Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

TITULO DEL PROYECTO

EFECTO DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS (GnRH) EXÓGENA PARA EL DESARROLLO GONADAL Y PRODUCCIÓN DE GAMETOS DE PERIQUITO AUSTRALIANO (*Melopsittacus undulatus*)

PRESENTA:

Biol. Samantha Anahí Cárcoba Pérez

COMITÉ TUTORAL:

Director de Tesis:	Dr. José Antonio Herrera Barragán.
Co Director:	Dr. Juan José Pérez Rivero Cruz y Celis.
Asesor:	Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez

Julio de 2019

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR

Dr. José Antonio Herrera Barragán

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DPAA, DCBS,

Profesor investigador Titular C

Co DIRECTOR

Dr. Juan José Pérez Rivero Cruz y Celis

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DPAA, DCBS,

Profesor investigador Titular C

ASESOR

Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DPAA, DCBS,

Profesor investigador Titular C

Jurado designado por la comisión académica de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana para la Tesis titulada **"EFECTO DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS (GnRH) EXÓGENA PARA EL DESARROLLO GONADAL Y PRODUCCIÓN DE GAMETOS DE PERIQUITO AUSTRALIANO (*Melopsittacus undulatus*)"** que presento:

Biol. Samantha Anahí Carcoba Pérez

JURADO DEL EXAMEN

PRESIDENTE

Dr. Miguel Ángel León Galván.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Biología, Área de Zoología.
Profesor investigador titular "C"

SECRETARIO

M. en C. Félix Domingo Sánchez Godoy.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Aves.

VOCAL

Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DPAA, DCBS,
Profesor investigador Titular "C".

DEDICATORIA

A mi mejor amigo, compañero de vida y aventuras, mi esposo, gracias Federico Martínez Hinojosa, por estar presente día a día y brindarme tu apoyo incondicional durante este y todos los caminos recorridos, así como por ser mi motivo de inspiración, por desvelarte conmigo y por estar ahí en las buenas y las malas, gracias, por estar ahí cuando nadie más estaba, sin ti, esto no podría haber sido posible, te amo con todo mi ser.

A mi querida hija Daphne, mi pequeña luz de fuerza, mi motor, inspiración y motivación diaria, ya que sin ti no podría haber logrado impulsarme día a día, esto es para ti.

A mi madre Claudia Pérez Landaverde, gracias por mejorar esos días obscuros, por alentarme a seguir adelante con este trabajo cuando ya no tenía fuerzas, gracias por siempre estar a mi lado apoyándome, además por ayudarme a levantar cuando me hizo falta, te quiero muchísimo.

A mi querido padre Enrique Carcoba Fernández, por siempre estar ahí, por esos sabios consejos que me ayudaron mucho a serenarme durante los días malos, por siempre mostrarme una actitud positiva para enfrentar este objetivo de una manera más objetiva, jamás habría logrado tanto sin tu ayuda.

A mis hermanos Ian Alberto y Jahir Alejandro, a mis familiares y amigos que me brindaron su apoyo, compañía y consejos, muchísimas gracias, los adoro.

AGRADECIMIENTOS

Dr. José Antonio Herrera Barragán, con gran admiración, le agradezco por creer en mí, por sus sabios consejos y ayuda durante todo el trabajo y realización de la tesis, por ser un gran maestro y guía durante todos estos años, por enséñame que no hay metas inalcanzables y que, con perseverancia y ganas de trabajar, se puede alcanzar cualquier cosa, pero más que nada, por la amistad brindada la cual fue una gran motivación durante todo este camino.

Al Dr. Juan José Pérez Rivero Cruz y Celis por su gran sentido del humor ya que las horas de trabajo se hacían más amenas, por ser un gran ser humano y enseñarme a ir para adelante, además de brindarme su tiempo y sus grandes enseñanzas durante la realización de todo el proyecto, por siempre brindarme su ayuda y disposición incondicional durante todo el posgrado.

Al Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez por su orientación, buen humor y apoyo incondicional para la realización del proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada número 842028, para la realización de los estudios correspondientes.

A la Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco, que me brindó la oportunidad de realizar el proyecto en sus instalaciones.

Al programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, que pertenece al Programa Nacional de Posgrados.

Al laboratorio Cirugía Experimental del Departamento de Producción Agrícola y Animal de que apoyaron la realización del trabajo teniendo instalaciones equipadas y adecuadas para la realización del trabajo.

A mi querido grupo de trabajo, Fernanda, Ricardo, Karen (mi sensei), y José Manuel, por su gran ayuda, por brindarme su amistad y compañía, por estar ahí en las buenas y las malas durante todo el experimento y redacción de tesis.

A mis profesores de posgrado, Dra. Lupita y Dr. Castillo que ayudaron a mi formación académica, además de orientarme y apoyarme siempre que lo necesite.

A la Dra. Marcela Vergara, por su ayuda, apoyo y disposición durante los dos años del posgrado.

ÍNDICE

RESUMEN I
ABSTRACT II
INTRODUCCIÓN III
CAPÍTULO 1. MARCO DE REFERENCIA 1
1.1 Los vertebrados 1
1.2 Biología de los psitácidos 1
1.2.1 Los psittaciformes 1
1.2.2 Especies psittaciformes en México 2
1.3 Marco legal internacional 3
1.3.1 Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestres (CITES) 3
1.3.2 Marco legal en México 3
1.3.2.1 Programa de recuperación de especies prioritarias (PRERP-PSITÁCIDOS) 4
1.3.2.2 Ley general de vida silvestre (LGVS) 4
1.3.2.3 NOM-059 SEMARNAT-2000 4
1.4 Posesión de aves en cautiverio 5
1.4.1 Comercialización mundial de aves 5
1.5 Tráfico ilegal mundial de aves 6
1.5.1 Tráfico ilegal de aves en México 6
1.6 Conservación y aprovechamiento sustentable 7
1.7 Periquito australiano (*melopsittacus undulatus*) 7
1.7.1 Descripción del periquito australiano 8
1.7.2 Distribución geográfica y hábitat 8
1.7.3 Alimentación 8
1.7.4 Comportamiento social y reproductivo 8
1.7.5 Periquito australiano como modelo de estudio 9
1.7.6 Estudio de la fisiología del periquito australiano y su importancia económica y de conservación 9
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO 10
2.1 Reproducción en vida libre de los psittaciformes 10
2.1.1 Estacionalidad 10
2.1.2 Fotoperiodo 11
2.2 Morfofisiología del sistema reproductor de las aves 13
2.2.1 Morfofisiología del sistema reproductor de la hembra 14
2.2.2 Morfofisiología del sistema reproductor del macho 17
2.2.3 Neuroendocrinología 22
2.3 Técnicas de reproducción asistida en aves 23
2.3.1 Uso de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) 23
2.4 Obtención seminal 24

2.4.1 Evaluación seminal básica 25
2.5 Evaluación del desarrollo gonadal 25
2.5.1 Ultrasonografía 26
2.5.2 Laparoscopía 26
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN 27
CAPITULO 4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 27
CAPITULO 5. OBJETIVOS 27
CAPÍTULO 6. HIPOTESIS 27
CAPÍTULO 7. MATERIAL Y METODOS 27
7.1 Bienestar animal 28
7.2 Aves 28
7.3 Diseño experimental 28
7.4 GnRH Heterologa RELINA 500 29
7.4.1 Tratamiento hormonal 29
7.5 Evaluación conductual y de caracteres sexuales 29
7.6 Diagnostico ultrasonográfico 30
7.6.1 Procedimiento anestésico 30
7.6.2 Evaluación del desarrollo ovárico y folicular 31
7.6.3 Evaluación del desarrollo testicular 32
7.6.4 Evaluación de la densidad testicular por pixeles 33
7.7 Obtención testicular 34
7.7.1 Evaluación histológica testicular 34
7.7.2 Evaluación morfométrica de vasos sanguíneos testiculares 36
7.8 Obtención y recolección seminal 36
7.8.1 Determinaciones de evaluación espermática 37
7.9 Análisis estadístico 38
CAPÍTULO 8. RESULTADOS 39
8.1 Conducta e indicadores reproductivos 39
8.2 Evaluación ultrasonográfica del tamaño gonadal 41
8.2.1 Densidad testicular por pixeles 43
8.3 Caracterización Morfohistológica testicular 44
8.3.1 Vascularidad testicular 45
8.4 Evaluación espermática 46
CAPÍTULO 9. DISCUSIÓN 47
9.1 Evaluación conductual y de caracteres sexuales 47
9.2 Evaluación ultrasonográfica del desarrollo gonadal 48
9.3 Densidad testicular por pixeles 48
9.4 Morfometría testicular 49
9.5 Evaluación vascular testicular 49
9.6 Evaluación espermática básica 50
CAPÍTULO 10. CONCLUSIÓN 51

BIBLIOGRAFÍA 52
ARTÍCULO CIENTIFICO 61
CURSOS, ASISTENCIA Y PARTICIPACIONES EN CONGRESOS 80

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.- Fotoperiodo en aves. 13
Imagen 2.- Aparato reproductor de la hembra. 14
Imagen 3.- Función de las hormonas reproductivas en la hembra. 15
Imagen 4.- Ovario con presencia folicular en aves. 16
Imagen 5.- Aparato reproductor del macho. 18
Imagen 6.- Función de las hormonas reproductivas en machos. 19
Imagen 7.- Proceso de espermatogénesis en aves. 20
Imagen 8.- Espermatozoide de aves. 21
Imagen 9.- RELINA (gonadorelina) 500® PiSA AGROPECUARIA, México. 29
Imagen 10.- Equipo del Laboratorio de cirugía experimental. 30
Imagen 11.- Inducción anestésica en periquitos australianos. 31
Imagen 12.- Monitoreo de signos vitales en periquito australiano. 31
Imagen 13.- Procedimiento ultrasonográfico en hembras. 32
Imagen 14.- Procedimiento ultrasonográfico en machos. 32
Imagen 15.- Valoración de la densidad testicular por pixeles 33
Imagen 16.- Morfometría del túbulo seminífero y medición del epitelio germinal de periquito australiano. 35
Imagen 17.- Caracterización y conteo de células germinales del túbulo seminífero de periquito australiano. 35
Imagen 18.- Vasos sanguíneos testiculares de periquito australiano. 36
Imagen 19.- Técnica de obtención y recolección seminal. 37
Imagen 20.- Espermatozoide teñido con eosina nigrosina. 38
Imagen 21.- Evaluación ultrasonografica gonadal en machos y hembras de periquito australiano. 42

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.-Comportamiento sexual y conductual en machos 39
Tabla 2.-Comportamiento sexual y conductual en hembras 40
Tabla 3.-Desarrollo gonadal de machos y hembras 41
Tabla 4.- Evaluación del grosor del epitelio germinal testicular por pixeles 43
Tabla 5.- Conteo celular y caracterización del túbulo seminífero 44
Tabla 6.- Área de vasos sanguíneos testiculares 45
Tabla 7.- Variables de evaluación seminal básica 46

RESUMEN

En las aves psitácidas, las técnicas de reproducción asistida constituyen una herramienta de utilidad para la conservación de muchas especies en cautiverio o en vida libre que pueden o no estar en peligro de extinción, así como para maximizar la producción de aves destinadas a la comercialización. La preservación de especies en peligro de extinción que se encuentran en cautiverio, es complicada debido a factores tales como la estacionalidad y la monogamia, por lo tanto, saber si un ave está en un estado reproductivo activo es importante. Las hormonas del cerebro provenientes del hipotálamo, estimulan los órganos sexuales los cuales entran en actividad reproductiva. En aves, La GnRH es la principal hormona en el control de la fisiología reproductiva, ya que es la encargada de la liberación de las hormonas FSH y LH. Se sabe que existen 3 tipos de GnRH, la GnRHI que es la que producimos los vertebrados de manera natural a partir de receptor, la GnRHII que es la que se encuentra ligada a la hormona LH y se encuentra presente en etapa no estacional, ejerciendo un papel de retroalimentación negativa y la GnRHIII que aún no ha sido descrita del todo. El objetivo de este estudio fue valorar la influencia de la aplicación exógena, de la hormona análoga GnRHI como dosis única (3 µg/Kg b.w.) durante la época no reproductiva del periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*). Los efectos de la inducción hormonal sobre el desarrollo gonadal así como la densidad testicular, fueron evaluados por ultrasonografía en machos y hembras, del grupo control y del grupo tratado con GnRH, las modificaciones de desarrollo gonadal fueron observadas entre las aves con administración de GnRH como una dosis única, se detectó incremento del tamaño testicular y ovárico, así como mayor evolución folicular, en comparación con los grupos no tratados, en cuanto a densidad testicular, los resultados mostraron testículos heterogéneos con punteado prominente y con parénquima anecoico asociado a mayor producción espermática. Mediante histología y morfometría testicular, se evaluaron los efectos que presento la hormona sobre el incremento en la proliferación celular dentro de los túbulos seminíferos, donde los ejemplares tratados presentaron proliferación celular evidente teniendo con esto una activación del proceso de espermatogénesis, produciendo este efecto, un incremento en la red vascular evaluado por medición perimetral de vasos sanguíneos testiculares. Se determinó que los ejemplares del tratamiento obtuvieron un incremento de la concentración espermática, así como entre 80 y 90 % de viabilidad mediante evaluación seminal básica. Se concluye que la administración de GnRH exógena puede representar un tratamiento innovador y práctico para inducir la actividad reproductiva, así como el crecimiento gonadal y calidad de gametos del periquito australiano en etapa no estacional.

PALABRAS CLAVE. Psitácidos, Fisiología reproductiva, GnRH, Gónada, Histología.

ABSTRACT

In psittacine birds, assisted reproduction techiniques constitute an useful tool for conservation of many captive or wildlife species that may be or not endangered, as well as to maximize the production of birds intended for commercialization. Preservation of endangered species which are kept in captivity is complicated due to factors such as seasonality and monogamy, therefore knowing if a bird is in active reproductive state is important. Brain hormones coming from hypothalamus stimulate sexual organs which start reproductive activity. In birds, GnRH is the main hormone in the control of reproductive physiology, as it is the one in charge of the liberation of hormones FSH and LH. It Is known that there are 3 GnRH types, GnRHI which is the one produced naturally by vertebrates from a reciever, GnRHII that is the one linked to hormone LH and it is found in non seasonal stage, performing a negative feedback stimulus and GnRHIII which has not been described completely. The aim of this study was to asses the influence of the exogenous application of the analogous hormone GnRHI as unique dose (3 µg/kg b.w) during the non reproductive period of the budgerigar (*Melopsittacus undulatus).* Effects of the hormonal induction on gonadal development as well as testicular density were tested with ultrasonography in males and females of the control group and the treated group with GnRHI, modifications of the gonadal development were observed among birds which received the GnRHI unique dose, it was detected increased testicular and ovaric growth and a higher folicular evolution, compared with non treated groups; in terms of testicular density, results showed heterogeneous testes with prominent dotted and anechoic parenchyma associated to a higher spermatozoa production. Through histology and testicular morphometry, the effects of the hormone showed in celular proliferation within the seminiferous tubules were evaluated, where treated birds showed evident celullar proliferation thus having an activation of spermatogenesis and an increase in vascularization evaluated with perimeter measurement of testicular blood vessels. It was determined that birds with the treatment obtained an increase in spermatic concentration, as well as between 80 and 90% viability through basic seminal evaluation. It is concluded that giving exogenous GnRH can represent an innovative and practical treatment to induce reproductive activity, as well as the gonodal growth and quality of gametes of budgerigar in a non seasonal stage.

KEY WORDS: Psittacines, Reproductive physilogy, GnRH, Gonad, Histology

INTRODUCCIÓN

En el mundo existen 9271 especies de aves siendo 398 psitácidos (Dickinson, 2003). Actualmente cerca del 31% de especies de psitácidos neotropicales se encuentran en riesgo de extinción (Collar, *et al*., 1994). México cuenta con 22 especies de psitácidos de las cuales, el 95% se encuentra en alguna categoría de riesgo según la NOM-059-ECOL-2010. Entre las causas que ha llevado a estas especies a encontrarse dentro de estas categorías destacan la perdida, fragmentación y degradación del hábitat principalmente aquel relacionado con la reproducción, así como la extracción de ejemplares para el comercio y las matanzas de grandes grupos en las zonas de cultivo (Iñigo-Elias & Ramos, 1991).

En México se aprobó el Programa de Recuperación de especies Prioritarias PREP - PSITÁCIDOS en 1994, que promovía el aprovechamiento sustentable de especies mexicanas de psitácidos (SEMARNAP, 1994). Sin embargo, en el año 2000 se decretó el artículo 60 BIS 2 de la Ley General de Vida Silvestre (LGVS), el cual menciona que ningún ejemplar de ave correspondiente a la familia psittacidae, cuya distribución natural sea dentro del territorio nacional, podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales (LGVS, 2000).

El tráfico ilegal de especies en el mundo y en México existe y se incrementa año tras año, siendo los Psitácidos el grupo más demandado. En 5 años a Estados Unidos se importaron 703,000 psitácidos y en 1997 México continuaba siendo la mayor fuente de contrabando de aves silvestres para los Estados Unidos. Para el tráfico interno de aves silvestres en México, del año 2000 al 2003 se reportaron 104,530 psitácidos capturados para el mercado doméstico, como consecuencia de lo anterior las poblaciones silvestres de psitácidos en el territorio nacional se han visto fuertemente impactadas (Iñigo-Elias, 1996). A pesar de los decomisos que realiza la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA, 2014 a), únicamente se aseguraron en el año 2005 el 2% total de los psitácidos capturados anualmente (Cantú & Sánchez, 2012).

En la actualidad, la reproducción de psitácidos en cautividad o en vida silvestre, no se da a niveles deseables, ya que se presentan alteraciones que impiden que la mayoría de las especies lleven a cabo el proceso reproductivo natural, debido a las diversas interacciones con el hombre (Iñigo-Elias, 1996).

El estudio de la fisiología reproductiva aviar es importante para la reproducción en cautiverio, ya que ayuda a entender los cambios que experimentan las especies al ser manipuladas fuera de su medio natural y pueden presentar alteraciones fisiológicas y con esto afectar directamente su reproducción (Gutiérrez, 1999). La mayoría de las especies que habitan gradualmente lejanas al ecuador, experimentan adaptaciones fisiológicas a los cambios ambientales estacionales, circanuales y circadianos teniendo estos un efecto de fotoperiodo en la fisiología reproductiva de las aves (Brandstätter, 2003). El fotoperiodo activa la reproducción por medio de la síntesis de melatonina y esta a su vez ejerce un estímulo sobre la

adenohipófisis para la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH (Tsutsui, *et al*., 2013). La GnRH, es la principal hormona encargada de la reproducción y es secretada de manera natural estimulando la liberación de gonadotropinas, hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), reguladas por un oscilador neural, que las libera al sistema portal hipotálamo-hipofisario, de manera pulsátil, las cuales actúan a nivel gonadal en las hembras y en los machos (Anand & Samborlang, 2018).

