse a cualquier condición ambiental hasta una altura de 4500 m.s.n.m (Usca et al., 2022); además, son animales resistentes a enfermedades y de fácil adaptación alimenticia de acuerdo a las disponibilidades del productor, pudiendo incluir desde forraje, desperdicios de cocina o subproductos industriales. Su parte reproductiva se caracteriza por su alta precocidad y prolificidad con ciclos reproductivos cortos y de fácil manejo, que permite que la crianza tecnificada de esta especie represente una importante fuente de alimento y que su carne se destaque por su alto valor nutritivo y bajo costo de producción, esto desde siempre ha contribuido a la seguridad alimentaria de la población rural de escasos recursos económicos (Vivas, 2013; INIA, 2021).

3.2. Manejo reproductivo del cuy

El manejo reproductivo de los cuyes es considerado de suma importancia dentro de una granja o galpón. Los productores deben saber reconocerlo y ponerlo en práctica diariamente

para así mejorar la fertilidad, prolificidad, sanidad, sobrevivencia de crías y el crecimiento poblacional (INIA, 2021).

3.2.1. Pubertad

Las cobayas alcanzan la pubertad cuando presentan su primer celo, su inicio está influenciado por el peso del animal, su genética y alimentación (Pajares, 2009).

El cuy hembra bajo condiciones normales llega a la pubertad entre los 33 y los 70 días de edad (pudiendo variar este tiempo a una menor edad siempre y cuando la alimentación sea de alta calidad lo que permitirá un crecimiento más acelerado); y en machos, pueden alcanzar su pubertad a los 50 - 70 días con una producción uniforme de espermatozoides. Por otro lado, el inicio de la vida reproductiva en los cuyes depende del tipo de cuy y de su peso óptimo. En el caso de una línea mejorada, las hembras alcanzan su madurez sexual a una edad no menor a 2 meses mínimo 500 y 750 g de peso vivo y los machos a una edad no menor a los cuatro meses con un peso mínimo de 750 g. Para la línea criolla, las hembras pueden alcanzar su madurez sexual a los cuatro o cinco meses de edad con un peso de 750 a 800 g y los machos a los cinco o seis meses de edad con un peso de 800 a 900 g (Usca et al., 2022).

3.2.3. Ciclo estral

Los cobayos son animales poliestríticos continuos y espontáneos pudiendo reproducirse durante todo el año, interrumpiéndose el ciclo solo durante la preñez. El ciclo estral de la hembra tiene una duración promedio de 16 a 18 días que presenta cuatro fases: proestro, estro o celo, metaestro y diestro (Pajares, 2009; Vivas, 2013). Se menciona que, la cobaya es fértil con mayor frecuencia durante la noche y poco después de dar a luz comienza un nuevo ciclo estral (Quesenberry et al., 2019).

3.2.3.1 Proestro

El proestro es la fase previa al celo con una duración de 1 a 1,5 días. En esta etapa los órganos reproductores de la hembra se preparan para aceptar al macho, ocurre la regresión del cuerpo lúteo, aumenta el volumen del útero, cambia la coloración de la vagina y a nivel de la vulva hay presencia de flujo vaginal (mucus). Mediante una citología vaginal hay una considerable producción de células nucleadas (Barahona & Quishpe, 2012; Briceño, 2019).

3.2.3.1 Estro o celo

En el estro o celo, el cuy hembra muestra receptividad por el macho y acepta la cópula, tiene una duración de 8,3 h; en esta fase ocurre la ovulación. Los cambios externos que presenta el cuy hembra son manifestaciones sexuales, aumento de tamaño de la vulva y apertura de la membrana vaginal; internamente se abre el cérvix uterino para dar paso a los espermatozoides. Con un frotis vaginal se puede determinar esta etapa al identificar la presencia de células cornificadas (Briceño, 2019).

Las cobayas presentan un celo posparto con ovulación, que se produce entre los 30 minutos a dos horas después de haber parido. Tiene una duración de 3,5 h y las hembras que se aparean en este celo pueden obtener un mayor número de partos al año gracias a la alta probabilidad de fecundación que va desde un 70 al 80% (Barahona & Quishpe, 2012).

3.2.3.1 Metaestro

Tiene una duración de aproximadamente 20,4 h y se caracteriza por ser la fase en donde la hembra rechaza al macho ante el intento de monta. Al realizar un frotis vaginal se pueden observar células epiteliales y leucocitos. (Barahona & Quishpe, 2012; Briceño, 2019).

3.2.3.1 Diestro

Es la etapa más larga del ciclo estral con una duración de 14,7 días y se la conoce como la fase de reposo o descanso reproductivo. Se caracteriza por la presencia de un cuerpo lúteo totalmente funcional (Barahona & Quishpe, 2012; Briceño, 2019).

3.2.4. Ovulación

La ovulación en el cuy hembra ocurre a partir de 1 a 1,5 días después de la apertura vaginal (Pajares, 2009). Este animal tiene 3,14 ovulaciones en promedio por ciclo estral, y puede llegar hasta 8 ovulaciones por ciclo (Aranibar & Echevarría, 2014).

3.3 Alimentación del cuy

El cuy es un animal herbívoro por excelencia que muestra mayor preferencia por el forraje verde. Los cobayos deben tener una alimentación completa y balanceada, solo pasto, mixtos forraje concentrado y solo concentrado dependiendo del sistema productivo que se plantea una granja (Vivas, 2013; Kajjak, 2015).

Un cobayo con un peso de 500 a 800 g consume forraje verde hasta el 30% de su peso vivo (FAO, 2000) y debe ser administrado en dos partes, una por la mañana y la otra por la tarde; si el pasto no es fresco se debe administrar agua considerando que para un cuy adulto se necesita aproximadamente 125 ml de agua diarios. Con respecto al concentrado, es un preparado a través de la mezcla de insumos como son el afrecho de trigo, soya, harina de maíz y harina de alfalfa (Chauca, 2020). Se recomienda el suministro de un 80% de forraje y un 20% de concentrado (Ataucusi, 2015).

3.3.1 Forraje en la alimentación del cuy

El forraje es la base de la dieta alimenticia en los cobayos, es fuente de celulosa, agua y vitaminas principalmente de vitamina C. Los cobayos no sintetizan esta vitamina por lo que es necesario proporcionar forraje verde y fresco para asegurar la ingestión adecuada de esta vitamina (Vivas, 2013; Usca et al., 2022).

Existen dos tipos de pastos que se utilizan en la alimentación de los cobayos, que son las gramíneas y leguminosas. Las leguminosas poseen un alto valor nutricional y son consideradas como un excelente alimento para el cobayo, dentro de este tipo de pasto están la alfalfa y el trébol. Las gramíneas son de menor valor nutricional por ejemplo la avena, cebada, chala de maíz y ray-grass (Chauca, 1997).

3.3.2 Concentrado en la alimentación del cuy

El suministro de concentrado, puede constituir hasta un 40% de toda la alimentación del cobayo (Vivas, 2013). En dietas mixtas tiene la función de complementar la alimentación y cubrir los requerimientos de energía y proteína (Reynaga et al., 2020). Además, permite un incremento de peso, mejor rendimiento a la canal y mayor rendimiento productivo (Benítez et al., 2019).

3.4 Requerimientos nutricionales del cuy

Los principales nutrientes que requiere el cobayo son proteína, energía, ácidos grasos esenciales, vitaminas, minerales (**Tabla 1**), fibra y el agua. Estos requerimientos nutricionales dependen de ciertos factores como son la edad, genotipo, etapas (crecimiento, lactancia, reproducción) y el medio ambiente de la crianza (Usca et al., 2022).

Tabla 1: Concentración recomendada de nutrientes en dietas para cuyes de acuerdo a la etapa de vida.

Nutrientes	Unidad	Etapa		
		Gestación	Lactancia	Crecimiento
Proteínas	(%)	18	18 - 22	13 - 17
ED	(Kcal/kg)	2800	3000	2800
Fibra	(%)	8 – 17	8 - 17	10
Calcio	(%)	1,4	1,4	0,8 - 1,0
Fósforo	(%)	0,8	0,8	0,4 - 0,7
Magnesio	(%)	0,1 - 0,3	0,1 - 0,3	0,1 - 0,3
Potasio	(%)	0,5 - 1,4	0,5 - 1,4	0,5 - 1,4
Vitamina C	(MG)	200	200	200

Fuente: Caycedo (2000).

3.5 Nutrición y reproducción

El nivel de nutrición es uno de los factores ambientales más importantes que ejerce efectos sobre las respuestas reproductivas en hembras y machos (Silvestris et al., 2019). En hembras el estado nutricional posee un impacto en la mayor parte de los aspectos de su rendimiento reproductivo, es decir desde el inicio de la vida fetal hasta la calidad ovocitaria y los embriones (Somchit, 2011). Se ha demostrado que el nivel de nutrición posee influencia en el inicio de la pubertad, la tasa de ovulación, el retorno al estro post destete y la supervivencia del embrión (Prunier & Quesnel, 2000). El mecanismo de acción por la cual la nutrición modula la actividad reproductiva es a través de las hormonas metabólicas que son la insulina, leptina, el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) y la hormona de crecimiento (Armstrong et al., 2003). Estas hormonas ejercen sus funciones en el control del desarrollo folicular y sobre la tasa ovulatoria al regular la acción de las gonadotropinas, hormonas esteroides e inhibina a nivel de los folículos (Muñoz et al., 2002).

3.5.1 Efectos nutricionales

3.5.1.1 Pubertad

La maduración puberal de los animales está regulada por factores genéticos y ambientales, dentro de los últimos está la nutrición la que influye en el inicio de la pubertad y la maduración sexual, es así que, los principales estímulos para alcanzar la pubertad son el peso y la condición corporal más que la edad del animal. Durante el desarrollo temprano de los animales prepúberes, el aumento de la ingesta de nutrientes acelera el inicio de la pubertad, debido a que se producen cambios metabólicos que repercuten a nivel del hipotálamo con una mayor respuesta de secreción pulsátil de GnRH y LH (Byrne et al., 2018; Cardoso et al., 2020).

3.5.1.2 Fertilidad

Los efectos de la nutrición sobre la fertilidad comprenden el correcto desarrollo de ovocitos y espermatozoides, la ovulación, fertilización, supervivencia del embrión y el establecimiento de la gestación. Todos estos efectos están determinados por el impacto que tiene la nutrición sobre las concentraciones de las hormonas y de otros metabolitos que son necesarios para el desarrollo de los procesos inicialmente mencionados (Robinson et al., 2006).