Para contribuir con la conservación existen estrategias complementarias, entre ellas se incluye la cría en cautividad, el desarrollo de bancos de recursos genéticos y el uso de biotecnologías reproductivas que se adaptan de manera específica para cada especie y con el desarrollo tecnológico y científico, ha sido posible ayudar a su rápido desarrollo (Herrera, *et al*., 2013).

El periquito australiano ha sido seleccionado como modelo biológico por diversas razones, al ser uno de los dos principales psitácidos genuinamente domesticados junto con el *Agapornis roseicollis*, es el psitácido que comúnmente se utiliza como macota y que se ha criado en cautiverio desde 1850 (Gil, 2016). Es un ave ornamental que presenta selección artificial durante años por Inglaterra y que en la actualidad, sigue seleccionándose (Bradshaw & Engebretson, 2013). El *melopsittacus undulatus*, es un ave relativamente pequeña se le puede alojar con varios individuos en un espacio pequeño, la manipulación es fácil, la atención veterinaria y el mantenimiento es bajo, además de que existen múltiples trabajos antecedentes entre los cuales se encuentran temas como nutrición, biología, genética, reproducción entre otros, que muestran resultados y protocolos aplicables para desarrollar técnicas que pueden ser aplicadas a otras especies de psitácidos de mayor valor genético (Calderón, *et al*., 2015).

CAPÍTULO 1. MARCO DE REFERENCIA

1.1 LOS VERTEBRADOS

Esta agrupación de 7 clases diferentes, une animales considerablemente distintos pero todos relacionados por algunas afinidades:

a) El cuerpo está dividido en cabeza, tronco y cola
b) En la cabeza se encuentran la boca, el cerebro y órganos de los sentidos
c) Está presente un esqueleto óseo y cartilaginoso
d) El aparato circulatorio está formado por el corazón, las venas y las arterias
e) Para la respiración se utilizan los pulmones y conectados con la cavidad bucal mediante los bronquiolos, los bronquios, la tráquea y la laringe
f) El aparato digestivo está dividido en esófago, estómago e intestinos
g) Para la reproducción la producción de gametos en el macho se realiza en los testículos, mientras que en la hembra se lleva a cabo en los ovarios

El sistema nervioso es un complejo sistema de nervios que parten del encéfalo y de la medula espinal (Gismondi, 1999). Dentro de los vertebrados se encuentra la clase aves y dentro de la misma la de los neognatos, que comprende la mayoría de las aves, se trata de animales de sangre caliente, con una temperatura corporal constante gracias a la cobertura de plumas, la reproducción tiene lugar por medio de los huevos y los pollos recién nacidos son alimentados con alimento regurgitado por los padres (Gismondi, 1999).

Las extremidades anteriores están transformadas en alas y el vuelo se hace posible gracias a un esternón carenado que ofrece un punto solido de fijación para los músculos pectorales, también para facilitar el vuelo, el esqueleto es aligerado por las cavidades aéreas que se encuentran en cierto número de huesos y el pico corneo está constituido por las mandíbulas superiores transformadas (Gismondi, 1999).

Para el subreino de neognatos se cuenta con 28 órdenes diferentes entre ellos el de los psitaciformes (Hickman, *et al*., 2006).

1. 2 BIOLOGÍA DE LOS PSITÁCIDOS

El naturalista sueco Karl VorLinné (1707-1778), fue quien ordenó y clasificó a los animales conocidos en su época según un criterio aun valido en la actualidad.

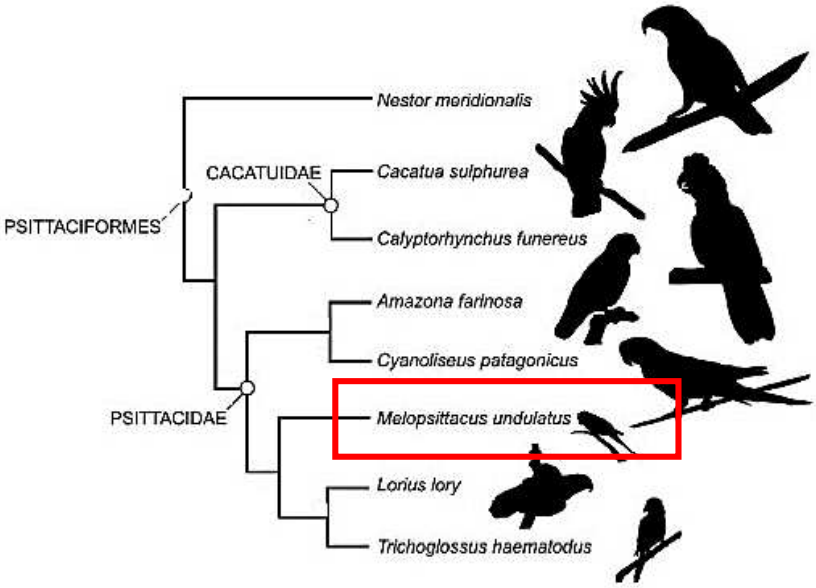
1.2.1 LOS PSITTACIFORMES

En este orden se encuentra la familia de las psitácidas, que agrupa 80 géneros distintos para un total de 370 especies difundidas por todas las regiones tropicales, el orden de los psitaciformes se destaca por su plumaje colorido, la capacidad de aprendizaje, su vocalización y su carácter carismático (White, *et al*., 2011).

La longitud puede variar de los 8 a los 95 cm mientras que la cabeza es siempre grande con respecto al cuerpo y se mantiene erguida gracias a un cuello corto y grueso, el pico es robusto y muy encorvado, la mandíbula superior articulada permite libertad de movimiento, la lengua es corta, carnosa y sirve para sentir mejor el sabor del alimento, las patas son cortas y tienen dedos hacia adelante, el primero y el cuarto dedo hacia atrás para asegurar un aferramiento sólido (Gismondi, 1999).
Los psitácidos han colonizado las zonas tropicales y sub tropicales de tierra: México, Sudamérica, África, India, Indonesia y Australia y han sido capaces de adaptarse a la mayoría de las condiciones climáticas (White, *et al.*, 2011). Las modificaciones de su hábitat, la caza furtiva y el comercio ilegal son las principales causas de su amenaza y debido a esto, 85 especies figuran como críticas, amenazadas o vulnerables y 19 como extintas por la unión internacional de la conservación de la naturaleza (IUCN, 2018).

TAXONOMÍA

Reino: Animal
Subreino: Metazoos
Filo: Chordata
Subfilo: Vertebrata
Clase: Aves
Sub clase: Neognatos
Orden: Psittaciformes
Familia: *Loriidae* (Lóridos)
Familia: *Cacatuidae* (Cacatúas)
Subfamilias: *Cacatuidae y Nymphicinae*
Familia: Psittacidae (Psitácidos)
Subfamilias: *Stringopinae, Psittacinae, Micropsittinae y Nestorinae*



1.2.2 ESPECIES PSITTACIFORMES EN MÉXICO

De las 9,271 especies de aves existentes en el mundo, 398 psitácidos (Dickinson, 2003).
La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, indica que en México la familia de los psitácidos está representada por 22 especies cuya distribución natural se encuentra dentro del territorio nacional.
Así mismo la NOM-059-SEMARNAT-2010 señala que, de las 22 especies, 7 son endémicas de México, 11 se encuentran en peligro de extinción, 6 en amenaza y 4

bajo protección especial. En general el 95% de los psitácidos nacionales se encuentran en alguna categoría de riesgo.
Estas especies se hallan distribuidas en 26 estados de la República (Sonora, Chihuahua, Sinaloa, Durango, Nayarit, Jalisco, Colima, Zacatecas, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Veracruz, Coahuila, Tabasco, Campeche, Chiapas, Yucatán, Quintana Roo, México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Morelos). De éstas, seis especies y dos subespecies son endémicas para México: el perico mexicano (*Aratinga holochlora*), el perico de Socorro (*A. brevipes*), la cotorra serrana oriental (*Rhynchopsitta terrisi*), el perico catarina (*Forpus cyanopygius*), el loro tamaulipeco (*A. viridigenalis*), el loro corona lila (*A. finschi*); y entre las subespecies: el perico catarina de las Islas Marías (*F.c. insularis*) y el loro cabeza amarilla de las Islas Marías (*A. oratrix tresmariae*) (Howell & Webb, S., 1995; Juniper & Parr, M., 1998).

1.3 MARCO LEGAL INTERNACIONAL

1.3.1 CONVENCIÓN SOBRE EL COMERCIO INTERNACIONAL DE ESPECIES AMENAZADAS DE FLORA Y FAUNA SILVESTRES (CITES).

La convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre por sus siglas en inglés CITES, es un acuerdo internacional concretado entre los gobiernos, cuya finalidad es velar por el comercio internacional de especímenes de animales y plantas silvestres que no constituya una amenaza para su supervivencia, se firmó en 1975 y México se unió en 1991. Cada parte tiene designada una autoridad administrativa, para México, es la Dirección General de Vida Silvestre dependiente de La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales SEMARNAT, la cual se encarga de administrar el sistema de concesión de permisos y certificados, así como a su vez la constituyen varias autoridades científicas, como lo son La Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad CONABIO que se encarga de prestar asesoramiento acerca de los efectos del comercio, así como la situación actual de las especies. En cuanto a la aplicación de la ley en el marco de la CITES, así como en temas relacionados con la vida silvestre, la autoridad responsable es la PROFEPA.

1.3.2 MARCO LEGAL EN MÉXICO

Incluye reglamentos, normas, acuerdos internacionales, planes nacionales y disposiciones gubernamentales tales como la Ley Federal de Caza (1970), la Ley General de Vida Silvestre (LGVS, 2000), la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA, 2012), el Programa de Conservación de Especies en Riesgo (PROCER), el Programa de Recuperación de Especies Prioritarias (PREP- Psitácidos, 1994) y la NOM-059-SEMARNAT-2010, los cuales ayudan a promover la protección y el uso sostenible de los recursos naturales mexicanos,

incluyendo flora y fauna, así como también ayudan a establecer el marco para la gestión, uso y aprovechamiento de los recursos silvestres en México.

1.3.2.1 PROGRAMA DE RECUPERACIÓN DE ESPECIES PRIORITARIAS (PREP- PSITÁCIDOS)

Documento que describió el Proyecto de Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de los Psitácidos de México, el cual fue preparado por miembros de la sociedad y el gobierno a través del subcomité técnico consultivo para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de los psitácidos de México. Este instrumento fue promovido de manera inicial por la Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP, 1994), a través de la Dirección General de Vida Silvestre del Instituto Nacional de Ecología. La SEMARNAP creó el Comité Técnico Consultivo Nacional para la Recuperación de Especies Prioritarias, como órgano consultivo para establecer las bases para planificar, promover e integrar las acciones y estudios relacionados con la recuperación de especies prioritarias, así como de su hábitat. Dentro de este marco jurídico se establecieron los lineamientos de dichos Subcomités para las Especies Prioritarias, incluyendo el Subcomité de psitácidos. Sin embargo, el PREP, fue cancelado por modificaciones a la ley general de vida silvestre (LGVS, 2000).

1.3.2.2 LEY GENERAL DE VIDA SILVESTRE (LGVS)

Esta ley es relativa a la conservación y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre y su hábitat en la república mexicana y en las zonas donde la nación ejerce jurisdicción.

En el artículo 60 de la Ley General de Vida Silvestre-2000, se dicta la conservación y protección a las especies y poblaciones en riesgo, en este mismo el 26 de junio de 2006, se realizó una modificación al artículo, agregando Bis 2 que decreta que **“ningún ejemplar de ave correspondiente a la familia psittacidae o psitácido, cuya distribución sea dentro del territorio nacional, podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales**”.

La observación del marco jurídico en materia ambiental es responsabilidad de la PROFEPA a través de la verificación e inspección.

1.3.1.3 NOM-059-SEMARNAT- 2000

Su propósito es promover protección legal a las especies silvestres de flora y fauna amenazadas en el territorio nacional. Esta norma es resultado de la necesidad de actualizar la información disponible sobre las especies y así aplicar un método general, unificado y coherente, para considerar los distintos grupos taxonómicos y así determinar las categorías de riesgo de las especies mexicanas. En la actualización de la NOM-059 publicada en 2001, refinaron los métodos y

mecanismos para categorizar de manera más precisa a las especies, mediante la aplicación del Método de Evaluación de Riesgo de Extinción de Especies Silvestres de México (MER).

LAS CATEGORÍAS DE RIESGO DE LA NOM-059-2010 son:
Probablemente extinta en medio silvestre (E)
En peligro (P)
Amenazada (A)
Sujeta a protección especial (Pr)

1.4 POSESIÓN DE AVES EN CAUTIVERIO

La creciente popularidad en el uso de aves silvestres como animales de compañía no convencionales, ha demandado un mayor interés y estudio en todo lo concerniente a la medicina veterinaria y biología de estos animales. Hasta hace unas décadas el desarrollo de la medicina aviar a nivel mundial había sido dirigido solo a aves de producción como pollo, pavos, patos y codornices criadas en grandes lotes, recientemente se ha desarrollado medicina destinada a ejemplares silvestres, debido al gran valor económico que alcanzan ciertas especies de psitácidos especialmente en países desarrollados como Estados Unidos y algunas regiones de Europa (Cruz, *et al*., 2008).
Entre las aves más comercializadas como mascotas se encuentran las de orden psitaciformes, entre ellas: guacamayas, cacatúas, periquitos australianos, loros, ninfas y loros africanos (Cruz, *et al*., 2008).

1.4.1 COMERCIALIZACIÓN MUNDIAL DE AVES

La venta de aves para mascotas se estimaba que en los años 70s, 7.5 millones de ejemplares de aves silvestres se comercializaban, mientras que para la década de los noventas se consideraba que este mercado movilizaba entre 2 y 5 millones de ejemplares por año de aves ornamentales y canoras (PROFEPA, 2014 b).En los años recientes, estos valores se han reducido a 1.5 millones de aves, debido a la aplicación de regulaciones internacionales relacionadas con la conservación de especies. Aproximadamente 2,600 de las 9,600 especies existentes, han sido registradas en el comercio siendo los paseriformes y los psitaciformes los que han dominado el mercado mundial con un 90% y un 20% de participación. Como resultado de las restricciones impuestas a la importación de aves silvestres en los Estados Unidos, la Unión Europea pasó a ser el mayor mercado de aves silvestres en 1992. Entre los años 2000 y 2003 esta región recibió en total 2.8 millones de aves silvestres vivas de especies comprendidas en la CITES, sin considerar especies excluidas del tratado, representando este comercio el 90% de las importaciones registradas a nivel mundial para dicho periodo (FAO, 2009).

1.5 TRÁFICO ILEGAL MUNDIAL DE AVES

Para el tráfico internacional de animales, el grupo más demandado es el de las aves, donde los psitácidos (guacamayas, loros y cotorras) han soportado hasta el 90% de dicho comercio, según evaluaciones de los últimos 20 años. La cotorra de frente roja (*Amazona viridigenalis*) y el loro real (*Amazona ochrocephala*) son las especies más traficadas con un saldo de hasta 100 mil aves por año lo que equivale al 70% aproximadamente del total comercializado ilegalmente (SEMARNAT, 2010).

El contrabando de especies es la segunda mayor amenaza mundial para la vida silvestre, después de la destrucción de su hábitat (PROFEPA, 2014 b).

1.5.1 TRÁFICO ILEGAL DE AVES EN MÉXICO

México juega un papel trascendente en la extracción y comercio ilícito de vida silvestre (PROFEPA, 2014 b).

El tráfico ilegal, tuvo como consecuencia que entre los años 70s y 80s, México fuera el mayor exportador de aves vivas para el comercio de mascotas provenientes de los países del Neo trópico, exportando en promedio 14,500 psitácidos mexicanos anualmente a los Estados Unidos (Reuter & Mosig, 2010). Aunado a la explotación de la avifauna nacional, nuestro país juega otra función como puente entre Centro y Sudamérica para el mercado ilegal de fauna silvestre, ya que se aprovecha la extensa frontera que hay entre México y Estados Unidos, donde los psitácidos son muy apreciados y tienen una demanda muy alta como mascotas (Cantú & Sánchez, 2012). Entre 1981 y 1985, Estados Unidos importó 703,000 psitácidos, y todavía en 1987 México continuaba siendo la mayor fuente de contrabando de aves silvestres para los Estados Unidos. Se estima que cada año, 150,000 aves aproximadamente, principalmente psitácidos, fueron contrabandeados a lo largo de la frontera entre México y los Estados Unidos, esto sin olvidar que el mercado interno de aves silvestres en México también es importante, ya que de 1982 a 1983, 104,530 psitácidos fueron reportados capturados en México para el mercado doméstico (Iñigo-Elias & Ramos, 1991). Como consecuencia de lo anterior, las poblaciones silvestres de psitácidos en el territorio nacional se han visto fuertemente impactadas (PROFEPA, 2014 b).

De acuerdo con Cantú y Sánchez en 2012, anualmente se capturan alrededor de 65 mil a 78 mil psitácidos, de estas cifras, las 19 de las 22 especies existentes en nuestro país, se ven afectadas. Del total de aves capturadas ilegalmente, el 85% del 95% se queda en México para su comercialización en el mercado doméstico, el 77% de los psitácidos capturados muere durante la captura, acopio, transporte, distribución y venta antes de llegar al consumidor, debido al estrés, mal manejo, asfixia o deshidratación. Se estima que entre 50 y 60 mil pericos mueren anual mente (Cantú & Sánchez, 2012).

A pesar de los decomisos que realiza la PROFEPA, únicamente se aseguraron entre el año 1995 al 2005, el 2% total de pericos capturados anualmente, lo que refleja el grave problema al que se enfrenta este taxón en nuestro país (Cantú & Sánchez, 2012).

1.6 CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO SUSTENTABLE

El aprovechamiento de vida silvestre en México ha sido común y se remonta hacia el siglo XX el cual se caracterizó por un intenso uso de recursos naturales, solo hasta 1951 se contó con la Ley General de Caza como único instrumento jurídico para regular el uso de vida silvestre, este instrumento dejaba a un lado diversos grupos incluso los de importancia cinegética y no consideraba aprovechamiento ni uso de vida silvestre, fue hasta 1988 con la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente que se empezó a considerar el aprovechamiento de vida silvestre dentro de un marco de aprovechamiento sostenible. Sin embargo, pasaría más de una década antes de poder contar con una ley especifica que regulara y definiera el aprovechamiento sustentable de vida silvestre. En 1997 se publicó el programa de Vida Silvestre y Diversificación Productiva del Sector Rural (INE-SEMARNAT, 2007) en el cual se reconocieron lugares de aprovechamiento sustentable bajo condiciones controladas, también llamado manejo intensivo que incluye a criaderos y zoológicos entre otros. Uno de los aspectos de este programa, es el esquema de Unidades de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre (UMA´s) que pueden operar de manera extensiva o intensiva, cuyo objetivo primordial es buscar la conservación y uso sustentable de la vida silvestre en su ambiente natural y por lo tanto la conservación del hábitat. En el año 2000 la Ley General de Vida Silvestre es la que otorgaba permisos para realizar el aprovechamiento de aves bajo los esquemas de subsistencia y a través de las UMA´s (Sanchez, *et al.,* 2011).