3.5.1.3 Ovulación

La cantidad de ovocitos que llegan a ser ovulados en cada ciclo estral, también está influenciada por el nivel de nutrición. La acción se produce en la etapa de selección de la onda de crecimiento folicular, al evitar la atresia de folículos grandes y garantizar una mayor viabilidad, de tal forma que el efecto de la nutrición se presenta sobre el número de folículos seleccionados disponibles para la ovulación (Somchit, 2011). El mecanismo de acción de la nutrición para aumentar la tasa de ovulación se da mediante un sinergismo entre las hormonas metabólicas y reproductivas (Scaramuzzi et al., 2006). Luego de iniciar la suplementación nutricional, se elevan los niveles de glucosa, insulina y leptina que permiten a los folículos continuar con su crecimiento y a utilizar de manera más eficiente los bajos niveles de FSH para poder ser seleccionados, y como resultado se induce la ovulación de más de un folículo (Viñoles et al., 2007). Sin embargo, el estado de desarrollo folicular puede ser un factor que determina si la tasa ovulatoria aumenta o no en respuesta al estímulo nutricional (Viñoles et al., 2005).

3.5.1.4 Desarrollo folicular

La nutrición produce efectos sistémicos en tres sitios potenciales que son: a nivel del hipotálamo estimula la síntesis y liberación de GnRH; en la hipófisis anterior controla la liberación de FSH, LH y GH; y a nivel del ovario regula el crecimiento de folículos y la síntesis esteroidea (Diskin et al., 2003). El efecto nutricional sobre el desarrollo folicular (**Tabla 2**) está mediado por las altas concentraciones de insulina, glucosa y leptina que actúan de forma directa a nivel ovárico. Sin embargo, su efecto es de corta duración debido a que las concentraciones disminuyen después del tercer día de la suplementación nutricional (Viñoles et al., 2005).

Tabla 2: Criterios de clasificación folicular y reconocimiento del cuerpo lúteo.

Valoración		Características
Folículos primordiales		Ovocitos rodeados por una sola capa de células de la granulosa aplanadas.
Folículos primarios		Ovocitos rodeados por una sola capa de células de la granulosa cúbica.
Folículos secundarios		Ovocitos con dos o más capas de células de la granulosa, pero sin antro.
Folículos antrales Cavidad antral con múltiples capas de células de la granulosa.	Pequeños	Folículos que inician la formación del antro folicular.
	Medianos	El antro folicular ocupa la mitad del folículo.
	Grandes	Cavidad antral completamente desarrollada, ovocito rodeado por el cumulus oophorus.
Cuerpo lúteo		Delimitado por tejido conectivo periférico, las células de la granulosa luteínicas se observan ocupando la mayor parte del cuerpo lúteo.

Adaptado de: (Aranibar et al., 2014; Filipiak et al., 2016; Kabir et al., 2022).

3.5.1.5 Calidad ovocitaria

La nutrición y el estado fisiológico no solamente influyen en los procesos metabólicos dentro de la hembra, sino también afectan la calidad ovocitaria (**Tabla 3**) y la calidad de los embriones debido a los trastornos metabólicos de la glucosa o lípidos. El ovocito necesita consumir energía para su desarrollo y las fuentes más comunes de energía son la glucosa y los ácidos grasos (Dumesic et al., 2015). A nivel del líquido folicular, se recolectan un conjunto de nutrientes durante el desarrollo de los folículos que apoyan el crecimiento y desarrollo del complejo cúmulo ovocito, se han detectado tanto glucosa como los ácidos grasos en el líquido folicular que son esenciales para la adquisición de la competencia ovocitaria. Una concentración fisiológica óptima de estos elementos ayuda al desarrollo y maduración adecuada de los ovocitos y también para el establecimiento del potencial del desarrollo embrionario (Warzych & Lipinska, 2020).

En ovinos se ha reportado una mayor proporción de ovocitos viables con una dieta baja en energía (Boland, 2003). En vacas *Bos Indicus* y *Taurus*, los diferentes niveles de energía en la dieta no han tenido influencia sobre el número y calidad de ovocitos (Sales et al., 2015).

Tabla 3: Clasificación de COC's según su morfología.

Categoría	Características
A	Cinco o más capas compactas de células del cúmulo que rodean al ovocito y con un citoplasma con granulación homogénea.
B	Menos de cinco capas compactas de células del cúmulo que rodean al ovocito y un citoplasma total o parcialmente homogéneo.
C	Ovocitos parcial o totalmente libres de células del cúmulo o con células del cúmulo expandidas con un citoplasma muy heterogéneo.

Adaptado de: Fernández et al., (2022).

3.5.2 Nutrientes relacionados con la reproducción

3.5.2.1 Proteína

La proteína permite el correcto funcionamiento de los órganos reproductivos de los animales y ayuda al crecimiento adecuado del feto (Bindari, 2013). La falta de proteína puede provocar un retraso en el inicio de la pubertad, alteraciones en el desarrollo de los embriones, menor

capacidad de supervivencia embrionaria, baja producción de leche, disminución del apetito, baja condición corporal y una disminución de la tasa de concepción. En los machos se presenta una menor concentración de espermatozoides en el semen (Ibtisham et al., 2018).

Se debe tener cuidado de no sobrepasar el nivel de proteína de acuerdo a las necesidades que posee el animal, ya que puede alterar el equilibrio hormonal y provocar altos niveles de urea en la sangre. Este elemento es tóxico para los óvulos, los espermatozoides y afecta el correcto desarrollo del embrión (Singha et al., 2019).

3.5.2.2 Energía

El animal necesita de energía para su mantenimiento, crecimiento, producción, reproducción y crecimiento fetal. El equilibrio energético es considerado como el factor nutricional más importante sobre el desempeño reproductivo, debido a que la producción de hormonas reproductivas depende del estado energético del animal. La energía puede aumentar las hormonas reproductivas, provocar mayores pulsos de LH, mayor concentración de glucosa, insulina e IGF-1. Estos últimos componentes están directamente relacionados con el estado energético para el desarrollo folicular ovárico (Gross et al., 2015; Ibtisham et al., 2018). Mediante una suplementación de energía a corto plazo se puede obtener efectos en el reclutamiento y crecimiento folicular (Boland, 2003).

Estudios realizados en ovejas y bovinos sugirieron que el efecto de una dieta alta en energía sobre el desarrollo folicular está mediado por un aumento de las concentraciones de varias hormonas metabólicas que son la insulina, leptina e IGF-1 que ejercen su función a nivel del ovario, directamente sobre los folículos (Viñoles et al., 2005; Scaramuzzi et al., 2011).

En cerdas primerizas alimentadas con una dieta rica en energía durante la crianza, se ha informado un aumento en las concentraciones de insulina e IGF-1, que pueden mejorar la frecuencia del pulso de LH, promoviendo el desarrollo folicular ovárico al encontrarse un aumento en el número de folículos > 4 mm, también ha mejorado la calidad de ovocitos por las altas concentraciones de IGF-1 encontradas en el líquido folicular, lo que ha contribuido a la maduración nuclear ovocitaria (Zhou et al., 2010).

Investigaciones recientes en cabras han revelado que los niveles de energía medios y altos en la dieta aumentan la cantidad total de folículos antrales por ovario y la tasa de maduración de los ovocitos hasta la metafase II; mientras que con una dieta baja en energía se ha

mostrado un mayor número de folículos primordiales que no continuaban con su crecimiento y folículos degenerados (Kabir et al., 2022).

3.6 Flushing

El flushing es una estrategia alimentaria o una práctica de manejo que se le conoce como golpe alimenticio o acondicionamiento. Esta práctica consiste en proporcionar una dieta rica en energía por un corto período (10 a 15 días) antes de la temporada reproductiva. Entre los suplementos energéticos administrados están los granos de avena, maíz, trigo, cebada, semillas oleaginosas y sorgo (Martínez, 2012).

En la parte práctica, los productores emplean el flushing a partir de la segunda o tercera semanas antes de la cubrición para mejorar la tasa de ovulación, supervivencia embrionaria y tasa de partos. Durante este período, los animales son alimentados con un mejor pasto o un suplemento en forma de concentrado según la condición corporal del animal (Maguregui, 2022).

3.6.1 Efecto fisiológico en la reproducción

El flushing induce cambios a nivel metabólico y reproductivo (eje hipotálamo – hipófisis - ovario). Su principal mecanismo de acción está mediado por la disposición de la glucosa que incrementa la concentración de la insulina. Este elemento es uno de los principales reguladores del balance energético y es un señalizador que informa al sistema reproductivo de la hembra sobre su estado metabólico. La insulina por sí sola tiene la capacidad de aumentar la sensibilidad de la glándula pituitaria y a su vez provocar una retroalimentación positiva con aumentos en la liberación de GnRH y de las hormonas gonadotropinas (FSH/LH) (Maguregui, 2022)

Además, se considera que el efecto del flushing sobre la tasa de ovulación está mediado por la insulina, la que ejerce su acción directamente sobre el ovario al inducir el crecimiento de los folículos y reducir su atresia, con ello, se garantiza la expresión de un mayor número de folículos antrales al momento de la ovulación (Plessis, 2016).

3.6.2 Beneficios del uso del flushing en diferentes especies

Se menciona que cuando el flushing es aplicado antes de la temporada de apareamiento, este estimula el celo, induce la tasa de ovulación y la fertilización de óvulos (Niekerk, 2020). Según Aliaga et al., (2009) el flushing provoca dos tipos de respuesta en el animal, que son la estática y dinámica. La estática se caracteriza por un aumento en la tasa de partos asociada con un mejor balance de nutrientes; y la respuesta dinámica que corresponde a una elevación de la tasa ovulatoria mediada por una óptima condición corporal y mayor peso, específicamente en hembras que han tenido una condición corporal inicial de mediana a baja.

Cuando se continúa con el flushing durante la temporada reproductiva, se ha observado que permite una óptima implantación embrionaria, el correcto desarrollo del feto (Kruger, 2021), y la tasa de parición o nacimiento puede llegar a aumentar de un 10% a un 20%, lo que incrementa de forma significativa la productividad de la camada (ProviCo, 2023). También permite mejorar el peso al nacimiento de las crías, peso al destete y aumentar la tasa de supervivencia de los recién nacidos (Rafiq et al., 1990).

A continuación, se describe el uso del flushing en algunas especies de animales:

3.6.2.1 Cobayos

En cobayas multíparas y primíparas se ha observado que, el empleo de flushing antes y durante la fase del empadre por un tiempo de 10 a 15 días mejora los aspectos productivos como son: el peso post parto, peso final de los mismos, el tamaño de la camada al nacimiento, el peso al nacimiento, peso de la camada, el peso al destete, tamaño de la camada al destete y peso de la camada al destete, al utilizar un nivel de energía de 3100 Kcal de MS (Gualle, 2019). También se ha registrado un 100% de fertilidad tanto en hembras primíparas como multíparas (Rojano, 2016).

3.6.2.2 Pequeños rumiantes

El flushing se ha convertido en una buena estrategia para mejorar las variables reproductivas particularmente en ovejas con una condición corporal baja. Actúa de mejor manera en ovejas maduras, al inicio y al final de la etapa de reproducción y en programas reproductivos fuera de la temporada (Metzger, 2018). Cuando se emplea de 14 a 21 días antes del apareamiento, aumenta el porcentaje de gestación, el número de corderos, e inclusive mejora la eficacia de los protocolos de sincronización con CIDR hasta un 50% (Gonzales et al., 2021).