Actualmente en México se han generado modificaciones a la Ley General de Vida Silvestre en donde se prohíbe el aprovechamiento sustentable de psitácidos con distribución en el territorio nacional, debido a la amenaza en la que se encuentran estas especies (SEMARNAT, 2010).

En el mundo se han generado en países como España, Holanda, Cuba y Argentina, granjas de psitácidos con el fin de conservación y subsistencia a través de técnicas de reproducción asistida y cría natural de aves de ornato y carismáticas (Calderón, *et al*., 2015).

1.7 PERIQUITO AUSTRALIANO (*Melopsittacus undulatus*)

Es el único miembro del género *Melopsittacus*, incluido dentro de la familia Psittacidae, orden Psitaciformes. Fue descrito por primera vez como *Psittacus undulatus* por Shaw y Norder en 1805 y no fue hasta 1840 cuando se le dio el nombre

científico actual de ***Melopsittacus undulatus*** por el británico John Gould, quien introdujo las primeras aves en Europa (Bradshaw & Engebretson, 2013).
El estado de conservación de la especie, está considerado como poco preocupante, es una de las pocas especies de psitácidos que no está protegida por la convención CITES, ya que para el comercio intencional, no representa una amenaza para la especie (Bradshaw & Engebretson, 2013)

1.7.1 DESCRIPCIÓN DEL PERIQUITO AUTRALIANO

Predomina el color verde claro a intenso, con un tamaño que va de 16 a 20 cm y con un peso de 30 gr en estado salvaje. En cautiverio se encuentran diversos colores, superan los 20 cm y su peso es de 30 a 50 gr. Su dimorfismo sexual es evidente por la cera de la nariz, el macho presenta la cera de color azul intenso en cambio la hembra la tiene de color marrón, variando la intensidad con los años (Gismondi, 1999). El promedio de vida en estado silvestre, es de aproximadamente 15 a 20 años, mientras que los que se encuentran en cautiverio, es de aproximadamente de 5 años (Samour, 2002).

1.7.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT

El periquito australiano se distribuye por todo el continente australiano excepto en las zonas costeras y en la península del cabo de York, tiene una amplia distribución geográfica y de hábitats, debido a que es un ave nómada que aprovecha las estaciones lluviosas para criar y por regla general se desplaza al norte en verano y al sur en invierno (Gismondi, 1999). El Periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*) tiene una amplia variedad de hábitats como son los bosques abiertos, sabanas con Acacia y Eucalyptus, praderas con poca arboleda, pastizales e incluso estepas con presencia de mulga (*Acacia aneura*) y aunque son aves que pueden soportar largos periodos sin agua, rara vez se observarán lejos de los ríos (Usturoi & Avarvarei, 2011).

1.7.3 ALIMENTACIÓN

Se alimentan principalmente de semillas pertenecientes a herbáceas como son la hierba de Mitchell, las del género *Astrebla* y *Triodia* y todas las variedades de las semillas de mijo silvestre, aunque también pueden alimentarse de cualquier semilla o brote tierno que encuentren (Lugo, 2011).

1.7.4 COMPORTAMIENTO SOCIAL Y REPRODUCTIVO

Melopsittacus undulatus son psitácidos nómadas y criadores oportunistas, vive en grupos de entre 20 y 100 individuos (Usturoi & Avarvarei, 2011).
Son una especie monógama, normalmente sus nidos se encuentran ubicados en troncos huecos donde la hembra pone de 4 a 7 huevos que incuba por 18 días y

entre ambos padres alimentan y cuidan a las crías hasta que abandonan el nido a los 36 días (Lugo, 2009). Los machos maduran sexualmente a la edad de 105 días, durante este tiempo, forman la mayoría de los vínculos de pareja (Costantini, *et a*l., 2009)

el *Melopsittacus undulatus* puede reproducirse todo el año, pero varía según la latitud, las poblaciones del norte se reproducen entre junio y septiembre mientras que las poblaciones del sur se reproducen entre agosto y enero siempre después de las lluvias abundantes (Silva, 2011).

La reproducción de *Melopsittacus undulatus* depende de una serie de factores como el clima, su alojamiento y además de la estimulación de fotoperiodo, por lo que en cautividad, la falta de fotoperiodo por estacionalidad, afecta los ciclos de espermatogénesis en esta especie, afectando la copula y puesta de huevos (Costantini, *et al*., 2009).

1.7.5 PERIQUITO AUSTRALIANO COMO MODELO DE ESTUDIO

El periquito ha sido seleccionado como modelo biológico por diversas razones, al ser un ave relativamente pequeña, la cual no se encuentra incluida en ninguna lista de restricción para su uso y adquisición, además se le puede alojar con varios individuos en un espacio pequeño, su manipulación y manejo es sencillo, el mantenimiento alimenticio y veterinario es bajo y además, existen múltiples trabajos antecedentes entre los cuales se encuentran temas de nutrición, biología, genética, reproducción entre otros, los cuales muestran que el periquito australiano es buen modelo para crear investigaciones y protocolos viables, aplicables y sin repercusiones a otras especies de psitácidos de mayor valor biológico, que sean destinados a la conservación o a la comercialización. (Calderón, *et al*., 2015).

1.7.6 ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DEL PERIQUITO AUSTRALIANO Y SU IMPORTANCIA ECONÓMICA Y DE CONSERVACIÓN

El orden Psittaciformes, incluye especies que se comercializan por todo el mundo como mascotas de forma legal e ilegal, debido a que presentan características como su plumaje colorido y su capacidad para emitir palabras e imitar la voz humana (Lugo, 2009).

La cría en cautividad de aves psitácidas para el comercio de aves mascota, es una realidad innegable que representa una gran importancia en el mundo desde el punto de vista económico y de conservación, para la comercialización ya que, al obtener aves criadas en cautiverio, se cubren las demandas de estas especies y representa beneficios para las especies silvestres que son extraídas para el comercio ilegal, evitando su extracción de su hábitat (Engels & Winkler, S., 2010).

El estudio de la fisiología reproductiva aviar es importante para la reproducción en cautiverio, ya que ayuda a entender los cambios que experimentan las especies al ser manipuladas fuera de su medio natural (Gutiérrez, 1999). Las especies aviares son muy diversas, al igual que sus patrones de vida y estrategias reproductivas, debido a esta diversidad con frecuencia es difícil determinar los factores ambientales que regulan la actividad reproductiva como son: la temperatura, la humedad y disponibilidad de alimento, lo cual es un punto crítico en aves psitácidas en cautiverio que comienzan a tener afectaciones en la fisiología reproductiva, ya que las especies que habitan gradualmente lejanas al ecuador, experimentan adaptaciones fisiológicas a los cambios ambientales y estacionales, teniendo efecto de fotoperiodo en la fisiología reproductiva, en cautiverio, este comportamiento suele ser distinto, debido a las variables ambientales, causando efectos negativos en la reproducción, así como repercusiones y condiciones patológicas asociadas con la inadecuada activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Lugo, 2011).

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1 REPRODUCCIÓN EN VIDA LIBRE DE LOS PSITTACIFORMES

Cuando es el periodo de reproducción las parejas prefieren apartarse del resto del grupo buscando para ellas un territorio de hasta 10 km^2, los psitácidos gustan de hacer su nido dentro de cavidades: en los huecos de los troncos de los árboles, en el suelo e incluso en los termiteros (Gismondi, 1999).

Ponen de 2 a 5 huevos en días alternos, y la incubación se inicia normalmente con la puesta del segundo huevo (Gismondi, 1999). De la incubación se encarga la hembra, ayudada por el macho que lleva alimento al nido (Gismondi, 1999). Las crías de los psitácidos son altricias y cuando han crecido, la hembra se apresura a poner otros huevos, de este modo los psitácidos aprovechan la abundancia momentánea de alimento (Gismondi, 1999). La temporada de reproducción de psitácidos en México es muy variada, la puesta de los huevos en el noreste de México se da hasta a principios de abril, en la zona centro y sur sucede entre diciembre y enero (Iñigo-Elias, 1996).

En estado silvestre se estima que solo entre el 19 y 30 % de la población tiene éxito reproductivo, no se sabe si las parejas se reproducen cada año o cada dos, aunque en cautiverio se ha observado que si lo hacen cada año (Iñigo-Elias, 1996).

La biología reproductiva de las aves psitácidas aumenta en riesgo de amenazas debido a que presentan ciclos de vida largos, los individuos comúnmente son monógamos y en muchas especies la formación de parejas es permanente (Iñigo-Elias, 1996).

2.1.1 ESTACIONALIDAD

La organización temporal de la mayoría de los animales está caracterizada por acontecimientos secuenciales de la actividad y el descanso dentro de un día de 24 horas, esta temporalidad se da como consecuencia de la rotación de la tierra y las variaciones diarias de los parámetros ambientales, como el cambio de luz y la oscuridad, la temperatura y la presión atmosférica, debido a estas variables, la mayoría de los animales muestran cambios estacionales que afectan su fisiología y comportamiento tales como los ritmos anuales de reproducción, la función inmune, modificaciones en los procesos metabólicos y la migración (Brandstätter, 2003) (Tamai & Yoshimura, 2017) .

La adaptación a cambios ambientales, se basa en la capacidad de los organismos a leer la variabilidad de los parámetros ambientales y utilizar esta información para regular su ritmo biológico (Brandstätter, 2003). De todas las variables involucradas en los cambios estacionales en las aves, el fotoperiodo es el más importante (Zawilska, *et al*., 2007).

2.1.2 FOTOPERIODO

Es la capacidad de los organismos para medir la longitud del día, como base para la regulación de los cambios estacionales en la fisiología y el comportamiento (Brandstätter, 2003).

Las aves para detectar los cambios en la duración del día, altitud sobre el nivel del mar, estímulos alimenticios, ejercer las conductas migratorias y reproductivas utilizan su sistema circadiano, este se compone de tres partes que envuelven tanto regiones anatómicas como secreciones hormonales, a) la retina del ojo, b) una región hipotalámica conocida como el núcleo supraquiasmático y c) la glándula pineal que es la encargada de secretar la melatonina (Gwinner & Brandstätter, 2001; Brandstätter, 2003).

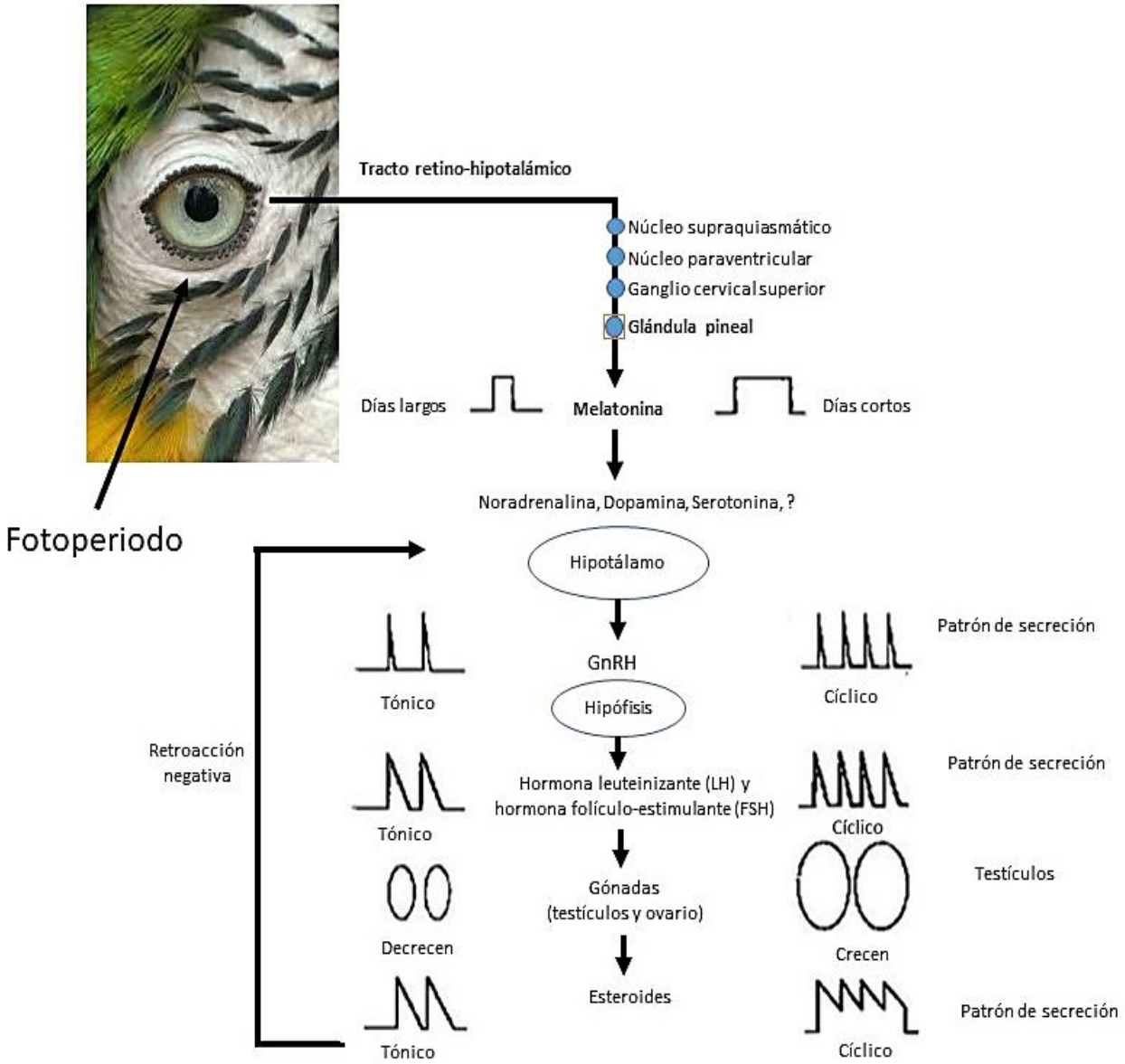
Las aves perciben información del fotoperiodo por medio de foto-receptores localizados en la glándula pineal y la retina, ya que tienen un mayor número de conos que de bastones lo que les permite tener una mejor visión diurna (Tamai & Yoshimura, 2017). La glándula pineal influye en los ritmos circadianos de las aves, regulando la síntesis de melatonina; Al igual que la glándula pineal, la retina produce melatonina en relación al fotoperiodo (Gwinner & Brandstätter, 2001; Brandstätter, 2003; Tsutsui, *et al*., 2013). La melatonina en las aves causa modificaciones en la actividad gonadal, muda del plumaje, estimulación de la actividad migratoria y cambios en el comportamiento (Brandstätter, 2003). Los niveles de melatonina aumentan durante el invierno y disminuyen durante el verano, esta información indica que la estación del año es codificada en las aves por medio de señales de melatonina, que es menor en duración y mayor en amplitud durante los fotoperiodos largos y con duración prolongada y menor amplitud en fotoperiodos cortos (Brandstätter, 2003; Liu, *et al*., 2018).

Las hormonas del cerebro, principalmente las provenientes del hipotálamo, estimulan a los diferentes órganos del cuerpo, especialmente los sexuales los cuales entran en gran actividad. Los testículos aumentan, los folículos en los ovarios empiezan a crecer y las gónadas empiezan a producir hormonas. El aumento de fotoperiodo y temperatura son los factores que determinan la actividad reproductiva (Sauveur, 2003).

En el hipotálamo existen células que obedecen a los cambios de luz/oscuridad, se han identificado núcleos responsables, el primero es el núcleo supraquiasmático (NSQ) que se comunica por señales neuronales con la glándula pineal (Brandstätter, 2003). La pars tubelaris (PT) de la glándula pituitaria sirve como el punto de relevo de receptores de luz, los cuales reciben información relacionada con el fotoperiodo y las respuestas endocrinas. Fotoperiodos mayores a 12 h de exposición a luz, inducen la síntesis de la hormona estimulante de las tiroides, en el PT que actúa como un regulador de la reproducción estacional de las células ependimarias, en el hipotálamo mediobasal activa la hormona tiroidea mediante la inducción de la expresión de deiodinasas tipo 2 (enzima que activa o desactiva la hormona tiroidea) tanto en un día largo como en un día corto. El hipotálamo mediobasal (MBH) es el centro de la reproducción estacional. Lesiones en el MBH suprimen fotoinducción de liberación de la hormona luteinizante. La iluminación local contribuye al crecimiento testicular inducido por el cerebro y la estimulación eléctrica de la MBH conduce a la secreción de LH (Ikegami & Yoshimura, 2013) (Imagen 1).

Se sabe que hormonas periféricas como la inhibína son capaces de modular la secreción de las gonadotropinas; Por su parte, se pensaba que la GnRH no tenía un antagonista, hace algunos años se descubrió que existe un péptido de 12 aminoácidos al que se le llamo *GnIH Gonadotropin Inhibitory Hormone* u hormona inhibitoria de gonadotropinas, esta hormona antagonista de la GnRH impide la liberación de GnRH y en consecuencia de la hormona Foliculoestimulante (FSH) y hormona Luteinizante (LH), con la interrupción de la reproducción durante las estaciones de fotoperiodos cortos o el inicio en días largos de 12 horas luz en promedio (Bentley, *et al*., 2006; Ubuka, *et al*., 2013).

Imagen 1.- Fotoperiodo en aves (Peralta, 2016; Carcoba 2019).



Muestra activación de la etapa reproductiva a través del fotoperiodo, pasando por cada región del eje hipotálamo, hipófisis, gónada, así como las hormonas que participan en la producción de la hormona liberadora de gonadotropinas y las hormonas LH y FSH que intervienen en el proceso reproductivo de las aves.

2.2 MORFOFISIOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LAS AVES

Las aves se reproducen sexualmente, son ovíparas y presentan comportamientos reproductivos complejos. La fecundación es interna y no disponen de órganos reproductores externos por lo que la fecundación tiene lugar a través del contacto entre las cloacas del macho y la hembra (Gil, 2016).

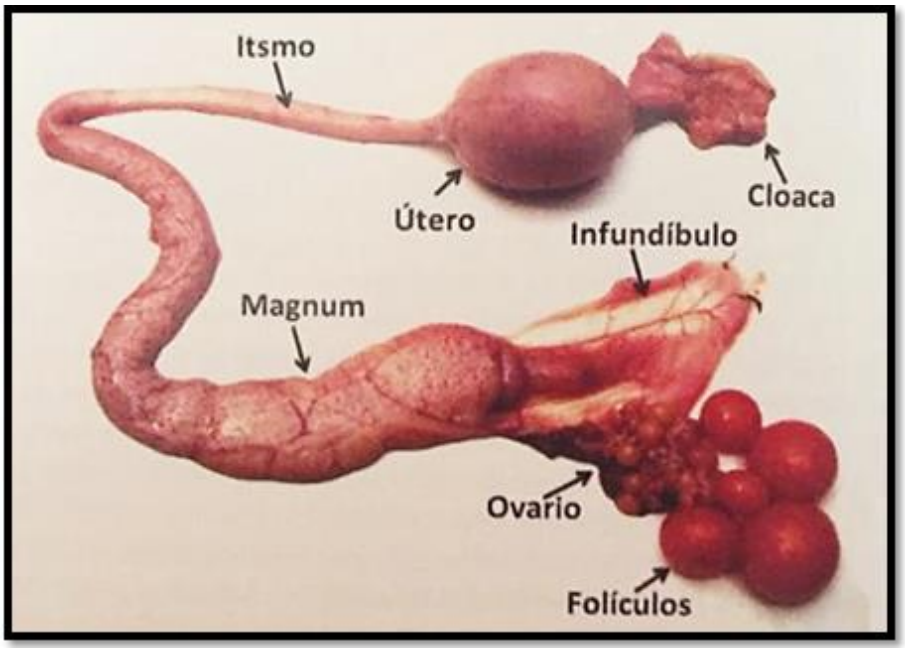
En la ausencia de un ciclo estral para la sincronización de la copulación con la ovulación, las aves dependen de almacenamiento espermático en el oviducto de la hembra (Bakst, 2010).