3.6.2.3 Bovinos

Investigaciones realizadas por Armstrong et al., (2001) demostraron efectos positivos de suplementar una dieta alta en energía sobre la dinámica folicular en bovinos. Se observaron altas concentraciones medias de insulina y del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), mayor tasa de crecimiento del folículo dominante de la primera y segunda onda folicular, aumento ovulatorio, altas concentraciones de progesterona en plasma entre los días 5 y 14 del ciclo estral, y una ganancia diaria de peso de 1,12 kg/día en comparación con una dieta baja en energía (-0,14 kg/día).

3.6.3 Inconvenientes del uso del flushing

Investigaciones mencionan que el flushing no tiene efectividad en animales con una condición corporal excesiva y en animales muy delgados. Las hembras que se mantienen en buenas condiciones con niveles nutricionales muy altos en todo el año, tienen menos probabilidad de responder positivamente al flushing (Metzger, 2018). No se recomienda continuar con el flushing durante mucho tiempo, debido a que se estaría alimentando al animal por encima de sus requerimientos de mantenimiento (Kruger, 2021). En cuyes puede haber problemas a nivel reproductivo por el depósito excesivo de grasa (Solorzano & Sarria, 2014).

4. Materiales y métodos

4.1. Materiales

4.1.1 Materiales físicos

Galpón:

- Pozas de malla y madera
- Comederos
- Bebederos
- Baldes
- Forraje
- Recipientes de plástico
- Bandeja de metal
- Balanza digital
- Pala
- Escoba
- Bolsas de basura
- Overol
- Botas
- Guantes
- Cal
- Amonio cuaternario
- Agua
- Carteles de identificación
- Libreta de anotaciones
- Computadora portátil
- Cámara

Laboratorio:

- Guantes de látex
- Cofia
- Cubrebocas
- Mandil
- Cajas Petri

- Caja de 4 posillos
- Bisturí
- Equipo de disección
- Micropipetas (1 a 20 μ l)
- Puntas de pipetas
- Estereoscopio

4.1.2 Materiales químicos

- Lactato de Ringer
- Polivinil alcohol 0,1%

4.1.3. Materiales biológicos

- 64 cuyes hembra
- 128 ovarios de cobaya

4.2. Métodos

4.2.1 Localización y duración del experimento

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la parroquia Sinincay, cantón Cuenca, provincia Azuay; ubicada a una altitud de 2688 m.s.n.m, en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicado en la granja Irquis, parroquia Victoria del Portete, cantón Cuenca. La duración del experimento fue de 52 días.

4.2.2 Unidades experimentales

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizaron 64 cobayas hembras primerizas mestizas de la línea Perú, con un peso promedio de 992,80 y EE 10,70.

4.2.3. Tratamientos y diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar. Los tratamientos consistieron en 4 dietas diferentes con diferente contenido de energía: una dieta control T0 (2400 kcal/kg MS) y 3 dietas experimentales T1 (2600 kcal/kg MS), T2 (2800 kcal/kg MS) y

T3 (3000 kcal/kg MS). Para cada tratamiento se consideraron 4 repeticiones constituidas cada una por 4 animales.

4.2.4. Bioseguridad

Antes de ingresar los animales a las instalaciones se realizó la limpieza general y una primo desinfección del galpón a base de aspersion de amonio cuaternario y posterior aplicación de cal en el piso de todo el galpón, se dejó reposar por 2 días. Posteriormente se preparó la cama de las pozas con tamo de arroz y a la entrada del galpón se colocó un pediluvio con amonio cuaternario para prevenir el ingreso de microorganismos patógenos al galpón y que afecten a los animales. Las pozas fueron limpiadas y desinfectadas cada 5 días.

4.2.5. Desarrollo experimental

4.2.5.1. Descripción del experimento

Los 64 animales experimentales fueron distribuidos al azar a razón de 16 hembras por cada tratamiento, siendo colocadas en pozas en conjunto de 0,70 x 0,50 x 0,50 m.

Inicialmente, las cobayas fueron expuestas a un periodo de adaptación por 7 días, proporcionándoles una mezcla forrajera de trébol rojo (*Trifolium pratense*) y rye - grass (*Lolium perenne*) ajustado de acuerdo al peso vivo. Además, se adicionó sobrealimento base compuesto por harina de maíz (6,6 g/día/cuy), afrecho de trigo (26,1 g/día/cuy) y melaza (2 g/día/cuy) en un total de 34,7 gramos/cuy/día, más agua a voluntad. Después de este tiempo, se aplicó un período de restricción del sobrealimento base, dejando únicamente la mezcla forrajera durante 7 días. Posterior a esta segunda etapa se procedió a administrar la mezcla forrajera siendo ajustada semanalmente de acuerdo al peso vivo de los animales y la ración de sobrealimento con los diferentes tenores energéticos indicados previamente (**Tabla 4**) por un período de 11 días continuos y agua a voluntad.

Tabla 4: Dieta basal para el período de adaptación y raciones ajustadas del sobrealimento para el período experimental.

RACIÓN DE VOLUMEN				
Mezcla forrajera	kg/día/cobayo	kg/día/4 cobayos	kg/AM/4 cobayos	kg/PM/4 cobayos
Rye - grass + trébol rojo	0,297	1,191	0,477	0,715
SOBREALIMENTO BASE				
Insumo	g/día/cobayo	g/día/4 cobayos		
Harina de maíz	6,6	26,4		
Afrecho de trigo	26,1	104,4		
Melaza	2	8		
Total	34,7	138,8		
TRATAMIENTOS DIETÉTICOS				
Ingredientes	Dietas			
	T0 (control) 2400 kcal/kg MS	T1 2600 kcal/kg MS	T2 2800 kcal/kg MS	T3 3000 kcal/kg MS
	g/día/cobayo	g/día/cobayo	g/día/cobayo	g/día/cobayo
Harina de maíz	6,6	12	17,7	23,2
Afrecho de trigo	26,1	20,5	14,7	8,9
Melaza	2	2	2	2
Total	34,7	34,5	34,4	34,1

Para un mejor control de las variables, las cobayas fueron sometidas a un protocolo de sincronización de celo mediante la hormona PGF2 α vía intramuscular (miembro posterior) con dos aplicaciones, la primera inyección fue administrada en el día 0 coincidente con la finalización de la restricción y la segunda inyección a los 11 días a dosis de 0,04 mg de PGF2 α (Bermeo & Guamán, 2022).

4.2.6. Metodología de evaluación

4.2.6.1. Mediciones experimentales

Las variables consideradas fueron:

Dependientes:

- Número y clasificación de folículos visibles (por histología)

- Número de cuerpos lúteos (a base de histología)
- Número y clasificación de COC's

Independiente:

- Dietas alimenticias

4.2.6.1.1. Recuento y clasificación de folículos y cuerpo lúteo

Al finalizar el período de tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical, método humanitario utilizado para el sacrificio de animales de experimentación menores de 1 kg de peso (Melgar et al., 2015). Esta táctica consiste en poner al animal en decúbito dorsal sobre una superficie y sujetar al animal con el dedo índice a nivel de la región cervical ejerciendo presión, con la otra mano se sujetan las extremidades posteriores y seguidamente se realiza un estirón fuerte para provocar que las vértebras cervicales se separen del cráneo, produciendo inconsciencia inmediata y muerte sin dolor (FAO, 2000; Perera, 2012; Agrocalidad, 2014). En todo el proceso se recolectó un total de 128 ovarios. La mitad de ellos (64) fueron utilizados para realizar cortes histológicos para el recuento de folículos y cuerpos lúteos y la otra mitad para conteo y clasificación de ovocitos (COC's).

4.2.6.1.1.1. Procedimiento de los cortes histológicos

Los ovarios fueron fijados en formaldehído al 10%, después se realizaron finos cortes con el microtomo tipo Heidelberg y se colocaron en casetes para histopatología. Inmediatamente fueron trasladados a un procesador de tejidos donde se realizó la deshidratación a través del uso de alcoholes con grados crecientes de concentración. Posteriormente, fueron embebidos en parafina y con ayuda del micrótopo para parafina tipo Minot, se hicieron cortes de 5 µm. Luego se colocaron en una placa y fueron teñidos con hematoxilina - eosina para su observación al microscopio (Kabir et al., 2022).

4.2.6.1.1.2. Clasificación de folículos e identificación de cuerpos lúteos

El recuento de folículos y cuerpos lúteos, se realizó en base a la siguiente clasificación: folículos primordiales, folículos primarios, folículos secundarios y folículos antrales, los últimos subclasificados en (pequeños, medianos y grandes, dependiendo del tamaño del antro) (Fernández et al., 2022).

Para la clasificación se observó con un lente de aumento y un número de campos diferente. Para cuerpos lúteos y folículos antrales se usó el lente de 4x a 4 campos, mientras que, para los folículos secundarios y primarios se utilizó el lente de 10x a 8 campos y finalmente los folículos primordiales se les observó con el lente de 40x a 24 campos (**Figura 1**); cada uno de estos fueron clasificados en base a las características morfológicas (**Tabla 2**).

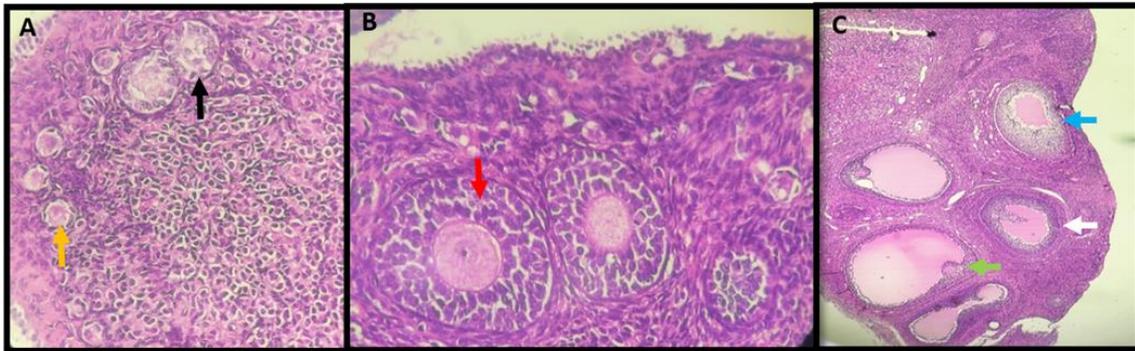


Figura 1: Corte histológico de ovario de cobaya. A: Folículo primordial (flecha amarilla), folículo primario (flecha negra). B: Folículo secundario (flecha roja). C: folículos antrales, pequeño (flecha azul), mediano (flecha blanca), grande (flecha verde).

4.2.6.1.2. Recuento y clasificación de COC's

Los ovarios recolectados para recuento y clasificación de COC's, fueron colocados en cajas petri rotuladas con medio de Lactato de Ringer suplementado con polivinil alcohol al 0,1% a 37 °C, se mantuvo la temperatura durante todo el procedimiento hasta ser trasladados al laboratorio de manera inmediata. Para la recuperación de los complejos cúmulo ovocitos, se utilizó el método de slicing de Fernández et al., (2022) para posteriormente ser valorados en el estereoscopio.

Los COC's recuperados fueron clasificados en 3 categorías A, B y C (**Figura 2**) según el criterio de Fernández et al., (2022).

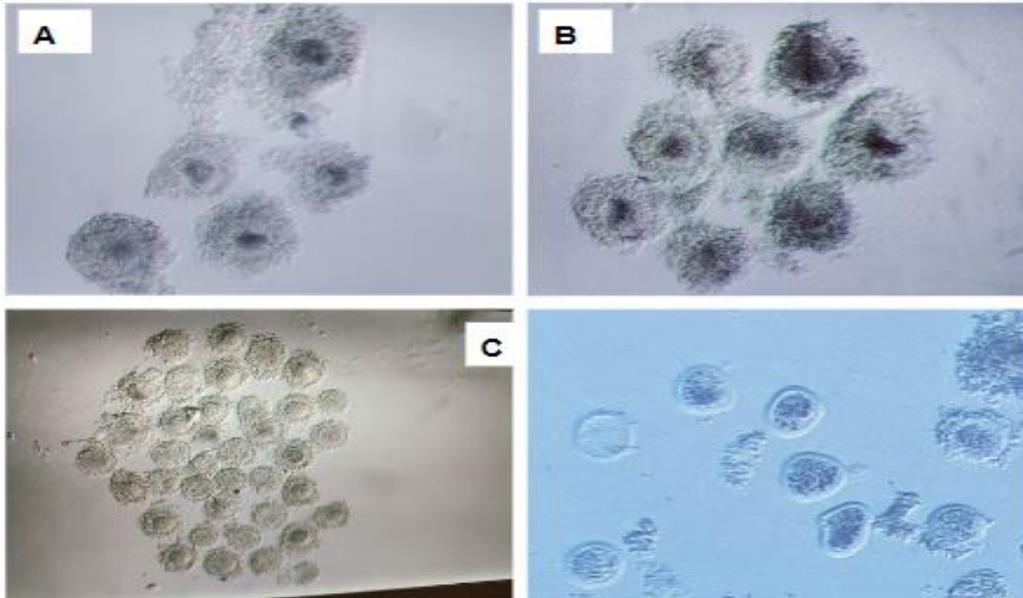


Figura 2: Clasificación de ovocitos de cobaya (A, B, C). Ovocitos tipo A con cinco o más capas de células del cúmulo (A). Ovocitos tipo B con menos de cinco capas de células del cúmulo (B). Ovocitos tipo C con pocas o ninguna capa de células del cúmulo u ovocitos desnudos (C).

4.2.7. Análisis estadístico

Los datos que se obtuvieron de cada variable fueron tabulados en excel y analizados estadísticamente mediante el programa SPSS Statistics versión 23.

Se aplicó la prueba de Kolmogorov - Smirnov para la determinación de normalidad de los datos, encontrándose normalidad. Posteriormente los datos fueron evaluados a través de la prueba ANOVA de una vía para determinar si existían o no diferencia estadística entre las medias de los diferentes tratamientos.

Finalmente, se utilizó la prueba de Tukey al 5% para determinar las diferencias entre las medias de los diferentes tratamientos.

5. Resultados y discusión

5.1 Número y clasificación de folículos

No se encontró diferencia estadística ($p > 0,05$) para el número de folículos totales entre los tratamientos dietéticos, sin embargo en el T3 (3000 kcal de MS) se pudo observar más población folicular con un promedio de $43,5 \pm EE 8,91$, y en el T1 un promedio menor de $30,0 \pm EE 4,37$. Por su parte Gualle, (2019) presentó resultados diferentes a los de esta investigación, observando un mayor número de folículos en el ovario izquierdo y derecho en cobayas de la línea Perú que fueron alimentadas con una dieta que contenía 2800 y 2900 kcal de MS.

Cuando se aumenta el nivel de energía en la dieta, hay un incremento de los niveles plasmáticos de insulina, IGF-1 y leptina, que juegan un papel importante en la reproducción actuando a nivel central y local. Centralmente, hay una estimulación en la producción de GnRH, que conlleva a la secreción de FSH y LH; y a nivel local, los metabolitos se encuentran presentes en el líquido intrafolicular, lo cual mejoran el crecimiento folicular, afectan su tamaño y su calidad (Hunter et al., 2004). Aunque no se midieron las concentraciones de los tres metabolitos, Scaramuzzi et al., (2006), señala que la foliculogénesis está regulado por estos tres metabolitos y que el alto nivel energético en la dieta, produce efectos agudos y estáticos que se encuentran mediados por estos sistemas metabólicos; los efectos agudos (efecto a corto plazo sin cambios en el peso corporal) están mediados por los tres sistemas y el efecto estático (efecto a largo con cambios en el peso corporal) por el sistema de leptina, que mide las reservas de energía corporal a largo plazo, y al haber mayores reservas, mayor será la concentración de leptina en sangre (Blache et al., 2000).

Knox, (2005) indica que, a nivel del ovario, cuando aparece una cohorte de folículos pequeños, estos responden a IGF-1 y continúan con su crecimiento durante las primeras etapas del ciclo, por lo que habrá más folículos reclutados. Hallazgos en vacas reportaron un efecto significativo de una dieta alta en energía sobre el número total de folículos que fueron asociados con un aumento en las concentraciones plasmáticas de insulina (Tomita et al., 2023). Webb et al., (2004) indicaron que la insulina actúa a nivel ovárico como estimulante de la formación de folículos, promueve la transición del folículo primordial al primario, mantiene la viabilidad folicular, disminuye la atresia de folículos en crecimiento durante la fase de selección, aumentando la cantidad de folículos ováricos.

Luego de analizar los diferentes estadios foliculares de desarrollo (primordiales, primarios, secundarios, antrales) no se encontró diferencia significativa entre tratamientos (**Tabla 5**). Kabir et al., (2020) muestra resultados diferentes, habiendo encontrado un mayor número de folículos primordiales en aquellos animales alimentados con una dieta baja en energía, los primarios fueron mayor en la dieta con energía media, los secundarios en la dieta de alta energía y los antrales grandes fueron significativamente más altos en la dieta de alta energía.

Useni et al., (2018) y Mellouk et al., (2017) reportaron que los tratamientos con diferentes niveles de energía no afectaron la cantidad de las diferentes clases de tamaño de folículos: antrales pequeños, medianos y grandes; sin embargo, los recuentos foliculares totales aumentaron significativamente ($p < 0,05$) en el grupo de alta energía en comparación con el grupo control.

Tabla 5: Promedio \pm error estándar por tipo de folículos ováricos en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.

Tratamientos	Primordiales	Primarios	Secundarios	Antrales totales
T0	23,75 \pm 3,2	2,50 \pm 0,87	3,50 \pm 0,5	6,50 \pm 1,5
T1	17,50 \pm 1,7	2,25 \pm 0,85	4,00 \pm 1,2	6,25 \pm 1,7
T2	23,00 \pm 4,2	1,75 \pm 0,25	3,50 \pm 0,87	5,50 \pm 0,96
T3	31,25 \pm 8,2	2,75 \pm 0,48	4,25 \pm 0,75	5,25 \pm 1,03

5.2 Número de cuerpos lúteos

Las dietas implementadas en los diferentes tratamientos no mostraron diferencias estadísticas sobre el número de cuerpos lúteos. El promedio general del número de cuerpos lúteos fue 1 (**Tabla 6**). Estos resultados pueden ser debido a que las cobayas se encontraban en una fase periovulatoria, puesto que fueron sacrificadas a un corto tiempo después de presentar celo y algunos de los animales posiblemente no se encontraban durante el momento de la ovulación o existían cuerpos lúteos en su etapa inicial de formación, siendo conocido que la ovulación ocurre 10 horas después de haber iniciado el celo (Pajares, 2009). Los cuerpos lúteos que se observaron fueron los que se formaron en aquellas cobayas que presentaron celo después de la primera inyección de PGF2 α , por lo que al final del tratamiento (11 días), el cuerpo lúteo ya se encontraba formado (Encalada, 2011; Azizah et al., 2013). De acuerdo a Garcia - Garcia, (2012) el flushing solamente tiene un efecto significativo sobre la

tasa de ovulación en aquellos animales de baja condición corporal después del destete. Tal es el caso como en especies polítopas como las cerdas, en las cuales se ha demostrado que el incremento de energía durante la última semana de lactación, mejora la tasa de ovulación y el número total de lechones nacidos, y sugiere que, con un aumento de energía, se seleccionan más folículos medianos y grandes para ovular, por lo que habrá una pérdida menor de folículos antes de la ovulación y ovularán más folículos (Webb et al., 2021).

Tabla 6: Promedio \pm error estándar del número de cuerpos lúteos en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.

Tratamientos	Cuerpo Lúteo
T0	1,00 \pm 0,00
T1	1,25 \pm 0,25
T2	0,75 \pm 0,25
T3	1,00 \pm 0,00

En ovejas se ha demostrado que una dieta alta en energía, aumenta el número de folículos ovulatorios (folículo dominante) y mejora la tasa de ovulación por las altas concentraciones plasmáticas de insulina y glucosa que estimulan el crecimiento folicular y aumentan la frecuencia del pulso de LH; se informó que los resultados obtenidos fueron debido a que la suplementación del alimento coincidió con el inicio de la onda folicular (Zabuli et al., 2010). El aumento de folículos ovulatorios se ve influenciado por la insulina que permite la absorción de glucosa por parte de las células foliculares para su crecimiento, previniendo la atresia y aumentando el conjunto de folículos que van a ser seleccionados para la ovulación (Scaramuzzi et al., 2006).

5.3 Recuperación de ovocitos

De las 32 cobayas sacrificadas se recuperaron un total de 580 ovocitos, de este número el 25,34% (147 ovocitos) fueron obtenidos de las cobayas del T0, 18,79% (109 ovocitos) del T1, 17,58% (102 ovocitos) del T2 y un 38,27% (222 ovocitos) correspondieron a T3. Los ovocitos totales del T3 fueron más altos que los demás tratamientos ($p < 0,05$) (**Tabla 7**). Los hallazgos descritos se justifican por el efecto del tenor de energía de la dieta que aumentan los niveles de insulina, siendo esta un factor estimulante folicular, favoreciendo el desarrollo folicular en

las diferentes etapas de la foliculogénesis, lo que repercute de manera directa en una mayor cantidad de folículos ováricos y por lo tanto un mayor número de ovocitos recuperados, hallazgos descritos en diferentes especies de animales (Dorice et al., 2019; Tinco et al., 2021; Tomita et al., 2023).

Tabla 7: Promedio \pm error estándar de ovocitos totales (NÚMERO) recuperados en ovarios de cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía (flushing energético).