2.2.1 MORFOFISIOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

Está compuesto por dos partes: ovario y oviducto izquierdo, encontrándose involucionados los órganos del lado derecho. En la formación del huevo intervienen, el ovario para el vitelo y el oviducto para el albumen y el cascarón. La ovulación es la que permite el paso del ovocito al oviducto. El proceso se completa con la fecundación del óvulo, la cual se produce en interior de la hembra (Peralta & Miazzo, 2002).

El oviducto se divide en 5 partes desde proximal a distal: infundíbulo, magnum, istmo, útero y vagina como se muestra en la imagen 2 (Peralta & Miazzo, 2002).

Imagen 2.- Aparato reproductor de la hembra (Herrera, *et al.*, 2013)**.**



Muestra aparato reproductor de gallina con los cinco segmentos que lo integran, así como desarrollo folicular.

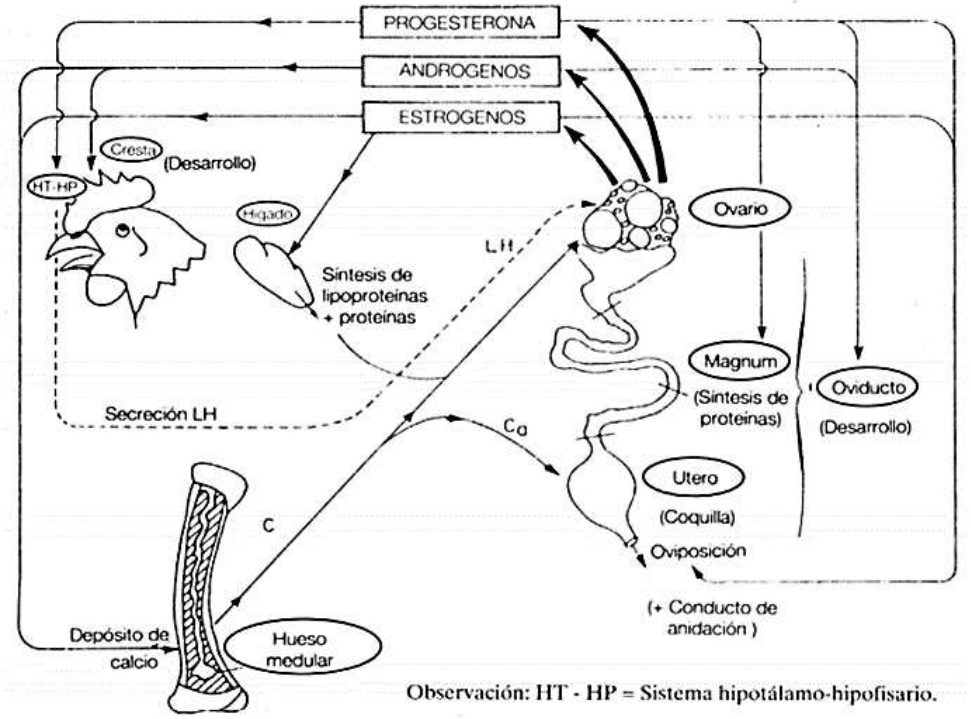
Fisiología reproductiva de la hembra

La luz ejerce acción en la madurez del ave. El desarrollo del ovario y ovogénesis se da por la acción de las hormonas esteroides, las cuales dependen de las hormonas hipofisarias LH y FSH que están integrando el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Peralta & Miazzo, 2002).

Dentro de las gonadotropinas, la LH es responsable del desarrollo del ovario, de la secreción ovárica de esteroides sexuales y sobre todo de la ovulación. Por su parte,

la FSH regula el desarrollo de los folículos del ovario y la actividad secretora de éste. El ovario de las aves, secreta 3 tipos principales de esteroides sexuales: estrógenos, andrógenos y progesterona (Imagen 3). Esta secreción es cíclica, de acuerdo con el desarrollo de la ovulación, aunque siempre se mantienen niveles basales. Por otro lado, estos esteroides juegan un rol importante ejerciendo un efecto retroactivo negativo sobre la liberación de la LH. Los estrógenos son sintetizados por las células intersticiales de las tecas foliculares, desapareciendo la capacidad de síntesis de estas hormonas la víspera de la ovulación de ese folículo. Las funciones de los estrógenos son muy importantes, puesto que participan prácticamente en el control de la formación del huevo (Peralta & Miazzo, 2002).

Imagen 3.- Función de las hormonas reproductivas en la hembra
(Peralta & Miazzo, 2002)**.**



Se describe la acción de las principales hormonas esteroides que influyen en la actividad reproductiva de las aves hembra

Ovogénesis

Es el proceso de formación y diferenciación de los gametos en óvulos, teniendo diferentes etapas de desarrollo que van desde la ovogonia al ovocito primario, ovocito secundario y óvulo. El primer periodo de la ovogénesis dura aproximadamente 7 días, se distinguen 3 etapas:

1) **Fase de proliferación.** Consiste en la multiplicación de células germinales u ovogónia en el tejido del ovario. Se realiza por mitosis durante el desarrollo embrionario de la hembra. 2) **Transformación de las ovogonias en ovocitos**

primarios. En los ovocitos primarios se inicia la primera división meiótica, que permanece detenida y se reanuda al alcanzarse la madurez sexual. Estas células van acompañadas de otras que las rodean formando una capa alrededor del ovocito que lo protege y nutre. A esta estructura se le llama folículo. 3**) Formación de ovocitos secundarios**. Los ovocitos primarios crecen al acumular sustancias de reserva y finalizan la primera división meiótica, formándose los ovocitos secundarios. Posteriormente son liberados del ovario. Las células foliculares se desarrollan formando el folículo de Graaf (Peralta & Miazzo, 2002).

Foliculogénesis

La foliculogénesis es el proceso de maduración del folículo ovárico, una estructura compuesta por células de la granulosa que rodea el ovocito y dentro de la cual se desarrolla la ovogénesis o división meiótica del ovocito (Peralta & Miazzo, 2002).

Las células de la granulosa proceden de la rete ovarii (la red de túbulos mesonéfricos) y no rodean las oogonias hasta el cuarto mes de gestación. Además, las células de la granulosa son vitales para el desarrollo del ovocito (Peralta & Miazzo, 2002).

La foliculogénesis se desarrolla de manera paralela a la ovogénesis y durante este proceso el folículo pasa por diferentes estadios como se ve en la imagen 4:

1) Folículo primario. Contiene el ovocito y el epitelio folicular**. 2) Folículo secundario o preantral**. En este estadío varias hileras de células de la granulosa forman el stratum granulosum y segregan una capa glicoproteica que será la zona pelúcida, inmersas en la teca folicular. **3) Folículo terciario o antral.** El cual contiene una cavidad, el antro folicular y el ovocito se encuentra en un lateral llamado cumulus oophorus. **4) Folículo de Graaf**. Folículo grande ya listo para la ovulación (Peralta & Miazzo, 2002; Maron, *et al*., 2012).

Imagen 4.- Ovario con presencia folicular en aves (Herrera, *et al*., 2013)**.**

Vista general del ovario de gallina (*gallus gallus*) presentando folículos en estadío de primario, secundario, terciario y preovulatorio.

2.2.2 MORFOFISIOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL MACHO

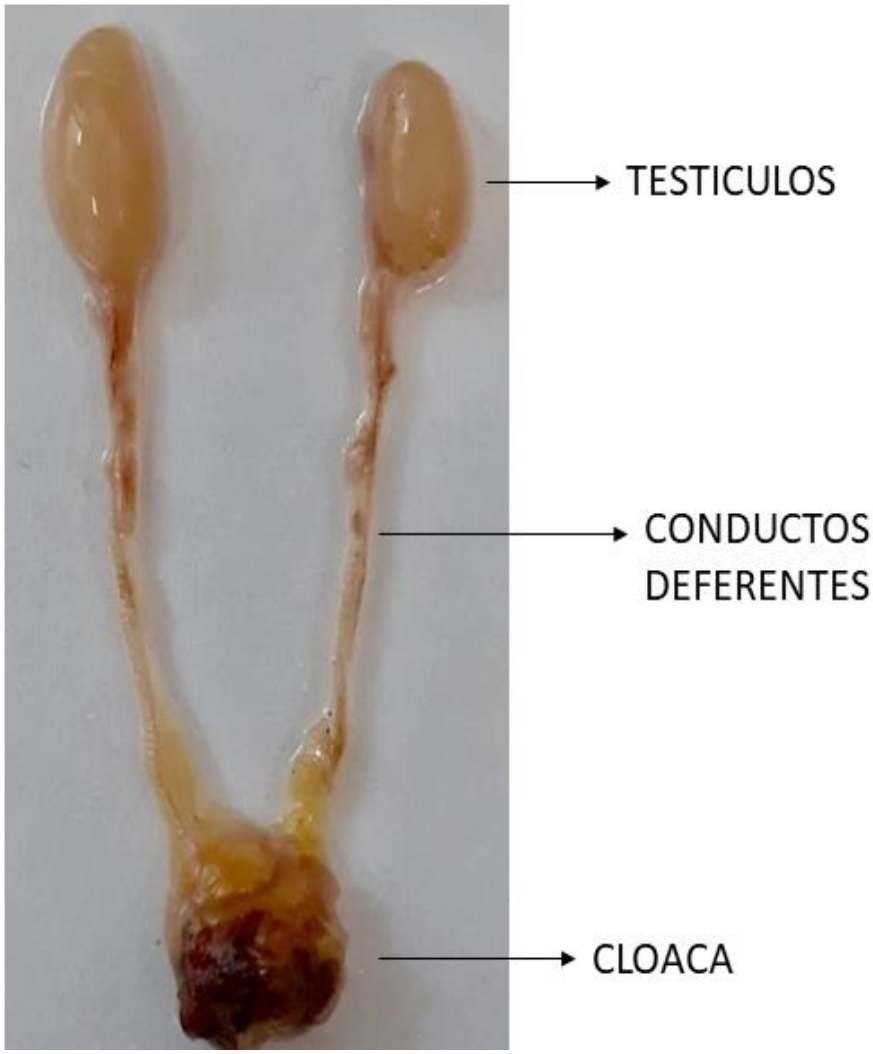
En las aves, el aparato reproductor del macho está constituido por tres unidades morfo funcionales: los testículos, las vías deferentes y el órgano copulador (Imagen 5) (Herrera, *et al*., 2013).

Testículos: Están localizados en el centro de la cavidad corporal ventral a los riñones, se sostienen por ligamentos de la superficie dorsal adyacentes a las glándulas adrenales (Herrera, *et al*., 2013). Cada testículo contiene túbulos seminíferos anastomosados y tejido intersticial asociado, rodeado por una capsula de tejido conectivo. El epitelio seminífero está dividido en dos compartimientos, basal y luminal por uniones estrechas entre células de Sertoli adyacentes (Hafez, *et al*., 2002). Los túbulos seminíferos se ramifican y anastomosan libremente con la túnica albugínea. El tejido intersticial está ausente, pero contiene células de Leydig secretoras de andrógenos. En los machos inmaduros, los túbulos seminíferos se cubren con una capa de células de Sertoli y espermatogónias pedunculares, y en machos maduros los túbulos son de forma irregular recubiertos de un epitelio germinal de varias capas (Herrera, *et al*., 2005).

Conductos deferentes: Terminan en la proximidad inmediata del cordón testicular, donde se conectan con los túbulos de la rete testis, que se comunican a su vez con los conductos eferentes. Se prolonga por el conducto deferente, muy replegado, donde se realiza la maduración y almacenamiento de los espermatozoides, y puede ser comparado con el epidídimo de mamíferos. Este desemboca, a través de la vesícula espermática, en el urodeo. Cada una de las dos vesículas espermáticas concluye en una papila eyaculadora (Galina, *et al*., 2008).

Órgano copulador: Abarca el conjunto de los repliegues linfáticos de la cloaca, el falo y los cuerpos vasculares paracloacales. Estos últimos son cuerpos ovoides, incrustados en la pared de la cloaca, que se llenan de linfa en el momento de la erección. Dicha linfa transuda en la cloaca, a través de los repliegues linfáticos, en forma de un fluido transparente, que puede mezclarse con el semen. En el momento de la erección, los repliegues redondeados de la cloaca se hinchan, formando una ligera protuberancia hacia el exterior de la cloaca y constituyen un pequeño canal por donde se expulsa el eyaculado (Sauveur, 2003).

Imagen 5.- Aparato reproductor del macho (Carcoba, 2018).



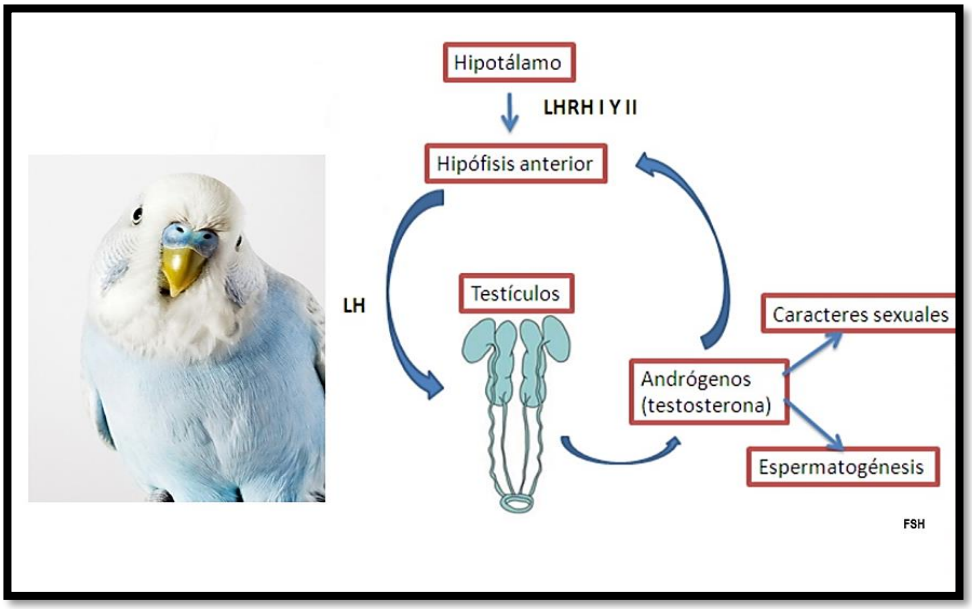
Muestra aparato reproductor del periquito australiano con sus tres segmentos que lo integran.

Fisiología reproductiva del macho

El desarrollo testicular y la espermatogénesis se realiza en dos etapas del ave: prepúber y púber, sin embargo, depende de varios factores: condiciones del medio (especialmente el fotoperiodo), presentándose además variaciones entre uno y otro individuo (Peralta & Miazzo, 2002).

Durante la madurez sexual, el peso testicular y el número de espermatozoides están en su apogeo, produciéndose paralelamente una evolución en la calidad de los gametos (la capacidad de fecundación, motilidad y duración de la supervivencia *in vitro* son mayores). Todos estos procesos están regulados por hormonas, que están controladas por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Imagen 6) (Peralta, 2016).

Imagen 6.- Función de las hormonas reproductivas en machos (Ibarra, 2016).



Esquema donde se muestran las principales funciones de las hormonas que intervienen en la reproducción del periquito australiano macho.

Dentro de las gonadotropinas en el macho, la LH controla la producción de esteroides en las células de Leydig, alcanzándose las concentraciones más altas en la madurez sexual, mientras que la FSH modula la función de las células de Sértoli, interviniendo indirectamente en la maduración de la línea germinal. Entre las hormonas testiculares, la testosterona es la más importante y junto con otros andrógenos tiene su acción en el epitelio seminífero, función que culmina con la producción de los espermatozoides. A la vez, los andrógenos regulan la secreción de gonadotropinas hipofisarias, mediante mecanismos de retroalimentación negativos, así como la actividad de los órganos del aparato copulador, y los caracteres sexuales secundarios del macho (Peralta & Miazzo, 2002).

Características seminales

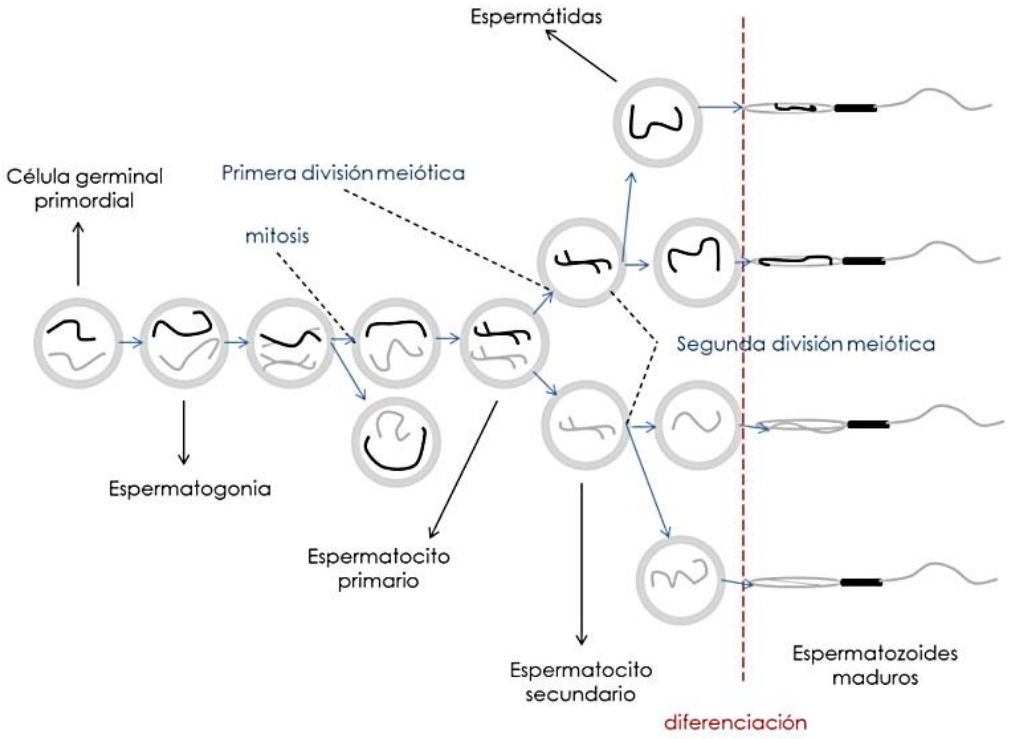
Además de incluir a los espermatozoides, contiene altas concentraciones de proteínas, acido glutámico, iones inorgánicos y glucosa (McLean, *et al.*, 1998). Además, lo integra el plasma seminal que es un medio biológico natural que se excreta durante la eyaculación y que puede afectar de manera negativa la capacidad fertilizante de los espermatozoides, al ser un fluido que proviene de la linfa cloacal (Sontakke, *et al.*, 2004).

El volumen de los eyaculados y su concentración espermática varían considerablemente en función de: La especie, el individuo y su estado fisiológico y las condiciones y el método de recolección seminal. El eyaculado en periquitos australianos contiene un volumen bajo ente 4-7 µl (Sontakke, *et al.*, 2004).

Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso complejo, (Imagen 7) más aún si la especie a estudiar presenta una estacionalidad marcada. Las hormonas proteicas y esteroidales desempeñan un papel importante durante la espermatogénesis, debido a su participación en el eje hipotálamo-hipófisis-glándula pineal-gónadas (Sontakke, *et al*., 2004). Los niveles basales de FSH son suficientes para mantener la función espermatogénica normal, sin embargo, la FSH interactúa con los receptores de las células de Sertoli estimulando la producción de inhibína y proteínas transportadoras de andrógenos Androgen Binding Protein (ABP) en inglés y también la división de las células germinales. La inhibína actúa bloqueando la liberación de FSH y estimulando la liberación de LH la cual actúa en el testículo estimulando la secreción de andrógenos por las células de Leydig y por ende estimula la proliferación del epitelio seminífero, ya que existen receptores para estos esteroides en las células germinales. Los andrógenos son transportados desde el espacio intersticial para el epitelio seminífero y también para todo el aparato reproductivo mediante las ABP que son producidas en las células de Sertoli. Está bien establecido que el control de la espermatogénesis depende de la función del eje hipotálamo-hipófisis- testículo (Peralta & Miazzo, 2002; Galina, *et al*., 2008).

Imagen 7.- Proceso de espermatogénesis en aves (Peralta & Miazzo, 2002)**.**

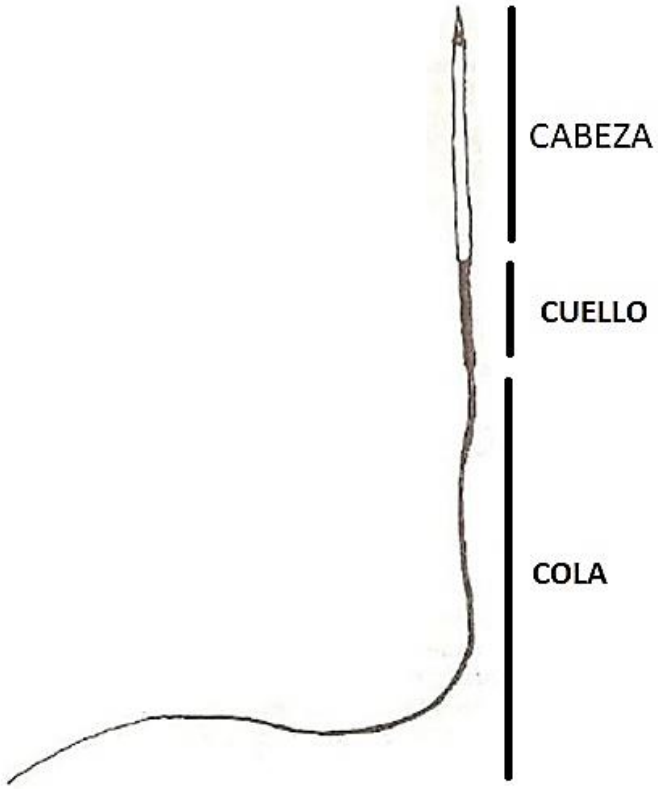


Mostrando el proceso de división celular y producción de espermatozoides en aves.

Espermatozoide

Son de forma alargada y se subdividen en cabeza, cuello y cola o flagelo, como se muestra en la imagen 8 (Herrera, *et al*., 2005). Presentan una longitud de 80 a 90 µm, la cabeza es alargada y mide de 12 a 13 µm, se corona por el acrosoma de 2 µm de largo (Long, 2006).

Imagen 8.- Espermatozoide de aves (Carcoba, 2018)



Espermatozoide de gallo (*gallus gallus*) mostrando los diferentes segmentos que lo conforman.

El acrosoma contiene enzimas proteolíticas que son requeridas durante la fertilización. La parte media tiene 4 µm de largo y contiene mitocondrias, y el resto de la cola, con una longitud de aproximadamente 100 µm, a lo largo de ésta se extienden fibras centrales, relacionadas con el centriolo proximal y distal. En su parte más ancha, el espermatozoide mide cerca de 0.5 µm. El núcleo está empaquetado en la cabeza espermática y los cromosomas están altamente condensados durante la espermatogénesis. La actividad metabólica del espermatozoide está relacionada en particular con el flagelo, mediante mecanismos químicos y electromecánicos que inducen movimientos coordinados entre los microtúbulos que integran el flagelo (Long, 2006).

2.2.3 NEUROENDOCRINOLOGÍA

Los procesos endocrinos de un organismo, no pueden estar disociados de los cambios en el entorno. Por esta razón, el sistema endocrino y el sistema nervioso se comunican entre sí formando el sistema neuroendocrino (Galina, *et al*., 2008). La mayoría de los neuropéptidos y sus reacciones han sido estudiadas en mamíferos, solo algunos de ellos han sido descritos ampliamente en aves un ejemplo es la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH (Bentley, *et al*., 2006).

El hipotálamo es el órgano central del sistema neuroendocrino, recibe información de todos los órganos sensoriales a través de conexiones nerviosas con la retina, los bulbos olfatorios primarios y secundarios, el oído, la piel y órganos internos. Tiene receptores hormonales con los que regula las funciones reproductivas a través de hormonas como la GnRH, GnIH, FSH y LH (Gwinner & Brandstätter, 2001; Tsutsui, *et al*., 2013). La GnRH tiene un papel extremadamente importante en la reproducción de los vertebrados, ya que es la encargada de la liberación de las hormonas de la adenohipófisis FSH y LH (Bentley, *et al*., 2006).

En aves estacionales la reproducción se rige por las horas luz en un día. Se ha demostrado que la hormona de la melatonina tiene influencia directa sobre la producción de GnIH (Bentley, *et al*., 2006). Si GnRH no se encuentra inhibida por la actividad de melatonina, GnIH permitirá la liberación de FSH y LH que son las principales hormonas para iniciar la esteroidogénesis que lleva a los procesos de espermatogénesis, ovogénesis y foliculogénesis de especies estacionales. Lo anterior puede demostrar que los periodos circadianos y circanuales con mayor duración con horas luz, son traducidos en las aves por sus receptores de melatonina, presentes en el sistema nervioso central y tejidos periféricos, afectando la actividad reproductiva que se refleja en la construcción de nidos (Brandstätter, 2003).

La GnRH es la principal hormona en el control de la fisiología reproductiva, controla la secreción de gonadotropinas, LH y FSH (Anand & Samborlang, 2018). La GnRH es un neuropeptidos hipotalámico pituitario que regula la síntesis y liberación de gonadotropina en los vertebrados. La hormona GnRH junto con la hormona inhibidora de gonadotropinas GnIH regulan la reproducción aviar al liberar y disminuir la liberación de gonadotropinas y síntesis a través de la acción sobre gonadotropos en la glándula pituitaria anterior y las neuronas GnRH en el hipotálamo, mediada a través de la GnIH (Tsutsui, *et al*., 2013). Cuando se activa de manera inicial la GnRH, induce una sobre regulación de sus propios receptores, sin embargo, después de un periodo de activación prolongada a niveles constantes, el número de receptores de GnRH en la pituitaria son regulados a la baja disminuyendo así la producción y liberación de LH y FSH (Herbert & Trigg, 2005). A diferencia de los agonistas, los antagonistas tienen varias sustituciones hidrofóbicas dentro de la molécula GnRH que promueven una alta afinidad de unión a receptores sin actividad (Paredes, 2010).

2.3 TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN AVES

La domesticación de los animales a lo largo de la historia, ha tenido gran impacto en diferentes aspectos como el económico al desarrollar grandes empresas con intereses internacionales, el aspecto biológico, al representar una de las mayores fuentes de alimento para el hombre y aspectos psico-sociales al proporcionar diferentes propósitos como mascotas, aves de presa y/o colecciones cautivas, sin embargo, para lograr el impacto de la avicultura en los en los aspectos antes mencionados, ha sido necesario, el uso de otros métodos de manejo y reproducción (Herrera, *et al*., 2013). El acelerado desarrollo y el incremento de la actividad de las poblaciones humanas han realizado alteraciones, afectando la vida silvestre lo cual en muchas ocasiones, han llevado a la extinción de diversas especies de animales, es por esto que en la actualidad, el propósito de las técnicas de reproducción asistida en las aves, es contribuir a la reproducción intensiva de las especies domésticas y a la conservación de especies silvestres (Herrera, *et al*., 2013). Se han desarrollado diferentes técnicas que se involucran directamente con la reproducción asistida como las técnicas para la obtención de semen, conservación espermática, inseminación artificial (IA), fertilización in vitro (FIV), trasferencia embrionaria y la incubación y cría de polluelos (Samour, 2002).

En conjunto, las técnicas de reproducción asistida, ayudan a la preservación de especies, sido utilizadas para producir individuos de al menos cuarenta especies de aves silvestres diferentes, incluyendo psitácidos, aves rapaces y canoras (Blanco *et al*., 2010). Las tecnologías para la reproducción y la transferencia genética, representan ventajas para las generaciones futuras, ya que ayudan a conservar y propagar las especies amenazadas que no logran llevar a cabo la reproducción en cautiverio de manera natural (Sontakke, *et al*., 2004). Existen alteraciones que dificultan la reproducción en cautiverio de especies de aves en cautiverio, como son: la incapacidad de formar parejas, incapacidad de las aves para copular, deposición seminífera errónea por parte del macho, impronta excesiva y estrés, los cuales afectan directamente su reproducción, por lo que el uso de técnicas de reproducción asistida como es el uso de inductores de la reproducción a base de hormonas, representan grandes ventajas para contrarrestar estas problemáticas fisiológicas (Blanco, *et al*., 2010).

2.3.1 USO DE HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS (GnRH)

Se han desarrollado antagonistas análogos de la hormona GnRH que tienen una actividad altamente específica y actúan sobre varios tejidos reproductivos (Ottinger, *et al*., 2002). Estudios realizados en aves han demostrado la presencia de dos factores liberadores: GnRH I, el cual tiene una estructura molecular semejante a GnRH de mamíferos, y permanece mucho tiempo en la circulación, ejerciendo una acción prolongada sobre las gonadotropinas (LH y FSH), mientras que la GnRH II es 2,5 veces más potente que la GnRH I, la cual ejerce una acción rápida sobre la LH

siendo rápidamente metabolizada además de presentarse en la etapa no reproductiva de las aves También existen estudios donde se ha demostrado que existe la GnRH3, aunque no ha sido caracterizada del todo (Paredes, 2010).
Existen análogos disponibles comercialmente que contienen un aminoácido que estabiliza la hormona en una conformación activa biológicamente protegiéndola de hidrolisis enzimática, permitiendo que se unan al receptor de GnRH en la pituitaria anterior con alta especificidad, afinidad y actividad (Paredes, 2010).

2.4 OBTENCIÓN SEMINAL

La eyaculación es una respuesta altamente organizada a estímulos sensoriales e involucra muchos órganos y sistemas como el sistema nervioso periférico, incluidos sus componentes autónomo y somático (Herrera, *et al*., 2013).
La obtención de semen en aves, se realiza mediante varias técnicas, que abarcan desde la electro-eyaculación, eyaculación voluntaria y eyaculación por masaje dorso ventral (Burrows & Quinn, 1937; Blanco, *et al*., 2010).

Eyaculación voluntaria

Cuando los machos, son previamente entrenados, se les puede condicionar para la obtención de semen mediante una monta simulada. Existen sistemas en los que se usan diferentes objetos para la deposición de la pequeña cantidad de semen, desde gorros con celdillas y guantes en el caso de las aves más pequeñas o chubasqueros en el caso de grandes águilas (Duchi, *et al*., 2009).

Masaje dorso ventral

La técnica involucra un procedimiento en el cual, el macho responde con erección del cuerpo y papila eréctil, exponiendo esta última, por la que desciende el semen y es colectado (Herrera, *et al*., 2013). Pioneros en la reproducción avícola asistida fueron Burrows y Quinn (1937), quienes desarrollaron el método de masaje dorso abdominal en gallos para la extracción y recolección de semen. La fácil recolección de semen y el procesamiento, ha permitido su utilización de forma extensiva en la inseminación artificial (IA). Esta técnica ha demostrado ser de gran ayuda para la inseminación artificial en pavos, gallos y algunas especies de aves silvestres, su única desventaja radica en que el masaje también estimula el coprodeo y urodeo, lo que puede ocasionar que los eyaculados se contaminen con heces, ácidos úricos o ambos (Duchi, *et al*., 2009).

Electroeyaculación

La electroeyaculación implica la estimulación por medio de una corriente eléctrica al sistema nervioso simpático, estimulando la contracción del músculo liso y con ello se obtiene la eyaculación (Howard, *et al*., 1986; Melara & Lazo, 2012). Se han descrito dos procedimientos, el primero mediante la inserción de una sola sonda en la cloaca

equipada con dos anillos de bronce que actúan como electrodos y el segundo con el uso de dos electrodos, uno conectado a una aguja hipodérmica insertada en la región del sinsacro y el segundo insertado en la cloaca; en ambos casos, con las sondas son conectadas a un potenciómetro y a un voltímetro, se realizan descargas de 0-30 voltios durante 3 segundos haciendo de tres a cinco repeticiones (Harrison & Wasmund, 1983; Samour, *et al*., 1985).

2.4.1 EVALUACIÓN SEMINAL BÁSICA

Proporciona información de la calidad del semen mediante el análisis de la viabilidad, morfología y actividad metabólica del mismo (Umapathy, *et al*., 2005). Los indicadores anteriores evaluados en conjunto se conocen como Índice de calidad espermática, lo cual se relaciona de manera positiva con la predicción de la capacidad fertilizante de los espermatozoides (Parker, *et al*., 2002).

Volumen y concentración seminal

El volumen seminal que se obtenga del eyaculado, en conjunto con la concentración espermática, son indicadores que permiten determinar las tasas de dilución apropiadas para poder realizar de forma precisa y adecuada la evaluación de la concentración espermática (Umapathy, *et al*., 2005).

Movilidad

Los espermatozoides deben mostrar un movimiento rectilíneo y progresivo, varios estudios previos señalan que el éxito de la fertilización depende principalmente de la movilidad espermática (Ahammad, *et al*., 2013).

Morfología espermática normal

El espermatozoide debe tener la cabeza alargada, sin defectos en el cuello, pieza media y cola. Estas características morfológicas de normalidad se establecen a partir del aspecto que presentan los espermatozoides. Se deben tener en cuenta las tres partes en las que se divide el espermatozoide: cabeza, parte media y cola (Herrera, *et al*., 2005; Usturoi & Avarvarei, 2011).

2.5 EVALUACIÓN DEL DESARROLLO GONADAL

La evaluación del desarrollo gonadal es una técnica utilizada para detectar cambios de tamaño, morfología y anomalías en las gónadas a través de procedimientos quirúrgicos como la laparoscopia y no quirúrgicos como la ultrasonografía, en aves es un procedimiento que se utiliza para evaluar el efecto de técnicas de reproducción asistida como son, la administración de hormonas exógenas que promueven el crecimiento gonadal, así como el control reproductivo en especies de aves domésticas y silvestres (Gutiérrez, 1999).

2.5.1 ULTRASONOGRAFÍA

Las imágenes por ultrasonido son un método no invasivo el cual produce imágenes del interior del organismo usando ondas de sonido. Esta metodología diagnostica involucra el uso de equipos altamente especializados, acoplados a un transductor (sonda), con el cual se obtienen las imágenes del cuerpo mediante la interpretación de las ondas acústicas de alta frecuencia. El transductor debe ser acoplado de manera perfecta al cuerpo del paciente, esto se logra a través de un gel a base de agua, el cual permite el paso de las ondas sonoras que rebotan y mediante un algoritmo computarizado estas son convertidas en imágenes que pueden mostrar la estructura y el movimiento de los órganos internos del cuerpo y la sangre que fluye por los vasos sanguíneos (Melnychuck, *et al*., 2002).

Las mejoras en la tecnología de ultrasonido ahora permiten observar la condición ovárica *in vivo*, y testicular de manera repetida permitiendo un seguimiento en tiempo real del desarrollo gonadal (Melnychuck *et al*., 2002).

2.5.2 LAPAROSCOPÍA

La laparoscopia es una técnica invasiva y común entre los exámenes exploratorios de rutina realizados en diversas especies de psitácidos, que permite la visión de la cavidad pélvica-abdominal con la ayuda de una fibra óptica, que transmite luz para iluminar la cavidad, mientras que se observan las imágenes del interior con una cámara conectada a una lente óptica y así observar de manera directa el desarrollo de las gónadas, esta técnica requiere de un adecuado manejo anestésico y un protocolo quirúrgico riguroso (Melnychuck *et al*., 2002).

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo e implementación de técnicas de reproducción asistida en aves, pueden aportar alternativas de manejo reproductivo de especies carismáticas que estén o no en peligro de extinción, contribuyendo al abastecimiento de aves exóticas como animales de compañía, evitando así su extracción ilegal del medio silvestre.

La especie *Melopsittacus undulatus* se ha empleado como modelo de estudio para la administración exógena de la hormona GnRH para estimular la fertilidad en psitácidos, pudiendo con esto extrapolar metodologías reproductivas hacia especies de alto valor biológico que hasta ahora no han tenido éxito reproductivo en cautiverio y que se encuentran en riesgo de extinción.

CAPÍTULO 4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La administración exógena de GnRH heteróloga, tendrá efecto en el desarrollo gonadal y producción de gametos de periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*)?

CAPÍTULO 5. OBJETIVOS

General

Evaluar el desarrollo gonadal y producción de gametos de *M. undulatus* por efecto de la administración exógena de GnRH heteróloga.

Específicos

- Evaluar la conducta y caracteres sexuales de hembras y machos.
- Determinar el crecimiento testicular y producción espermática.
- Determinar el desarrollo ovárico, cantidad y estadío de folículos
- Evaluar la Morfometría y vascularidad testicular.
- Evaluar la calidad espermática *in vitro*.

CAPÍTULO 6. HIPÓTESIS

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) heteróloga administrada a periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*), favorecerá el desarrollo gonadal y producción de gametos.

CAPÍTULO 7. MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en los laboratorios de Cirugía Experimental y de Bioquímica de la Reproducción del Departamento de Producción Agrícola y Animal, de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, ubicada en Calzada Del Hueso 1100, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México. Los ejemplares se encontraban fuera de su estacionalidad reproductiva.