Tratamientos	Ovocitos
T0	36,75 \pm 0,85 b
T1	35,75 \pm 1,03 b
T2	25,50 \pm 2,59 a
T3	55,50 \pm 3,30 c

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$)

5.4 Clasificación de COC's

En lo que se refiere a la categorización de los COC's, se encontró que la cantidad de ovocitos de tipo A en las cobayas que recibieron el T3 fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que en el resto de tratamientos (**Tabla 8**). Similar comportamiento se puede observar para los ovocitos tipo B y ovocitos de categoría C.

Se estimó la proporción de ovocitos aptos en cada uno de los tratamientos: T0 = 44,25%; T1 49,50%; T2 = 52,75% y T3 = 53,00%. Lo encontrado nos permite deducir que la proporción de ovocitos aptos muestran una relación directa con la concentración energética de la dieta. Incrementándose en la mayor concentración energética (T3) frente a la menor concentración.

El aumento de ovocitos de tipo A y B en el grupo de cobayas que recibieron una dieta alta en energía (T3) concuerdan con los de Zhou et al., (2010) quienes obtuvieron un mayor número de ovocitos de estas categorías en cerdas primerizas alimentadas con una dieta alta en energía que en los otros grupos, la mejor calidad ovocitaria fue asociada con el tamaño del folículo, es decir mientras el folículo es grande, la calidad de ovocitos será mejor. Concluyeron que el aumento del nivel energético en la dieta, mejora el entorno en los folículos grandes con

altas concentraciones de IGF-1 y estradiol en el líquido folicular que permite la maduración de ovocitos.

Tabla 8: Promedio \pm error estándar de ovocitos de acuerdo a la clasificación (A, B y C) en cobayas primerizas suplementadas con diferentes niveles de energía.

Tratamientos	Ovocitos A	Ovocitos B	Ovocitos C
T0	4,75 \pm 0,47 a	11,50 \pm 0,95 a	20,50 \pm 1,32 b
T1	5,50 \pm 0,64 ab	12,25 \pm 0,85 a	18,00 \pm 0,40 b
T2	6,00 \pm 0,57 ab	9,25 \pm 0,75 a	11,75 \pm 0,47 a
T3	8,00 \pm 0,57 b	23,50 \pm 1,32 b	26,00 \pm 0,91 c

Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0,05$)

Según Adamiak et al., (2005) el aumento de energía tiene un efecto beneficioso en la calidad del ovocito solamente en aquellos animales que presentan una puntuación de condición corporal moderada, mientras que, en animales con una condición corporal alta, el nivel de energía puede ser perjudicial sobre la calidad ovocitaria. Lo dicho pudiera explicar los resultados obtenidos al haberse aplicado un periodo de restricción alimenticia.

Conclusiones

- Los diferentes tenores energéticos usados en la dieta bajo una estrategia de flushing para cobayas primerizas, no influyeron estadísticamente sobre el número total y tipos de folículos ováricos.
- El número de cuerpos lúteos en cobayas primerizas, no se vio influenciado por la concentración energética de las dietas implementadas en la estrategia de flushing investigada, con seguridad ocasionado por el tiempo transcurrido entre la detección del celo y la recuperación de los ovarios.
- La concentración energética en la dieta influyó sobre la cantidad total y calidad de ovocitos.
- La concentración energética de la dieta en cobayas primerizas, presentan una relación directa sobre la calidad de los ovocitos, encontrándose un incremento significativo de ovocitos A y B susceptibles de ser usados en procesos biotecnológicos.

Recomendaciones

- Proseguir los estudios sobre reproducción en la especie, con la posibilidad de encontrar estrategias que optimicen dicho proceso.
- Realizar estudios similares al presente, considerando variables como la aplicación o no de período de restricción y relación con la condición corporal.
- Considerar evaluaciones de las variables estudiadas en la presente investigación frente a dietas controladas y ad libitum.
- Investigar el comportamiento de los ovocitos conseguidos a través de flushing energético en los procesos de maduración *in vitro*.

Referencias

- Adamiak, S. J., Mackie, K., Watt, R. G., Webb, R., & Sinclair, K. D. (2005). Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biology of Reproduction*, 73(5), 918-926. doi: 10.1095/biolreprod.105.041483
- Agrocalidad. (2014). Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. Guía de Faenamiento de cuyes Resolución DAJ-20141AL-0201.0092. Ecuador. Recuperado de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/fae4.pdf>
- Aliaga, L., Moncayo, R., Rico, E., & Caycedo, A. (2009). *Producción de cuyes*. Lima, Perú: UCSS.
- Amin, R. U. (2014). Nutrition: Its role in reproductive functioning of cattle - a review. *Veterinary Clinical Science*, 2(1), 1-9. Recuperado de <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=217a22e9c639c2b7d0acb135e7600908e8076e1e>
- Aranibar, E & Echevarría, L. (2014). Número de ovulaciones por ciclo estrual en cuyes (*Cavia porcellus*) Andina y Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(1), 29-36. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivpe/v25n1/a03v25n1.pdf>
- Armstrong, D. G., McEvoy, T. G., Baxter, G., Robinson, J. J., Hogg, C. O., Woad, K. J., Webb, R., & Sinclair, K. D. (2001). Effect of Dietary Energy and Protein on Bovine Follicular Dynamics and Embryo Production In Vitro: Associations with the Ovarian Insulin-Like Growth Factor System. *Biology of Reproduction*, 64(6), 1624–1632. doi: 10.1095/biolreprod64.6.1624
- Armstrong, D., Gong, J., & Webb, R. (2003). Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reproduction Supplement*, 61, 403-414. Recuperado de <https://www.bioscioproceedings.org/bp/0005/bp0005rdr30.pdf>
- Ataucusi, S. (2015). Manejo técnico de la crianza de cuyes en Sierra del Perú. Recuperado de: <https://draapurimac.gob.pe/sites/default/files/revistas/MANUAL%20CUY%20PDF.pdf>
- Azizah, A., Yaakub, H., & Ahmad, J. (2013). Effects of varying energy levels on follicular development and time of ovulation in Kedah-Kelantan crossbred cows. *Mal. J. Anim. Sci*,

16(2), 21-28. Recuperado de [http://www.msap.my/mjas16-2/3\(EFFECTS%20VARRYING-AzizahME_21-28\)-rev3.pdf](http://www.msap.my/mjas16-2/3(EFFECTS%20VARRYING-AzizahME_21-28)-rev3.pdf)

Barahona, M., & Quishpe, O. (2012). *Inducción de superovulación en cobayas primerizas, usando gonadotropina sérica con tres dosis diferentes* (tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/653/1/T-UCE-0014-19.pdf>

Bauer, B., Womastek, I., Dittami, J., & Huber, S. (2008). The effects of early environmental conditions on the reproductive and somatic development of juvenile guinea pigs (*Cavia aperea* f. *porcellus*). *General and comparative endocrinology*, 155(3), 680-685. doi: 10.1016/j.ygcen.2007.09.015.

Benítez, E., Chamba, H., Calderón, Ángel., & Cordero, F. (2019). Evaluación de bloques nutricionales en la alimentación de cobayos (*Cavia porcellus*) en etapas de crecimiento y engorde. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 6(2), 66-73. doi: 10.36610/j.jsaas.2019.060200066

Bermeo & Guamán. (2022). Evaluar la sincronización de celo con PG y su efecto estimado sobre la fertilidad y prolificidad en cobayas nativas (tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/39990>

Bindari, Y., Shrestha, S., Shrestha, N., & Gaire, T. (2013). Effects of nutrition on reproduction- A review. *Advances in Applied Science Research*, 4(1), 421-429. Recuperado de <https://www.topsoils.co.nz/wp-content/uploads/2014/09/Effects-of-nutrition-on-reproduction-Himalayan-College-of-Agricultural-Sciences-and-Technology.pdf>

Boland, M. P. (2003). Efectos nutricionales en la reproducción del ganado. *XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría*, 96-102. Recuperado de https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/417/JB2003_96-102.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Blache, D., Tellam, R. L., Chagas, L. M., Blackberry, M. A., Vercoe, P. E., & Martin, G. B. (2000). Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology*, 165(3), 625-637. doi: 10.1677/joe.0.1650625

Briceño, A. (2019). Características del ciclo estral en cuyes. Recuperado de: <https://es.scribd.com/document/414254981/Caracteristicas-Del-Ciclo-Estral-en-Cuyes-1>

Byrne, C., Feria, S., English, A., Urh, C., Sauerwein, H., Crowe, M., Lonergan, P., & Kenny, D. (2018). Plane of nutrition before and after 6 months of age in Holstein-Friesian bulls: II. Effects on metabolic and reproductive endocrinology and identification of physiological markers of puberty and sexual maturation. *Journal of Dairy Science*, *101*(4), 3460-3475. doi: 10.3168/jds.2017-13720

Caycedo, V. A. (2000). Experiencias investigativas en la producción de cuyes. Universidad de Nariño. Vicerrectoría de Investigaciones, postgrados y Relaciones internacionales. VIPRI. Graficolor. Pato. Colombia. 323 p

Cardoso, R., West, S., Maia, T., Alves, B., & Williams, G. (2020). Nutritional control of puberty in the bovine female: prenatal and early postnatal regulation of the neuroendocrine system. *Domestic Animal Endocrinology*, *73*, 1-10. doi: 10.1016/j.domaniend.2020.106434

Chauca, L. (1997). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Estudio FAO Producción y Sanidad Animal 138. Recuperado de <https://www.fao.org/3/W6562s/w6562s00.htm#TopOfPage>

Chauca, L. (2020). Manual de crianza de cuyes. Recuperado de <http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/10777/1/Manual%20de%20Crianza%20de%20Cuyes-Versio%CC%81n%20Final.pdf>

Chelikani, P. K., Ambrose, J. D., & Kennelly, J. J. (2003). Effect of dietary energy and protein density on body composition, attainment of puberty, and ovarian follicular dynamics in dairy heifers. *Theriogenology*, *60*(4), 707-725. doi: 10.1016/s0093-691x(03)00088-8

Diskin, M. G., Mackey, D. R., Roche, J. F., & Sreenan, J. M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal reproduction science*, *78*(3-4), 345-370. doi: 10.1016/S0378-4320(03)00099-X

Domingues, R. R., Ginther, O. J., Toledo, M. Z., & Wiltbank, M. C. (2020). Increased dietary energy alters follicle dynamics and wave patterns in heifers. *Reproduction*, *160*(6), 943-953. doi: 10.1530/REP-20-0362

Dorice, A. K., Ferdinand, N., Justin, K., Augustave, K., & Linda, K.K. (2019). Effects of Breed, Age, Body Condition Score, and Nutritional Status on Follicular Population, Oocyte Yield, and Quality in Three Cameroonian Zebus Cattle *Bos indicus*. *Advances in Agriculture*, 1-15. doi: 10.1155/2019/2979740

Dumesic, D. A., Meldrum, D. R., Katz-Jaffe, M. G., Krisher, R. L., & Schoolcraft, W. B. (2015). Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. *Fertility and sterility*, 103(2), 303-316. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.11.015

Encalada Echeverria, V. J. (2011). Sincronización del celo en cuyes (*cavia porcellus*) con la utilización de la prostaglandina (f2 alfa) (tesis de pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2336/1/03%20AGP%20134%20TESIS.pdf>

FAO. (2000). *Manual de capacitación para trabajadores de campo en América Latina y El Caribe*. Roma. Recuperado de <https://www.fao.org/3/V5290S/v5290s00.htm#TopOfPage>

Fernández, E., Rosales, C., Garzón, J., Argudo, D., Ayala, L., Guevara, G., Maldonado, J & Perea, F. (2022). Morphological and histological characteristics of ovaries from two genetic groups of guinea pigs (*Cavia porcellus*) from South America. *Revista de investigaciones del Peru*, 33(4), doi: 10.15381/rivep.v33i4.23349

Ferguson, E. M., Ashworth, C. J., Edwards, S. A., Hawkins, N., Hepburn, N., & Hunter, M. G. (2003). Effect of different nutritional regimens before ovulation on plasma concentrations of metabolic and reproductive hormones and oocyte maturation in gilts. *Reproduction*, 126(1), 61-71. doi: 10.1530/rep.0.1260061

Filipiak, Y., Viqueira, M., & Bielli, A. (2016). Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), 14-22. Recuperado en 13 de abril de 2016 de: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/vet/v52n202/v52n202a02.pdf>

Garcia - Garcia, R. M. (2012). Integrative control of energy balance and reproduction in females. *International Scholarly Research Notices*, 2012. 1-13. doi: 10.5402/2012/121389

Gonzales, A. C., Góngora, A., & Sánchez, J. (2021). Efecto del flushing sobre el desempeño reproductivo en ovejas de pelo en un centro de apoyo a la investigación y docencia en México. *Revista Sistemas de Producción Agroecológicos*, 12(1), 38-57. doi: 10.22579/22484817.737

Gross, J., Kessler, E. C., Albrecht, C., & Bruckmaier, R. M. (2015). Response of the cholesterol metabolism to a negative energy balance in dairy cows depends on the lactational stage. *PLoS one*, 10(6), 1-17. doi: 10.1371/journal.pone.0121956

Gualle, M. (2019). Evaluación de 3 niveles de energía en el suministro de flushing sobre el desempeño reproductivo de cuyas (*Cavia Porcellus*) primerizas de las líneas Andina, Inti y Perú y su efecto en la progenie (tesis de pregrado). Universidad de las fuerzas armadas, Pichincha, Ecuador. Recuperado de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15944/1/T-IASA%20I-005490.pdf>

Guerra, C. (2009). Manual técnico de crianza de cuyes. Recuperado de: https://www.cedepas.org.pe/sites/default/files/manual_tecnico_de_crianza_de_cuyes.pdf

Haruna, S., Kuroiwa, T., Lu, W., Zabuli, J., Tanaka, T., & Kamomae, H. (2009). The Effects of Short-Term Nutritional Stimulus Before and After the Luteolysis on Metabolic Status, Reproductive Hormones and Ovarian Activity in Goats. *Journal of Reproduction and Development*, 55(1), 39-44. doi: 10.1262/jrd.20082

Hunter, M. G., Robinson, R. S., Mann, G. E., & Webb, R. (2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science*, 82, 461-477. doi: 10.1016/j.anireprosci.2004.05.013.

Ibtisham, F., Nawab, A., Li, G., Xiao, M., An, L., & Naseer, G. (2018). Effect of nutrition on reproductive efficiency of dairy animals. *Medycyna weterynaryjna*, 74(6), 356-361. doi: 10.21521/mw.6025

INIA. (2021). Manejo reproductivo en la crianza de cuyes. Recuperado de: <https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1546/1/Manejo%20reproductivo%20en%20la%20crianza%20de%20cuyes.pdf>

Jimenez, G., Peñafiel, M., Gutiérrez., E & Flores, R. (2017). Evaluación del estrés nutricional “Flushing” en los índices reproductivos de marranas mestizas nulíparas y primíparas. *Revista*

de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, 4(1), 92-97. Recuperado de: http://www.scielo.org.bo/pdf/riarn/v4n1/v4n1_a12.pdf

Jin, S. S., Jin, Y. H., Jang, J. C., Hong, J. S., Jung, S. W., & Kim, Y. Y. (2018). Effects of dietary energy levels on physiological parameters and reproductive performance of gestating sows over three consecutive parities. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(3), 410. doi: 10.5713/ajas.17.0016

Joshi, P. (2022). Nutrition And Reproduction In Sheep. *Food & Agribusiness Management (FABM)*, 3(2), 48-52. doi: 10.26480/fabm.02.2022.40.44

Kabir, M. E., Miraz, F. H., Alam, M. H., Sarker, M. B., Hashem, M. A., Khandoker, M. Y., ... & Moniruzzaman, M. (2022). Dietary energy influences ovarian morphology and in vitro maturation of oocytes in goats. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 47-53. doi: 10.1080/09712119.2021.2018325

Kajjak, N. (2015). Crianza tecnificada de cuyes. Recuperado de https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/144/1/Crianza_cuyes_2015.pdf

Knox, R. V. (2005). Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domestic animal endocrinology*, 29(2), 385-397. doi: 10.1016/j.domaniend.2005.02.025

Kruger, A. (2021). *Nutritional flushing of Sheep*. África: AFGRI Animal Feeds. Recuperado de <https://www.afgrianimalfeeds.co.za/2021/03/11/nutritional-flushing-of-sheep/?lang=en>

Maguregui, E. (2022). Técnica de Flushing en ganado porcino. *Veterinaria digital Todo sobre medicina veterinaria y producción animal*. Recuperado de <https://www.veterinariadigital.com/articulos/tecnica-de-flushing-en-ganado-porcino/>

Mallmann, A.L., Arend, L. S., Oliveira, G. S., Mellagi, A. P., Ulguim, R. R., Bernardi, M. L., Bortolozzo, F. P., & Knox, R. V. (2020). Effects of flush feeding strategy before breeding on reproductive performance of modern replacement gilts: impacts on ovulation rate and litter traits. *Journal of Animal Science*, 98(6), 1-10. doi: 10.1093/jas/skaa186

Martínez, M. E. (2012). La Técnica de Flushing en la alimentación de ovejas. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)*. Recuperado de https://puntoganadero.cl/imagenes/upload/_5cc081f12d9e2.pdf

Mejías, M., Molist, P., & Pombal, M. (2023). Atlas de histología animal y vegetal. Recuperado de: <https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/imagenes-grandes/reproductor-foliculos.php>

Mellouk, N., Rame, C., Touzé, J. L., Briant, E., Ma, L., Guillaume, D., ... & Dupont, J. (2017). Involvement of plasma adipokines in metabolic and reproductive parameters in Holstein dairy cows fed with diets with differing energy levels. *Journal of dairy science*, 100(10), 8518-8533. doi: 10.3168/jds.2017-12657

Meza, G. A., Cabrera, R. P., Morán, J. J., Meza, F. F., Cabrera, C. A., Meza, C. J., ... & Ortiz, J. (2014). Mejora de engorde de cuyes (*Cavia porcellus* L.) a base de gramíneas y forrajeras arbustivas tropicales en la zona de Quevedo, Ecuador. *IDESIA (Arica)*, 32(3), 75-80. doi: 10.4067/S0718-34292014000300010

Metzger, M. (2018). *Flushing small ruminants for a higher ovulation rate*. Michigan, EU.: Michigan State University. Recuperado de <https://www.canr.msu.edu/news/flushing-small-ruminants-for-a-higher-ovulation-rat>

Muñoz, M., Blache, D; Martin, G; & Scaramuzzi, R. (2002). Folliculogenesis and ovarian expression of mRNA encoding aromatase in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction-Cambridge*, 124(5), 721-731. doi: 10.1530/rep.0.1240721

Melgar, M., Pérez, M., Camiña, M., Puerta, J., Cantalapiedra, J., Yllera, M., Blanco, I., Velásquez, J., Mercedes, Y., & Luna, D. (2015). Bienestar animal. Métodos de eutanasia y aturdimiento. Recuperado de: https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/publicacions/2019-10/METODOS_DE_EUTANASIA_1.pdf

Niekerk, J. W. (2020). *Flush feeding is an effective aid in sheep farming*. Africa: AFGRI Animal Feeds. <https://www.afgrianimalfeeds.co.za/2020/02/28/flush-feeding-is-an-effective-aid-in-sheep-farming/?lang=en>

Nogueira, D. M., Eshtaeba, A., Cavalieri, J., Fitzpatrick, L. A., Gummow, B., Blache, D., & Parker, A. (2017). Short-term supplementation with maize increases ovulation rate in goats when dietary metabolizable energy provides requirements for both maintenance and 1.5 times maintenance. *Theriogenology*, 89, 97-105. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.10.014

Pajares, C. (2009). Reproducción y manejo reproductivo en cuyes. Recuperado de: <https://docplayer.es/18943205-Reproduccion-y-manejo-reproductivo-en-cuyes-cavia-porcellus.html>

Perera, A. (2012). Técnicas de eutanasia en animales de laboratorio. Recuperado de: https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2020-07/PR_CEUA_01_EUTANASIA_ANIMALES_DE_LABORATORIO_0.pdf

Plessis, C. (2016). *Flush feeding / Flushing*. Recuperado de <https://www.veekos.co.za/wp-content/uploads/2016/11/Flush-feeding.pdf>

ProviCo. (2023). *Feed Flushing*. Australia: ProviCo Rural. <https://www.provicorural.com.au/feed-flushing/>

Prunier, A., & Quesnel, H. (2000). Nutritional influences on the hormonal control of reproduction in female pigs. *Livestock Production Science*, 63(1), 1-16. doi: 10.1016/S0301-6226(99)00113-X

Quesenberry, K., & Donnelly, T. (2019). *Breeding and Reproduction of Guinea Pigs*. MSD Veterinary Manual. Recuperado de: <https://www.msdsvetmanual.com/all-other-pets/guinea-pigs/breeding-and-reproduction-of-guinea-pigs#:~:text=The%20estrous%20cycle%20length%20is,to%204%20is%20more%20common>

Rafiq, M., Sultani, M. I., Munir, M., & Arshid, A. (1990). Study of reproductive potential of Baluchi sheep on ranges in Baluchistan, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 3(3), 177-182. doi: 10.5713/ajas.1990.177

Reynaga, M. F., Vergara, V., Chauca, F., Muscari, J., & Higaonna, R. (2020). Sistemas de alimentación mixta e integral en la etapa de crecimiento de cuyes (*Cavia porcellus*) de las

razas Perú, Andina e Inti. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), 1-9. doi: 10.15381/rivep.v31i3.18173

Robinson, J., Ashworth, C; Rooke, J., Mitchell, L., & McEvoy, T. (2006). Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 259-276. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006

Rojano, W. V. (2016). *Evaluación del uso del flushing en la alimentación de cuyas primerizas y multíparas y su efecto en el tamaño de la camada al nacimiento* (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5514/1/17T1433.pdf>

Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., & Somchit, A. (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(4), 339-354. doi: 10.1051/rnd:2006016

Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Campbell, B. K., Driancourt, M. A., Dupont, J., Fortune, J. E., ... & Webb, R. (2011). Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 23, 444-467. doi: 10.1071/RD09161.