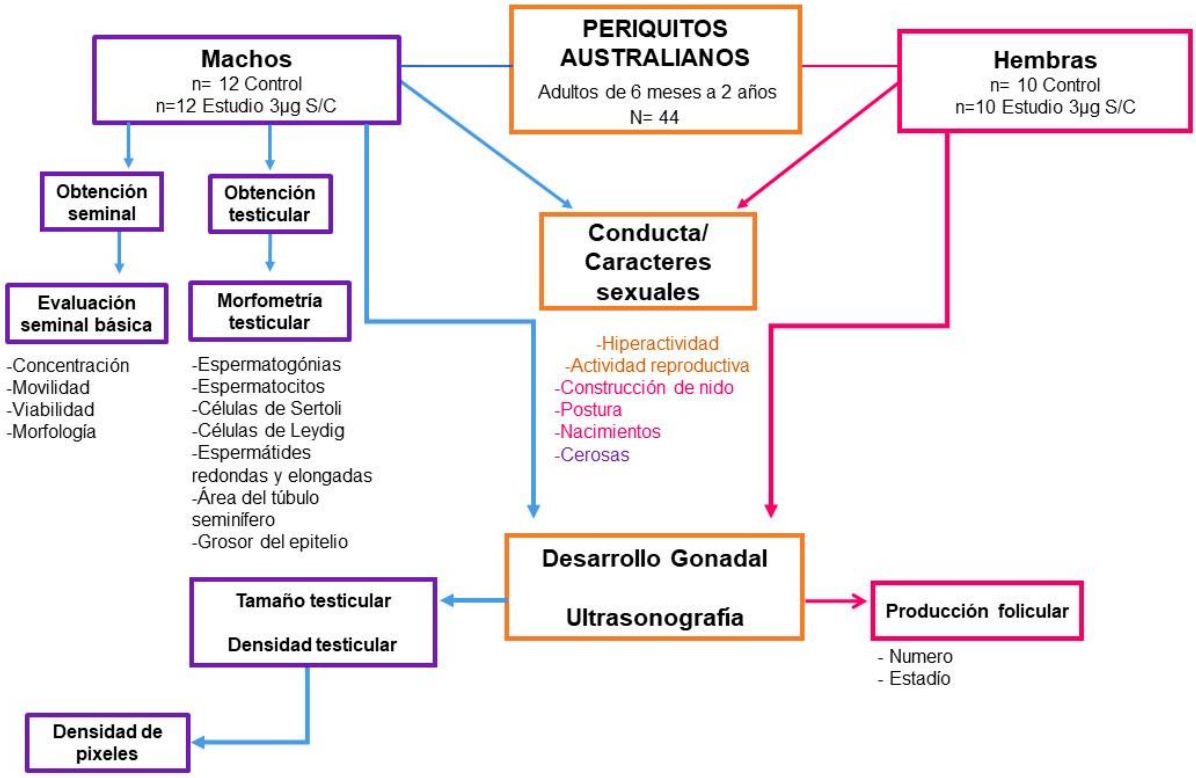
7.1 BIENESTAR ANIMAL

En todo momento se cuidó del bienestar de los animales sometidos al protocolo de investigación apegándonos a la Normas Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 ESPECIFICACIONES TECNICAS PARA LA PRODUCCION, CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO. de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (NOM-062-ZOO-1999) (SAGARPA).

7.2 AVES

El estudio se realizó con 28 periquitos australianos adultos y clínicamente sanos (14 machos y 14 hembras entre 6 meses y 2 años de edad) se llevó a cabo en el Laboratorio de Cirugía Experimental del Departamento de Producción Agrícola y Animal (Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México) durante la temporada de otoño 2017-18. Se alojaron en jaulas independientes (45 cm x 30 cm x 30 cm) separando hembras y machos. Las aves fueron alimentadas con una mezcla comercial de semillas (*Panicum miliaceum* 40%, *Phalaris canariensis* 10%, *Avena sativa* 10%) y agua potable fresca *ad libitum* durante todo el experimento. Cada grupo se distribuyó de forma homogénea y aleatoria en dos grupos experimentales, para los machos (control y tratado con GnRH), y para hembras (control y tratado con GnRH), a todos los grupos se les proporcionó un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 oscuridades.

7.3 DISEÑO EXPERIMENTAL



7.4 FÁRMACO UTILIZADO / GnRH HETERÓLOGA RELINA 500®

Controla la producción y secreción de la LH y de la FSH teniendo esto un efecto positivo sobre la maduración folicular más temprana en el ovario y en la ovulación, así como en la tasa de concepción.

RELINA (gonadorelina) 500® PiSA AGROPECUARIA, México. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La gonadorelina 500® estimula la producción y liberación de FSH y LH desde la pituitaria anterior actuando en los receptores específicos ubicados en el ovario y los testículos donde realizan su función (Imagen 9).

7.4.1 TRATAMIENTO HORMONAL

A cada uno de los periquitos, hembras (n=14) y machos (n =14) recibieron una dosis única de 0.03 ml, de RELINA 500® (GnRH), vía subcutánea en el pliegue del ala izquierda, utilizando una jeringa de insulina de 0.3 ml con aguja del número 28.

Imagen 9.- RELINA (gonadorelina) 500® PiSA AGROPECUARIA, México.

Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) exógena comercial, con la que se realizó la inducción hormonal de los ejemplares tratados tanto hembras como machos.

7.5 EVALUACIÓN CONDUCTUAL Y DE CARACTERES SEXUALES

Se realizó a los ejemplares del grupo control y grupo tratado tanto hembras como machos. Las variables a evaluar para hembras son: hiperactividad, actividad reproductiva, construcción de nido, postura y nacimientos. En el caso de los machos, las variables a evaluar fueron: hiperactividad, coloración de las cerosas y actividad reproductiva. Con esto se analizará si el tratamiento favorecerá la conducta sexual de cada grupo y de cada sexo.

7.6 DIAGNÓSTICO ULTRASONOGRÁFICO

La evaluación ultrasonográfica gonadal, se realizó en el laboratorio de cirugía experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (Imagen 10) en machos y en hembras de los grupos de control y de tratado con GnRH, cuidando en todo momento del bienestar animal, en apego total a la NOM-062-ZOO-1999.

Con los periquitos anestesiados, se posicionó cada uno en decúbito esternal y se realizó la evaluación gonadal de los grupos control y tratados a través de ultrasonografía en modo "M", utilizando un equipo K10 (KONTROLab©, Italy) y un transductor de 7.5 MHz posicionado en la región del sinsacro y gel como lo describe Melnychuck *et al*. (2002). Se obtuvieron las medidas de los ejes longitudinal, transversal y perimetral (área) testicular y ovárica.

7.6.1 PROCEDIMIENTO ANESTÉSICO

Se realizó anestesia general utilizando isofluorano (SofloranVet ® Pisa Agropecuaria, México) 2.5% y oxígeno (2 litros por minuto).

En una cámara de anestesia fueron colocados de manera individual, cada uno de los periquitos para la inducción anestésica (Imagen 11), cuando estos mostraron signos clínicos de anestesia, fueron sacados de la cámara, y se les coloco en la cabeza una máscara facial para el mantenimiento, se cuidó en todo momento el bienestar del animal, monitorizando sus signos vitales con un oxímetro de pulso OX 100 (KONTROLab©, Italy) (Imagen 12) y cuidando de mantener la temperatura corporal con un tapete térmico.

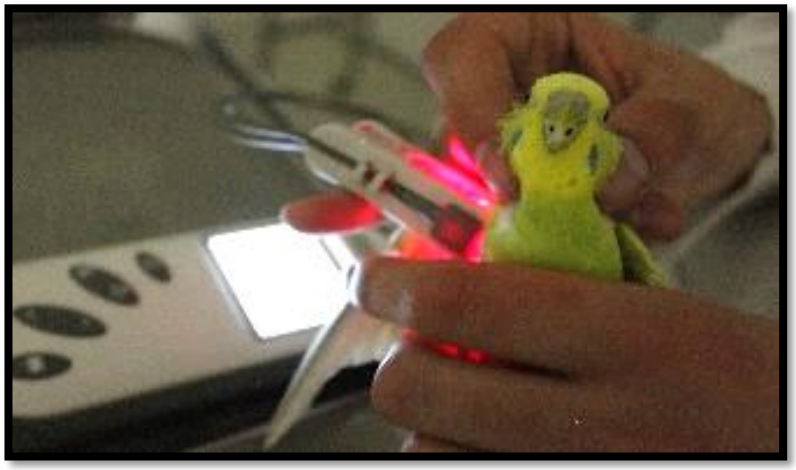
Imagen 10.- Equipo del Laboratorio de cirugía experimental.

Mostrando la mesa de trabajo, el ultrasonido y la cámara de anestesia, donde se llevó a cabo el procedimiento experimental de la evaluación gonadal a cada uno de los ejemplares experimentales.

Imagen 11.- Inducción anestésica en periquitos australianos.

Ejemplar de periquito macho dentro de la cámara anestésica suministrada por el isofluorano y el oxígeno.

Imagen 12.- Monitoreo de signos vitales en periquito australiano.



Ejemplar de periquito hembra, monitorizado del ala derecha conectada al oxímetro, tomando constantes fisiológicas durante todo el procedimiento experimental (inducción, mantenimiento y recuperación).

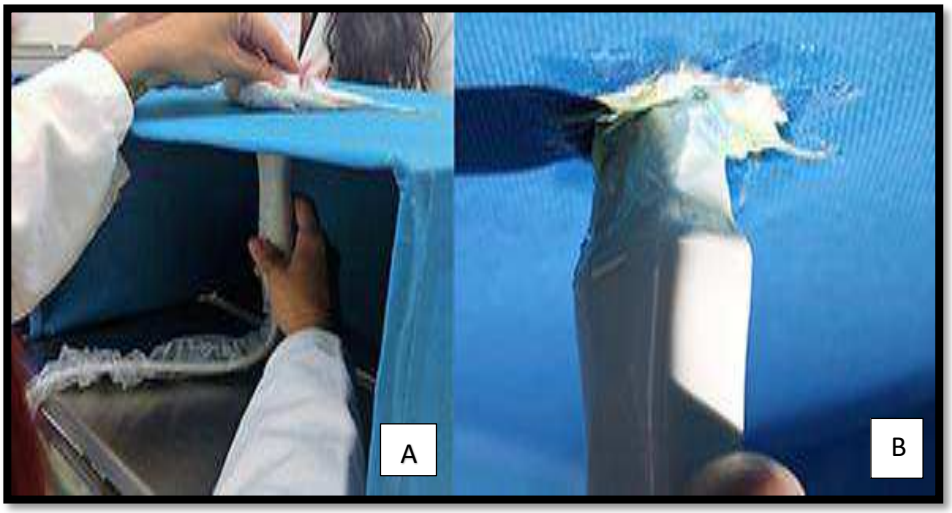
7.6.2 EVALUACIÓN DEL DESARROLLO OVARICO Y FOLICULAR

Despues de la inducción anestésica, se aplico gel en el area de monitoreo, se procedio a realizar la evaluación ultrasonográfica, colocando el transductor en la región craneal del sinsacro para así lograr la vista del ovario.

Se posicionó el transductor a través de una plataforma para poder evaluar el ovario, evitando así el eco ultrasonográfico que producen los órganos presentes en la cavidad celómica, como se muestra en la imagen 13.

Al realizar la evaluación ovárica, se registraron datos sobre: presencia, contabilización de los folículos y su desarrollo, tomando valores de clasificación: primario, secundario y terciario (Liu, *et al*., 2018).

Imagen 13.- Procedimiento ultrasonográfico en hembras

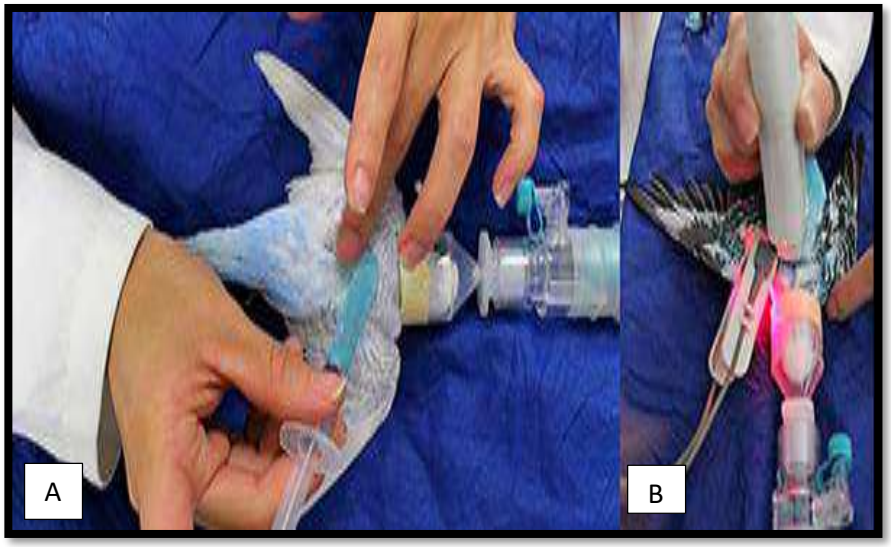


La letra A muestra la posición de la hembra, colocada sobre la plataforma exploratoria, para su evaluacion ultrasonografica ovarica, posicionando el transductor por el orificio para evaluar de una forma más certera el ovario y los folículos evitando el eco ultrasonográfico que producen los órganos presentes en la cavidad celómica, la letra B muestra el acercamiento de la posición del transductor a través de la plataforma, mostrando el contacto directo del transductor con el cuerpo de la hembra.

7.6.3 EVALUACIÓN DEL DESARROLLO TESTICULAR

Despues de la inducción anestésica, se aplico el gel y se realizó la evaluación ultrasonográfica, colocando del transductor en la región craneal del sinsacro, el cual nos permite localizar los testiculos como se muestra en la Imagen 14.

Imagen 14.- Procedimiento ultrasonográfico en machos



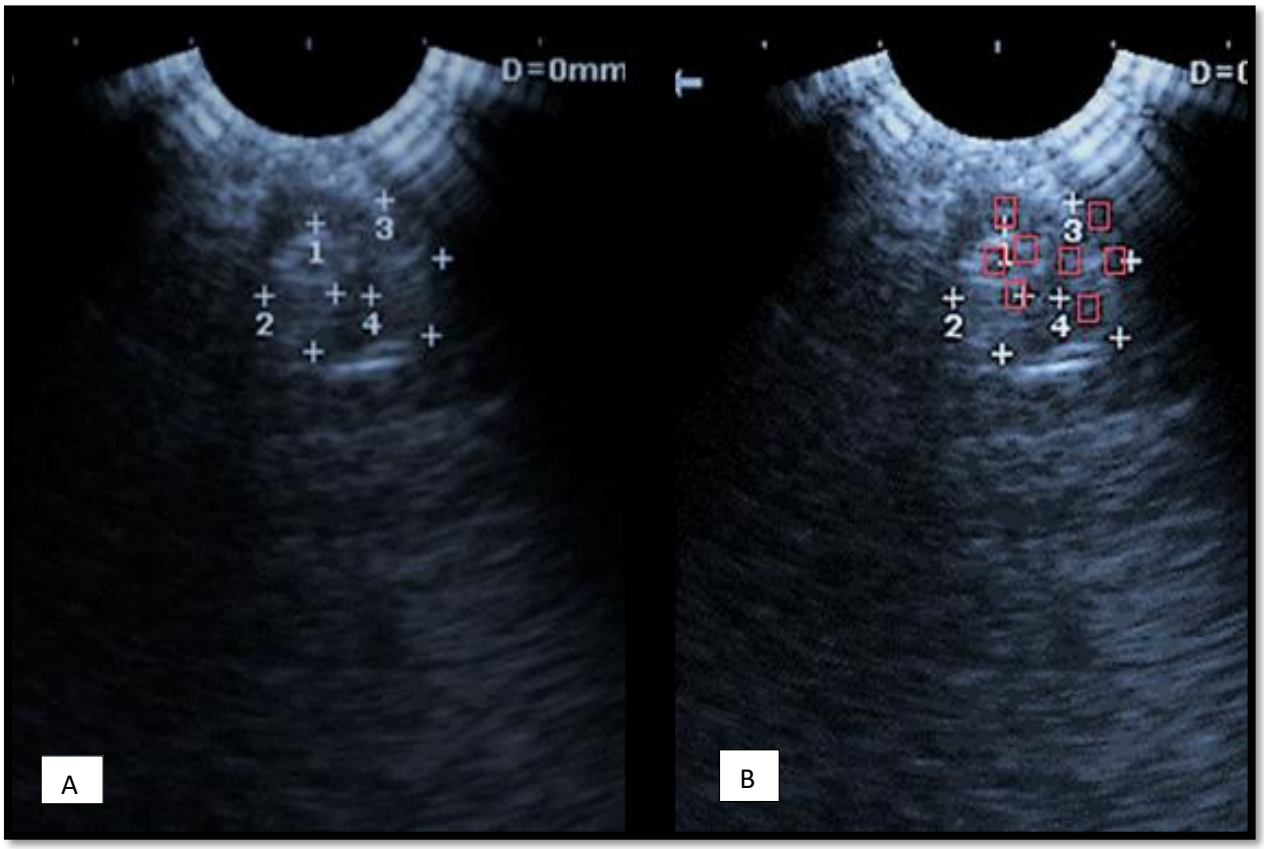
Letra A mostrando al periquito macho, colocando gel ultrasonográfico para la exploración. La letra B muestra la colocación del transductor en en la posición cubito ventral en la región craneal del sinsacro para la evaluación ultrasonográfica.

7.6.4 EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD TESTICULAR POR PIXELES

Se analizaron las imágenes testiculares de los grupos control y tratados con GnRH, obtenidas del procedimiento ultrasonográfico gonadal para recuperar el valor de la intensidad de pixel, utilizando el programa ImageJ. software (Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Maryland; http: rsb.info.nih.gov/ij/)

Se tomaron 10 puntos para testiculo derecho y 10 puntos para testiculo izquierdo a 2.0 mm^2 aleatoriamente como se muestra en la imagen 15 y se obtubieron valores de la intensidad del pixel para cada una de las imagenes de cada periquito.

Imagen 15.- Valoración de la densidad testicular por pixeles



Evaluación ultrasonográfica gonadal en modo “M” a base de grises, mostrando la letra A, la imagen ultrasonográfica de testículos sin marcaje, en la letra B, se muestran los testículos marcados aleatoriamente para ser evaluados por la técnica de pixeles.

7.7 OBTENCIÓN TESTICULAR

Al término de la valoración ultrasonográfica, los periquitos (2 tratados y 2 controles) fueron eutanaciados como indica la NOM-062-ZOO-1999, con una sobredosis de pentobarbital sódico (100mg/kg), se obtuvieron los testículos los cuales fueron fijados en solución de formalina amortiguada, para posteriormente realizar la tinción con hematoxilina y eosina.