Sales, J. N. D. S., Iguma, L. T., Batista, R. I. T. P., Quintão, C. C. R., Gama, M. A. S., Freitas, C., ... & Baruselli, P. S. (2015). Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Journal of dairy science*, 98(5), 3086-3099. doi: 10.3168/jds.2014-8858

Schneider, J. E. (2004). Energy balance and reproduction. *Physiology & behavior*, 81(2), 289-317. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.02.007

Shomer, N. H., Holcombe, H., & Harkness, J. E. (2015). Biology and diseases of guinea pigs. In *Laboratory animal medicine* (pp. 247-283). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00006-7

Silvestris, E., Lovero, D., & Palmirotta, R. (2019). Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. *Frontiers in Endocrinology*, 10(346), 1-13. doi: 10.3389/fendo.2019.00346

Singha, S., Pal, P., Sahu, J., & Sharma, B. Effect of nutrition on fertility in cattle-an overview. *Editorial Board*, 18, 1(2), 18-23. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Shubham-Singha-2/publication/346962847_Effect_of_nutrition_on_fertility_in_cattle-an_overview/links/5fd460baa6fdccdb8bb0b15/Effect-of-nutrition-on-fertility-in-cattle-an-overview.pdf

Solorzano, J. D., & Sarria, J. A. (2014). *Crianza, producción y comercialización de cuyes*. Lima, Perú: MACRO. Recuperado de https://ebooks.arnoa.com/media/eb_0104/samples/9786123042424cap1-05.pdf

Somchit, A. (2011). Influence of Nutritional Management on Folliculogenesis in Ewes. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41, 25-29. Recuperado de http://www.ogr.vet.chula.ac.th/TSAR_2011_Final.pdf#page=26

Tinco, J., Quispe, U., & Zea, D. (2021). Asociación entre calidad de ovocitos recuperados y condición corporal en vacas criollas. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(3), 133-138. doi: 10.18271/ria.2021.294

Tomita, K., Ishii, T., Endo, N., & Tanaka, T. (2023). Effects of short-term dietary supplementation on the number of ovarian follicles, quantity and quality of oocytes, and in vitro embryo production in Japanese Black cows. *Journal of Reproduction and Development*, 69(2), 65-71. doi: 10.1262/jrd.2022-103

Usca, J., Flores, L., Tello, L., & Navarro, M. (2022). *Manejo general en la cría del cuy*. *Riobamba: ESPOCH*. Recuperado de <http://cimogsys.esPOCH.edu.ec/direccion-publicaciones/public/docs/books/2022-04-05-161827-Manejo%20general%20en%20la%20cria%20del%20cuy.pdf>

Useni, B. A., Muller, C. J. C., & Cruywagen, C. W. (2018). Effect of energy sources on ovarian follicular dynamics and oestrous activity of Holstein cows. *South African Journal of Animal Science*, 48(4), 643-650. doi: 10.4314/sajas.v48i4.6

Viñoles, C., Forsberg, M., Martin, G., Cajarville, C., Repetto, J., & Meikle, A. (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(3), 299-309. doi: 10.1530/rep.1.00536

Viñoles, C., Paganoni, B., Milton, J., Blache, D., Blackberry, M., & Martín, G. (2007). Los efectos estático e inmediato de la nutrición actúan en forma sinérgica para aumentar la tasa ovulatoria en ovejas Merino. *XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría*, 326-327. Recuperado de https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/226/JB2007_326-327.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vivas, J. (2013). Especies alternativas: Manual de crianza de cobayos (*Cavia porcellus*). Recuperado de: <https://cenida.una.edu.ni/textos/nl01v856e.pdf>

Wang, J., Liu, Z., Sun, Q., Xia, S., Cui, J., Yang, L., An, L., Zhang, J., Su, L., Su, Y., & Du, F. (2019). Combined treatment with cysteamine and leukemia inhibitory factor promotes guinea pig oocyte meiosis *in vitro*. *American Journal of Translational Research*, 11(12), 7479–7491. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6943477/>

Warzych, E. y Lipinska, P. (2020). Metabolismo energético del entorno folicular durante el crecimiento y maduración de los ovocitos. *Revista de Reproducción y Desarrollo*, 66 (1), 1-7. doi: 10.1262/jrd.2019-102.

Webb, R., Garnsworth, P., Gong, J. G., & Armstrong, D. G. (2004). Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science*, 82(13), 63-74. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/8243608>

Webb, E. C., Zak, L., & Krynauw, J. (2021). *The effect of flush feeding during lactation on sow reproductive efficiency, litter size, birth weight and within litter variation* (Doctoral dissertation, University of Pretoria). Recuperado de <http://hdl.handle.net/2263/80109>

Yildirim, M., Ülker, D., & Yaman, I. (2022). Effects of restricted nutrition and flushing on reproductive performance and metabolic profiles in sheep. *Livestock Science*, 258, 1-9. doi: 10.1016/j.livsci.2022.104870

Yu, W. H., Kimura, M., Walczewska, A., Karanth, S., & McCann, S. M. (1997). Role of leptin in hypothalamic–pituitary function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(3), 1023-1028. doi: 10.1073/pnas.94.3.1023

Zabuli, J., Tanaka, T., Lu, W., & Kamomae, H. (2010). Intermittent nutritional stimulus by short-term treatment of high-energy diet promotes ovarian performance together with increases in blood levels of glucose and insulin in cycling goats. *Animal Reproduction Science*, 122(3), 288-293. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.09.005

Zhou, D. S., Fang, Z. F., Wu, D., Zhuo, Y., Xu, S. Y., Wang, Y. Z., ... & Lin, Y. (2010). Dietary energy source and feeding levels during the rearing period affect ovarian follicular development and oocyte maturation in gilts. *Theriogenology*, 74(2), 202-211. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.02.002

Anexos



Anexo 1: Instalación del galpón



Anexo 2: Forraje trébol rojo y rye-grass



Anexo 3: Medición de la cantidad del concentrado



Anexo 4: Pesaje de la cantidad de forraje



Anexo 5: Alimentación de las cobayas



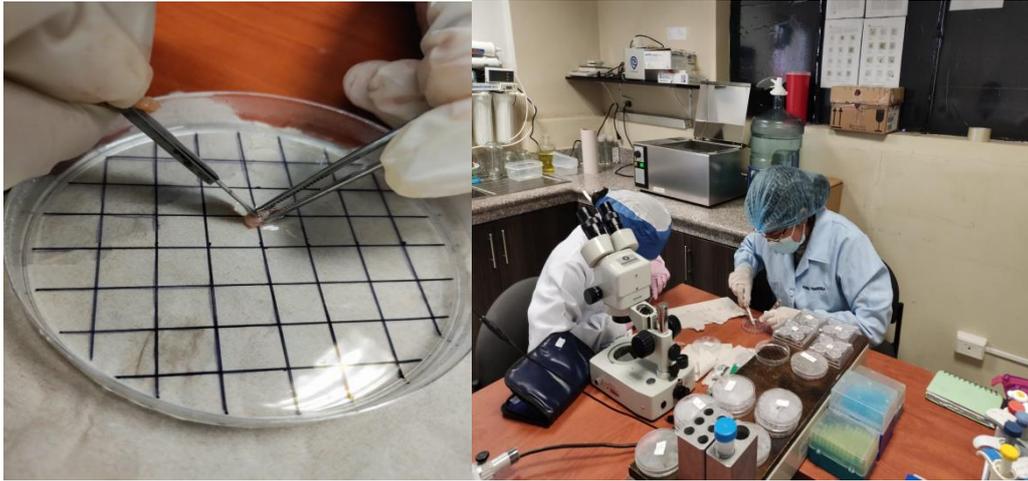
Anexo 6: Limpieza y desinfección de las pozas



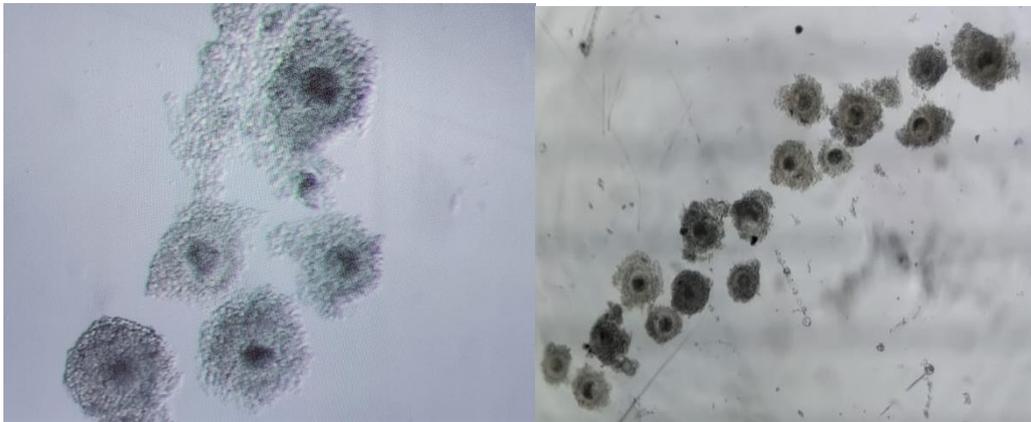
Anexo 7: Muestras de ovarios para histología



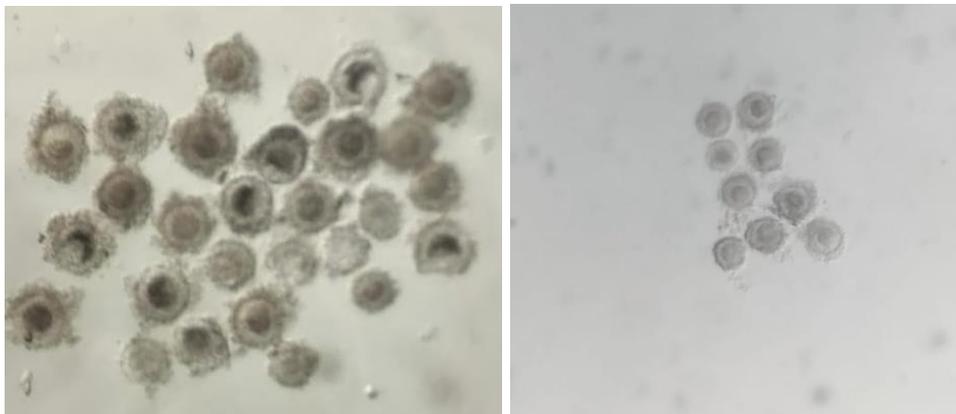
Anexo 8: Ovarios recolectados en cajas petri mantenidas a una temperatura de 38°C



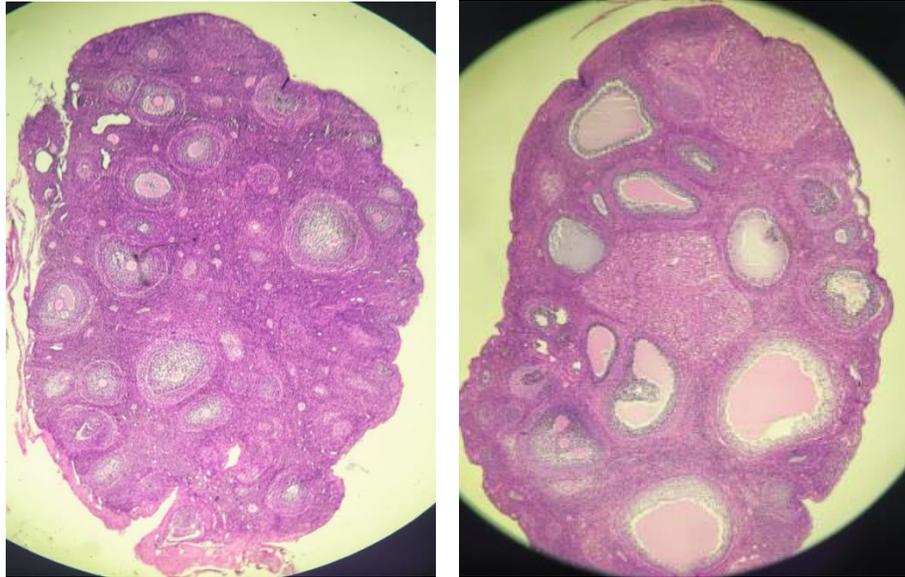
Anexo 9: Método de slicing



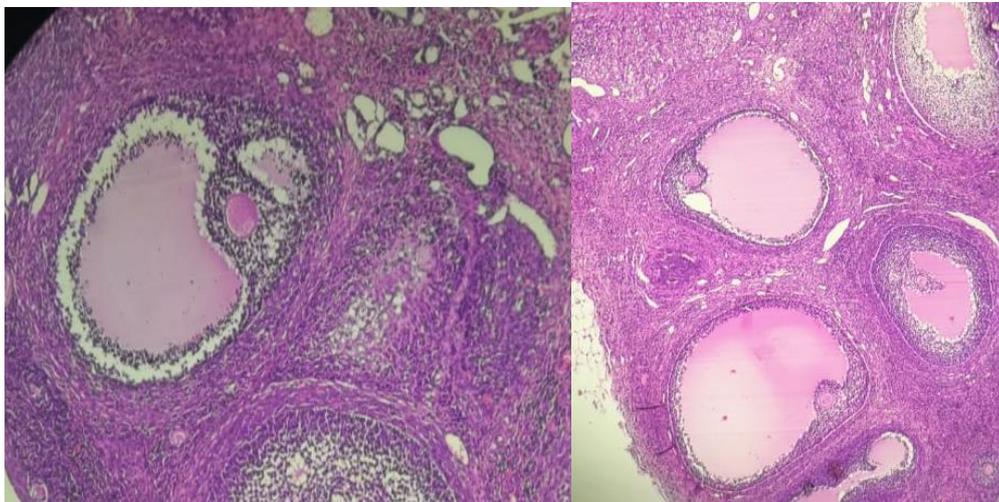
Anexo 10: Ovocitos de categoría A y B



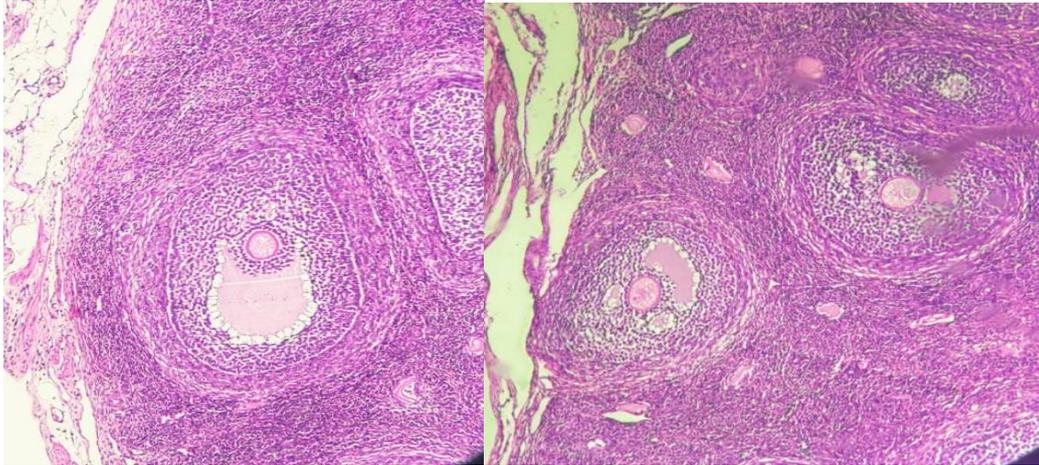
Anexo 11: Ovocitos de categoría C



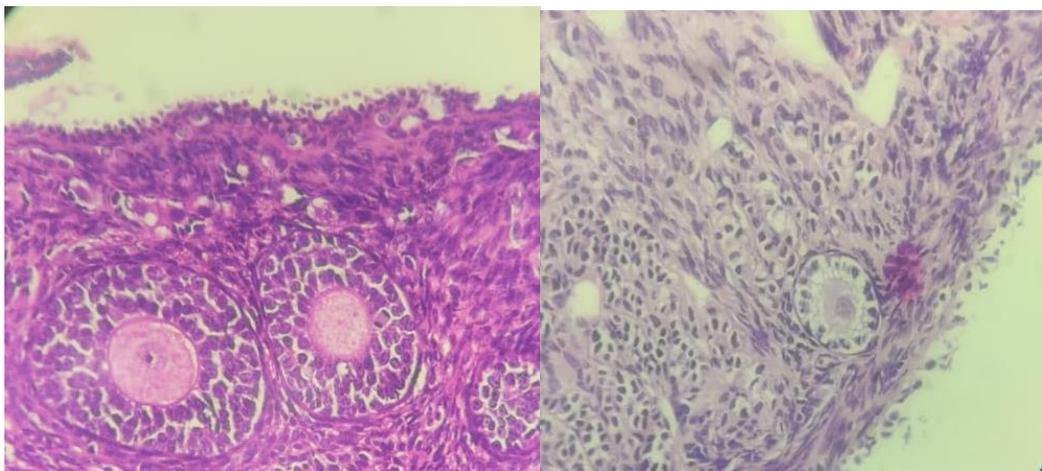
Anexo 12: Cortes histológicos de los ovarios



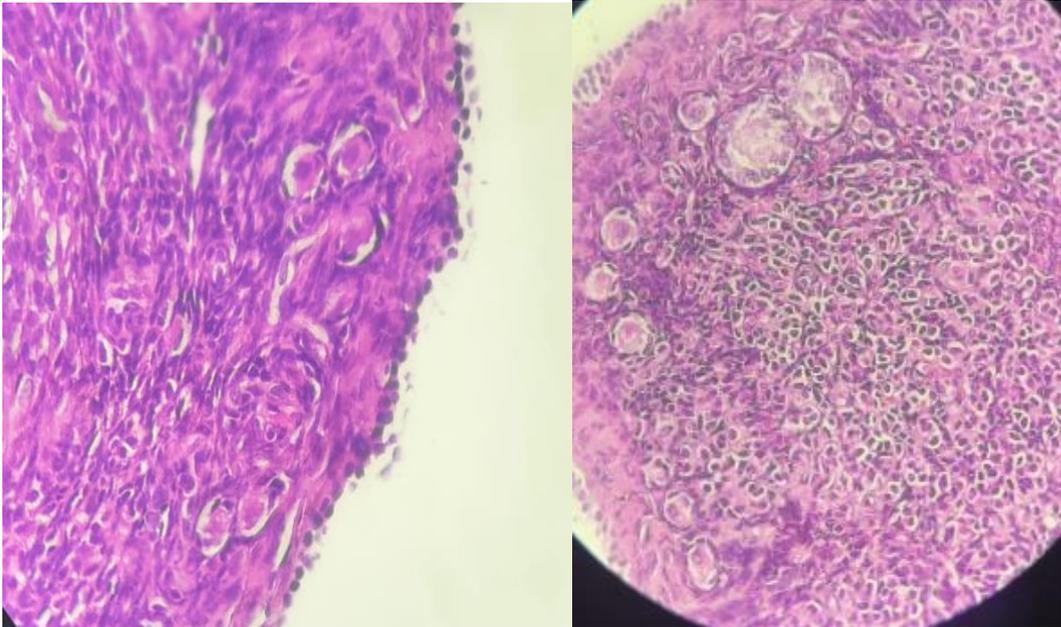
Anexo 13: Folículos antrales grandes



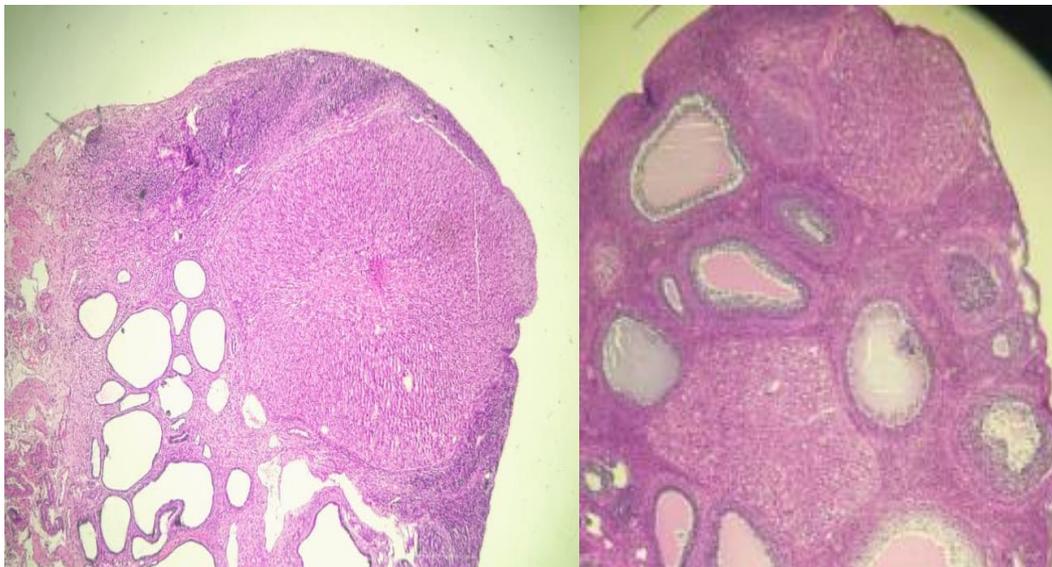
Anexo 14: Folículos antrales medianos y pequeños



Anexo 15: Folículos secundarios y primarios



Anexo 16: Folículos primordiales



Anexo 17: Corte histológico de cuerpos lúteos