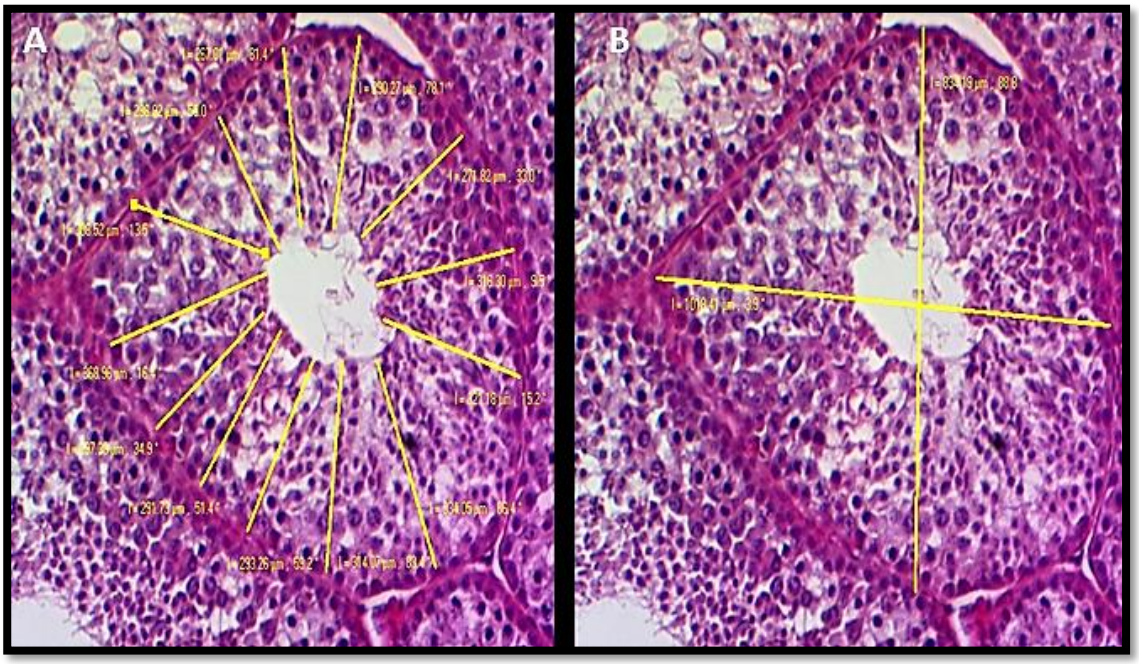
Descripción de la técnica Hematoxilina y Eosina:

- Sumergir los preparados histológicos en xilol para eliminar los excesos de parafina.
- Luego pasan por una serie de alcoholes en concentración decreciente para rehidratar la muestra (100°, 95° y 70°).
- Se lava en agua para eliminar exceso de alcohol
- Se sumerge en hematoxilina por 10 minutos, luego se lava en agua para eliminar excesos y se pasa rápidamente por alcohol ácido.
- Se lava nuevamente
- Se sumerge 30 segundos en eosina.
- Se pasa por otra serie de alcoholes, esta vez en orden creciente (70°, 95° y 100°) para deshidratar la muestra y que se pueda realizar el montaje con un pegamento no soluble en agua.
- Finalmente se deja remojar 10 minutos en xilol, antes de realizar el montaje final (Iseki, *et al.*, 2018).

7.7.1 EVALUACIÓN HISTOLÓGICA TESTICULAR

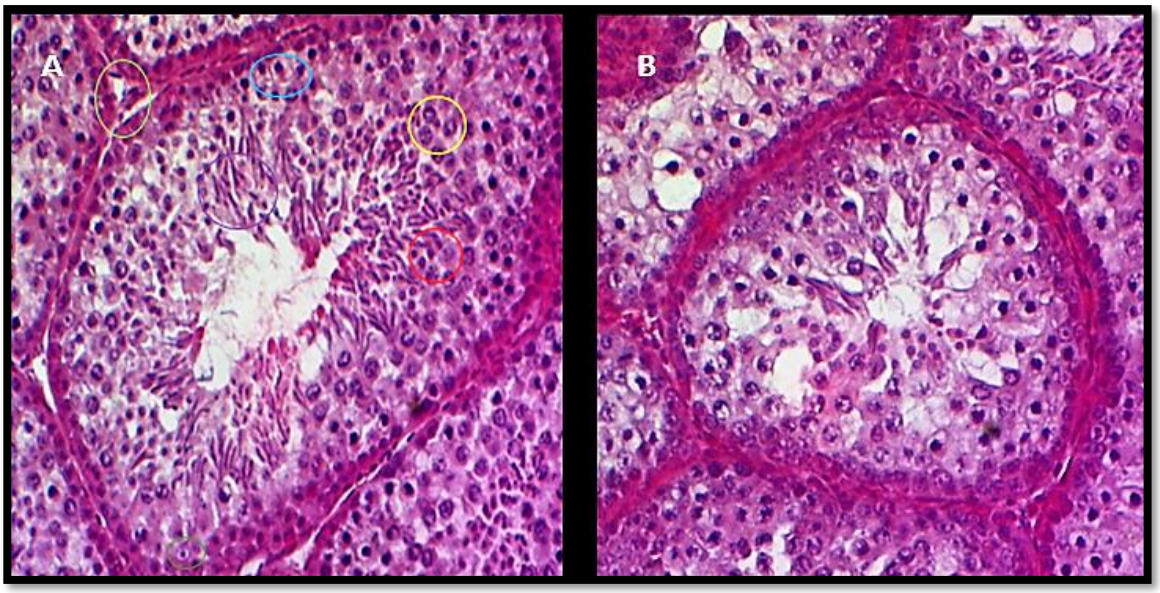
Se realizó el procesamiento de los tejidos testiculares de los grupos controles y tratado mediante la técnica de inclusión en parafina, se hicieron cortes histológicos de 3-4µm de grosor conforme lo recomienda Prophet (1994 a,b), las preparaciones fueron montadas y teñidas con hematoxilina-eosina (H y E) conforme recomienda Iseki y colaboradores (2018), para de manera posterior ser evaluados por microscopia óptica a 20X y 40X, tomar fotografías de 10 campos diferentes que contengan túbulos seminíferos lo más redondo posible y poder evaluar el tipo y cantidad de células. Se determinaron porcentajes de proliferación celular, observando las imágenes capturadas de los testículos de los ejemplares del grupo control y del grupo tratado con GnRH, se obtuvieron mediciones de los túbulos seminíferos y grosor del epitelio (imagen 16), así como conteo de células germinales: espermatogónias, espermatocitos, espermátides redondas, espermátides elongadas, células de Sertoli y células de Leydig como se muestra en la imagen 17 (Perez-Rivero, *et al.*, 2014).

Imagen 16.- Morfometría del túbulo seminífero y medición del epitelio germinal de periquito australiano.



Cortes histológicos donde se muestra el túbulo seminífero con mediciones de grosor del epitelio (A) y se muestra la medición de largo y ancho del túbulo seminífero (B).

Imagen 17.- Caracterización y conteo de células germinales del túbulo seminífero de periquito australiano.

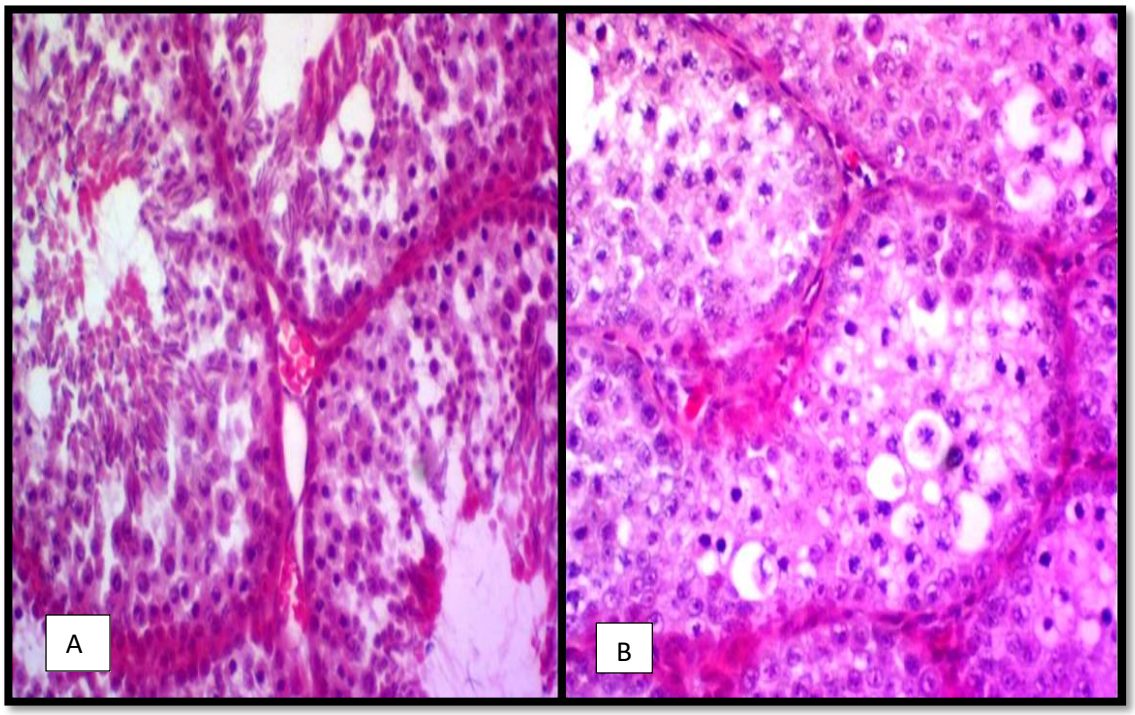


Cortes histológicos testiculares donde se muestra con la letra A el túbulo seminífero del periquito tratado resultando proliferación de células germinales, así como formación de espermatozoides, mientras que en la letra B se muestra el túbulo seminífero del ejemplar control donde muestra mayor producción de espermatogónias y se muestra cerrado sin actividad reproductiva.

7.7.2 EVALUACIÓN MORFOMÉTRICA DE VASOS SANGUÍNEOS TESTICULARES

Se determinaron porcentajes de crecimiento de vasos sanguíneos en los túbulos seminíferos como se muestra en la imagen 18, observando las imágenes capturadas de los testículos de los periquitos de grupo control y grupo tratado con GnRH, mismas que se utilizaron para la evaluación de la caracterización celular testicular.

Imagen 18.- Vasos sanguíneos testiculares de periquito australiano.



Cortes histológicos mostrando para la letra A, los vasos sanguíneos del grupo tratado con GnRH con evidente crecimiento, contra los vasos sanguíneos del grupo control mostrados en la letra B, ambos evaluados por microscopia a 40X.

7.8 OBTENCIÓN Y RECOLECCIÓN SEMINAL

Los eyaculados se obtuvieron por medio de masaje dorso- ventral.

Descripción de la técnica: Para realizar esta técnica en aves pequeñas, generalmente una persona sujeta con la mano izquierda al ave, tomándola por el cráneo y el torso, dirigiendo su cola hacia el codo y permitiendo que el ave pueda reposar. Con la mano derecha, se realiza un masaje de manera constante sobre la región dorso caudal y dirigiendo este masaje hacia la cola, para terminar alrededor de la cloaca y ayudar a evertirla con una presión bilateral por los dedos índice y pulgar, una vez expuesta la papila eréctil, se colecta el semen por aspiración con una micropipeta graduada (SL-1000, RANIN™, USA), como se muestra en la imagen 19 del lado izquierdo, el cual se depositó en un tubo eppendorf, el cual contiene 500

µl de medio Lake (Herrera, *et al*., 2013) como se muestra en la Imagen 19 del lado derecho.

Imagen 19.- Técnica de obtención y recolección seminal

Mostrando del lado izquierdo al Periquito en posicionamiento para realizar la obtención seminal mediante la técnica de masaje dorso-ventral y del lado derecho la recolección del eyaculado mediante una pipeta graduada.

7.8.1 DETERMINACIONES DE EVALUACIÓN ESPERMÁTICA

Se determinaron los porcentajes de movilidad de los espermatozoides a través de un microscopio óptico, la viabilidad y morfología espermática como se describe a continuación (Umapathy, *et al*., 2005; Herrera, *et al*., 2005; Ricart, *et al*., 2015).

Movilidad espermática:

A partir de una muestra del eyaculado diluido en 500 µl de medio LAKE, se depositaron sobre un porta objetos precalentado a 37°C una gota del eyaculado, el cual se observó en un microscopio óptico para contabilizar la proporción de espermatozoides que mostraron movimiento rectilíneo y progresivo (Herrera, *et al*., 2013).

Viabilidad espermática:

Se colocó semen diluido y 1 µl de eosina/nigrosina (1:5) en un portaobjetos, se homogeniza la muestra y se deja secar por 5 minutos. La muestra se observó en un microscopio óptico a 40x, se contaron 100 células, los espermatozoides teñidos se contabilizaron como muertos y los que no se tiñeron como vivos (Ricart, *et al*., 2015) (Imagen 20).

Imagen 20.- Espermatozoide teñido con eosina nigrosina.

Mostrando espermatozoides de periquito australiano evaluados donde se aprecia no teñido y se contabiliza como vivo.

Morfología espermática:
A partir del frotis utilizado para la valoración de la viabilidad espermática, se contabilizaron los espermatozoides con deformidades en cabeza, cuello y cola en un microscopio óptico, contando 100 células (Ricart, *et al.*, 2015).
Concentración espermática:
Se realizó tomando 15 µl de la muestra diluida en 500 µl de medio LAKE, determinando el conteo por medio de una cámara de Neubauer (Herrera, *et al.*, 2005).

7.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para valorar la normalidad de los parámetros evaluados, se sometieron a una prueba de Shapiro Wilk.
Los datos al no cumplir con el supuesto de normalidad, se sometieron a la prueba de Mann-Whitney para contrastar las medianas de los dos grupos independientes para los parámetros de: longitud, ancho y área testicular y ovárica, así como el conteo, supervivencia, morfología espermática, también para evaluar los conteos de celular germinales, túbulos seminíferos, densidad de pixeles y por ultimo evaluar comportamiento y actividad sexual en los periquitos.
Para la valoración de la anestesia, los parámetros evaluados fueron: inducción, mantenimiento y recuperación. Se tomó como valor significativo $p<0.05$.
Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa de libre acceso PAST ® (Hammer, *et al.*, 2001).

CAPÍTULO 8. RESULTADOS

8.1 CONDUCTA E INDICADORES REPRODUCTIVOS

En relación a la evaluación de conducta y caracteres sexuales en machos comparando entre los grupos (control y tratados), se muestran en la tabla 1 los resultados de hiperactividad, color de las cerosas y actividad reproductiva donde se observaron diferencias significativas ($p<0.05$). En el caso de las hembras (tabla 2) se muestran los resultados, construcción de nido, apareamiento, postura y nacimientos con diferencias significativas ($p<0.05$).

TABLA 1. Comportamiento sexual en Machos de *Melopsittacus undulatus* mostrando presencia de actividad reproductiva en ejemplares del grupo tratado con GnRH**.**

	Control (n=12)	**GnRH (n=12)**	**Valor de P (Mann-Whitney)**
Hiperactividad	2	7	p<0.05
Porcentaje Intervalo de confianza al 95%	16.67% 2.09-48.411%	60% 27.67-84.83%	
Cerosa nasal	3	10	p<0.05
Porcentaje Intervalo de confianza al 95%	25% 5.49-57.19%	83.33% 51.59-97.91%	
Apareamiento	2	8	p<0.05
Porcentaje Intervalo de confianza al 95%	16.67% 2.09-48.411%	66.67% 34.89%-90.08%	

Porcentajes de hiperactividad, aspecto de cerosas y apareamiento en machos., se expresan como mediana ± Error Estándar (EE) por grupo, durante el periodo experimental. Significancia estadística a la prueba de Mann Whitney ($p < 0.05$).

TABLA 2. Comportamiento sexual y conductual en Hembras de *Melopsittacus undulatus*, mostrando que los ejemplares de grupo GnRH, presentan evidente respuesta al tratamiento, teniendo una postura de 32 huevos, contra las hembras del grupo control, de las cuales no se obtuvo postura.

	Control (n=10)	**GnRH** (n=10)	**Valor de P (Mann-Whitney)**
Hiperactividad* (NUMERO DE ANIMALES)	2	6	p<0.05
Porcentaje Intervalo de confianza al 95%	20% 2.52-55.61%	60% 26.24-87.84%	
Construcción de nido*	0	9	p<0.05
Porcentaje Intervalo de confianza al 95%	0	90% 55.5-99.75%	
Postura General**	0	32	p<0.05
Mediana Intervalo de confianza	0	3 3-4	
Nacimientos en general**	0	25	p<0.05
Mediana Intervalo de confianza	0	3 2-3	

Porcentajes totales de evaluaciones conductuales durante el periodo experimental. Porcentajes totales de caracteres sexuales en hembras por grupo. Significancia estadística a la prueba de Mann Whitney ($p < 0.05$).

8.2 EVALUACIÓN ULTRASONOGRAFICA DEL TAMAÑO GONADAL

Se tomaron mediciones del tamaño testicular de manera longitudinal, transversal y perimetral como se muestra en la imagen 21 con esto se obtubieron medias, las cuales se compararon entre controles y tratadoscon GnRH.

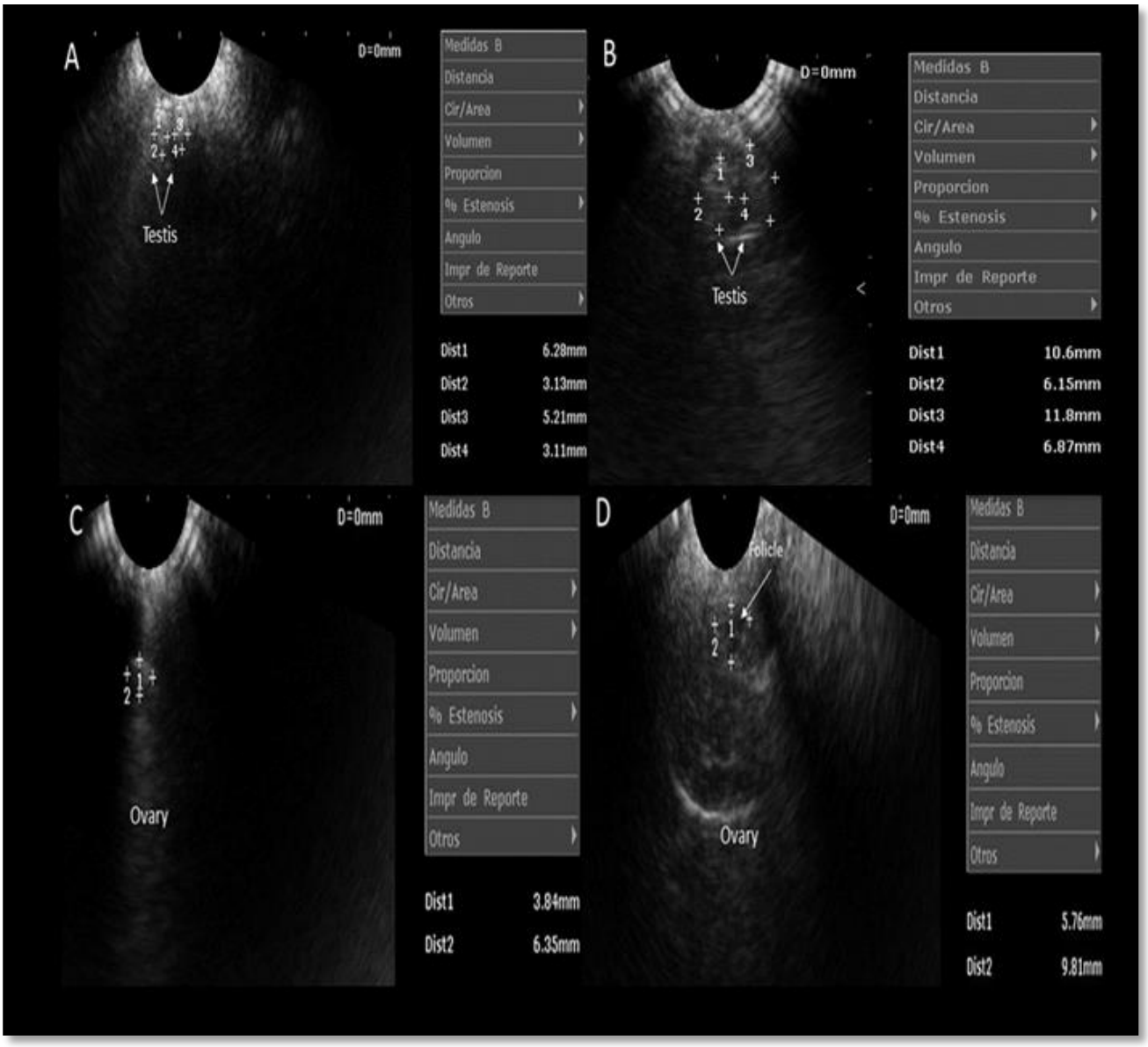
De manera adicional se registraron valores de tamaño ovárico como longitud, eje transversal y perimetral, así como datos sobre la presencia y cantidad de folículos y su nivel de desarrollo clasificándolos como primarios, secundarios y terciarios. Todas las evaluaciones gonadales mostraron diferencia significativa de ($p<0.05$) entre controles y tratadoscon GnRH como se muestra en la tabla 3.

TABLA 3. Desarrollo gonadal en machos (Testículos) y hembras (Ovario y folículos), sin y con tratamiento de GnRH.

	TESTICULO				OVARIO	
Lateralidad	IZQUIERDO		DERECHO		IZQUIERDO	
Grupo	M	TM	M	TM	F	TF
Largo (mm)	6.4 ± 0.5	8.4 ± 0.8	6.2 ± 0.6	8.4 ± 0.7	5.6 ± 0.6	7.5 ± 1.7
Ancho (mm)	4.0 ± 0.9	5.5 ± 0.8	3.6 ± 0.7	5.6 ± 0.8	3.5 ± 0.8	6.2 ± 2.1
Área (mm^2)	25.3 ± 6.7	46 ± 7.9	22.6 ± 5.5	47.6 ± 8	19.6 ± 5.2	46.8 ± 18.6
No de folículos					2.8 ± 0.8	2.9 ± 1
Clasificación folicular					1 ± 0.4	3 ± 1

Número total de medición testicular, ovárica y de desarrollo folicular (media ± E.E.) por grupo, durante el periodo experimental. Grupos diferentes en el mismo renglón, indican datos significativamente diferentes para el análisis estadístico Mann Whitney ($p<0.05$). Estos datos sugieren que el crecimiento gonadal, así como el desarrollo folicular puede ser estimulado por GnRH, estos folículos se vuelven sensibles en respuesta al aumento de FSH y LH.

Imagen 21.- Evaluación ultrasonografica gonadal en machos y hembras de periquito australiano.



Se muestra la valuación ultrasonográfica gonadal en modo “M” a base de grises, mostrando la letra A que corresponde a los testiculos del grupo control (M) y la letra B mostrando los testiculos del grupo tratado con la aplicación de GnRH. La letra C corresponde al ovario y folículos del grupo control de hembras (F) y la letra D corresponde al ovario y folículos del grupo con aplicación de GnRH de hembras (FT) mostrando un evidente crecimiento testicular y ovárico, así como evolución folicular.

8.2.1 DENSIDAD TESTICULAR POR PIXELES

Posteriormente a la obtención de imágenes ultrasonograficas de la evaluación gonadal realizada a cada periquito se analizaron en base a su ecogenisidad a través de la intensidad en pixeles los cuales fueron analizados teniendo como resultado que los valores de los testículos de los ejemplares del grupo control (76±7 pixeles), presentan mayor intensidad que los testículos del grupo tratado (41±3 pixeles) como se muestra en la tabla 4 demostrando testiculos heterogéneos, con parénquima anecoico y punteado ecogénico prominente.

TABLA 4. Evaluación del grosor del epitelio germinal testicular por pixeles, los resultados sugieren un incremento en la densidad testicular de los ejemplares del grupo control correlacionando esto con menor producción espermática.

	CONTROL	TRATADOS CON GnRH	Valor de P (Mann-Whitney)
Valor total de la intensidad de pixeles	76±7	41±3	$p<0.001$

Medianas totales de intensidad en pixeles por grupo con una diferencia significativa de $p<0.01$.

8.3 CARACTERIZACIÓN MORFOHISTOLÓGICA TESTICULAR

Los resultados obtenidos del conteo de células del epitelio germinal, presentaron diferencia significativa de ($p<0.05$) mostrando una proliferación evidente en el conteo de grupo tratado contra el grupo control, en cuanto a las mediciones del área del túbulo seminífero, no mostraron diferencia significativa como se muestra en la tabla 5 aunque, el grosor que presento el epitelio, tubo crecimiento evidente en ejemplares del grupo tratado y teniendo diferencia significativa contra los del grupo control.

TABLA 5. Conteo celular y caracterización del túbulo seminífero de ejemplares control y tratados con GnRH. Los datos sugieren un incremento significativo en las células germinales en el túbulo seminífero de los ejemplares tratados.

Conteo	**CONTROL**	**GnRH**	**Valor de P (Mann-Whitney)**
Espermatogónias	33±4	58±2	p<0.001
Espermatocitos	34±2	52±2	p<0.001
Células de Sertoli	4±1	6±1	p<0.001
Células de Leydig	3±1	6±1	p<0.001
Espermátides redondas	46±7	98±6	p<0.001
Espermátides elongadas	20±2	74±5	p<0.001
Área del túbulo seminífero μm^2	67131.68±9849.01	71422.24±3965.65	p>0.05
Grosor epitelio germinal µm	51.5±2.9	73.1±3.1	p<0.001

Medianas totales de conteo celular (mediana ± E.E.) por grupo, durante el periodo experimental. Datos indicando resultados significativamente diferentes para el análisis estadístico Mann Whitney ($p< 0.05$).

8.3.1 VASCULARIDAD TESTICULAR

Los resultados obtenidos al medir los vasos sanguíneos en muestras testiculares de ejemplares control y de ejemplares tratados favorecieron a los ejemplares del grupo con GnRH con una diferencia significativa de ($p<0.001$) como se muestra en la tabla 6.

TABLA 6. Área de vasos sanguíneos testiculares, los datos sugieren un incremento significativo en las medidas de los vasos sanguíneos en el túbulo seminífero de los ejemplares tratados

	CONTROL	**TRATADOS CON GnRH**	**Valor de P (Mann-Whitney)**
Área de los vasos sanguíneos μm^2	708±154	3159±821	$p<0.001$

Medianas totales de vasos sanguíneos (mediana ± E.E.) por grupo, durante el periodo experimental. Datos indicando resultados significativamente diferentes para el análisis estadístico Mann Whitney ($p< 0.05$).

8.4 EVALUACIÓN ESPERMATICA

La concentración espermática del grupo tratado con GnRH se incrementó de manera considerable (7.73±3.74) en comparación con los animales del grupo control (2.16±0.86) siendo la diferencia significativa ($p<0.05$), todos los demás parámetros evaluados no presentaron diferencias, como se muestra en la Tabla 7.

TABLA 7. Variables de evaluación seminal básica, los datos sugieren un incremento significativo en la concentración espermática de los ejemplares tratados.

	Control	**GnRH**	**Valor de P (Mann-Whitney)**
Motilidad (%)	60±7.4	70±7.3	p>0.05
Concentración espermática X10^{6}µL	2.16±0.86	7.73±3.74	p<0.05
Viabilidad (%)	97±1	98±1	p>0.05
% de Anormalidades en espermatozoides			
Cabeza	1±0	1±0	p>0.05
Cuello	2±1	1±0	p>0.05
Cola	1±0	1±0	p>0.05

Medianas totales de evaluación seminal básica (mediana ± E.E.) por grupo, durante el periodo experimental. Letras diferentes indican datos significativamente diferentes para el análisis estadístico Mann Whitney ($p<0.05$).

CAPÍTULO 9. DISCUSIÓN

9.1 EVALUACIÓN CONDUCTUAL Y DE CARACTERES SEXUALES

La reproducción natural de aves psitácidas, se caracteriza por presentar una estacionalidad muy marcada, que trae consigo, activación de conductas y caracteres sexuales propios de su especie, por lo que el estudio del comportamiento y características sexuales presentes, resulta de gran importancia. Al inducir la reproducción mediante hormonas, en ejemplares que se encuentran en etapa no reproductiva, la evaluación conductual resulta aun de más importancia, ya que la presencia de caracteres sexuales y conductuales, quiere decir, que el ejemplar se encuentra activo sexualmente.

Los resultados obtenidos del estudio, nos indicaron que la administración exógena de GnRHI análoga como única dosis, funciona a nivel fisiológico, ya que los periquitos machos y hembras sometidos a inducción hormonal, respondieron al tratamiento de manera favorable, mostrando evidentes características de activación sexual, presentando la mayoría de ellos cambios en su comportamiento y caracteres sexuales evidenciando que se encontraban iniciando su reproducción, como sucede de manera natural en temporalidad.

El 90% de los ejemplares sometidos al tratamiento hormonal de GnRHI mostraron caracteres sexuales evidentes y el 60% de los ejemplares sometidos al tratamiento, mostraron conducta sexual activa, se obtuvo mayor sincronización entre parejas así como mayor número de aves fertilizadas, y con esto un incremento en la ovopostura de 3 de 4 hembras, presentando nacimientos de 2 de 3 huevos durante el periodo experimental, demostrando que la inducción hormonal tuvo resultados significativos, situación que concuerda con el estudio realizado por Costantini y colaboradores en 2009, donde mencionan que la combinación del fotoperiodo con la aplicación de la hormona GnRH mediante un implante análogo en periquitos australianos adultos durante el periodo no reproductivo, induce un incremento de la LH, así como el inicio de la actividad reproductiva y desarrollo gonadal, mostrando mayor sincronización en la ovo-postura, mayor número de aves fertilizadas y con esto, un incremento en la puesta de huevos. Además, se concuerda en que la administración de hormonas exógenas, en el *melopsittacus undulatus*, induce la reproducción en época no estacional, maximizando la copula y favoreciendo la ovopostura, permitiendo ser un excelente protocolo para extrapolar a especies de mayor valor genético, con esto recalcar que puede beneficiar a la conservación, así como maximizar la reproducción de ejemplares para la comercialización.

Se notó que la inducción hormonal, podría reducir anomalías conductuales como las que causa la impronta, que es muy común en psitácidos, además de anomalías que causa el cautiverio como inactividad sexual aun con formación de vínculos, repercutiendo directamente en su reproducción.

9.2 EVALUACIÓN ULTRASONOGRAFICA DEL DESARROLLO GONADAL

La mayoría de las especies de psitácidos no presentan dimorfismo sexual, por lo que es común no saber el sexo de estos. El diagnostico gonadal a través de la técnica de ultrasonografía en aves psitácidas, resulto ser innovador y de suma importancia, ya que, al ser un protocolo para extrapolar a otras especies psitácidas de alto valor biológico, permitió sustituir técnicas invasivas como la laparoscopia, que se utiliza comúnmente para exámenes exploratorios y reproductivos en aves, por un diagnostico ultrasonográfico no invasivo y de precisión.

En el presente trabajo esta técnica resultó muy útil, ya que se logró observar el desarrollo gonadal tanto de hembras y machos controles, para poder compararlos con las hembras y machos del grupo tratado. Los resultados obtenidos demostraron que al administrar una única dosis de 3 µg de la hormona análoga de GnRHI, se obtiene un incremento en el desarrollo folicular en hembras de primario a terciario y en machos se obtiene un incremento en el crecimiento testicular de 25 mm^2 a 46mm^2 (izquierdo) y 22 mm^2 a 47 mm^2 (derecho), con significancia estadística de $p<0.05$, concordando con el estudio realizado por Minoia y colaboradores en 1984, observando que en la especie *Perdix perdix, administrando 3.8* µg de la hormona GnRH cada 8 horas, producía crecimiento folicular.

Melnychuck y colaboradores en 2002, demostraron que, al evaluar el desarrollo ovárico y folicular en gallinas mediante la evaluación ultrasonográfica en modo B en escala de grises, se podía observar claramente el ovario, así como su apariencia y número de folículos pre ovulatorios y con huevos en desarrollo, concordando con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que, demostraron que la utilización de ultrasonografía en hembras y machos, en etapa reproductiva y no reproductiva, es una alternativa que permite realizar muestreos de órganos y ciclos reproductivos, teniendo resultados precisos y al momento.

9.3 DENSIDAD TESTICULAR POR PIXELES

Uno de los principales objetivos del presente trabajo fue la utilización de técnicas innovadoras y no invasivas para los ejemplares, y que presentaran resultados precisos. La densidad testicular, se pueden evaluar objetivamente, a través de un programa de computo mediante el análisis de imágenes digitales por pixeles, siendo medidas complementarias útiles y no invasivas en un examen de solidez reproductiva, mostrando mediante imágenes ultrasonográficas, una alternativa para poder correlacionar la producción espermática con la intensidad de pixeles, los resultados obtenidos en el presente trabajo, mostraron ejemplares de control con un valor de 76 intensidad de pixeles y testículos homogéneos y con parénquima hipoecoico contra, los ejemplares tratados con GnRH, que presentaron un valor de 41 intensidad de pixel y testículos heterogéneos, con parénquima anecoico y punteado ecogénico prominente, lo cual nos indicó, que entre menor sea la intensidad de pixeles, mayor será la producción de espermática debido al trabajo

realizado por Moxon y colaboradores en 2015, donde utilizaron la técnica de ultrasonografía para medir la ecogenisidad y heterogeneidad de los testículos en perros fértiles, correlacionando la calidad seminal con la heterogeneidad testicular obteniendo que la heterogeneidad testicular media se correlacionó positivamente con mayor producción de espermática.
Los perros y las aves son muy distintos en su reproducción ya que una es estacional y la otra es continua, pero la evaluación de la densidad por pixeles, nos demuestro que es de gran utilidad y muestra resultados significativos en cualquier especie.

9.4 MORFOMETRÍA TESTICULAR

En el presente trabajo, se realizaron evaluaciones morfo-histológicas de los cortes testiculares los cuales fueron procesados de manera convencional por inmersión en parafina y tinción con hematoxilina y eosina de periquitos adultos y que se encontraban en etapa no reproductiva, obteniendo resultados positivos de periquitos bajo inducción hormonal con GnRH, comparados con los ejemplares del grupo control, mostrando que el túbulo seminífero no incrementaba su tamaño significativamente, pero el grosor de epitelio si se incrementó pasando de 51 µm en controles a 73 µm en tratados y las células germinales, espermatogónias, espermatocitos, células de Sertoli, células de Leydig, espermátides redondas y espermátides elongadas, las cuales se caracterizaron y se contaron, mostraron una proliferación significativa de $p<0.001$, teniendo periquitos que presentaban activación reproductiva y presentando espermatogénesis, concordando con lo mencionado por Hänse y colaboradores en 2008, donde evaluaron mediante el examen histológico de testículo, a ejemplares de periquito australiano en etapa estacional, donde describieron su morfología en la etapa reproductiva encontrando que el 78% de túbulos seminíferos evaluados, presentaron un desarrollo del epitelio germinal activo y proliferación celular evidente.
La diferencia entre este trabajo y el trabajo realizado por Hänse es que evaluaron a periquitos en etapa fértil por lo que la espermatogénesis se evaluó en etapa activa y el presente trabajo, evaluó en etapa no estacional, induciendo la reproducción mediante el uso de la GnRHI, por lo que al obtener resultados significativos, se pudo demostrar que la inducción hormonal es de gran utilidad para iniciar el proceso de espermatogénesis de forma artificial pero la proliferación celular se da de la misma manera que en etapa reproductiva.

9.5 EVALUACIÓN VASCULAR TESTICULAR

Al querer correlacionar el crecimiento testicular con la calidad de gametos, esto con las evaluaciones morfométricas anteriormente mostradas, las cuales presentaron resultados viables y significativos, la evaluación del crecimiento de vasos sanguíneos dentro del testículo sabemos que tiene un papel en el factor de crecimiento del

endotelio vascular, por lo que desde el punto de vista fisiológico con los resultados obtenidos en este trabajo, donde se encontró un incremento en la función gonadal asociado con un incremento significativo del volumen vascular en los animales tratados con GnRH en comparación con los animales del grupo control, se demuestra que la vascularidad testicular mayor se presenta en tejidos que muestran actividad reproductiva ya que necesitan mayor irrigación sanguínea y por ende crecimiento de vasos sanguíneos, lo que se demuestra en este trabajo al realizar la morfofisiología de vasos sanguíneos y teniendo crecimiento significativo del área de vasos sanguíneos en ejemplares tratados con la hormona de 3159µm^2 en comparación con los ejemplares del grupo control que presentaron 708 µm^2.
En el estudio descrito por Rosales y Guzmán en 2011, realizaron un análisis del flujo sanguíneo por ultrasonido donde se analizó el papel del factor de crecimiento del endotelio vascular durante los procesos involucrados en el ciclo ovárico reproductivo de vacas, donde concluyeron que un factor que condiciona la selección del folículo dominante, además de su producción de estradiol y respuesta a gonadotropinas, es la capacidad de desarrollar una mayor red vascular, así como un incremento en la permeabilidad vascular. Ambos estudios concuerdan en que los tejidos que presentan mayor actividad reproductiva, desarrollan una mayor difusión sanguínea y con esto se favorece el crecimiento de vasos sanguíneos, así como una mayor red vascular mediante la producción de la hormona GnRH, en el presente trabajo, mediante la inducción hormonal, en ejemplares en etapa no reproductiva, se pudo notar el efecto similar al que tienen los ejemplares en etapa estacionalidad.

9.6 EVALUACIÓN ESPERMATICA BÁSICA

En cuanto a las variables de evaluación espermática básica, los resultados obtenidos en el presente trabajo, nos muestran que la administración de 3 µg de la hormona GnRH exógena por vía subcutánea (Relina 500©) en periquitos australianos machos, indujo el crecimiento gonadal y mejoro la calidad espermática teniendo una mejor calidad espermática con una viabilidad entre 97% y 98% y una concentración espermática de 9.3 x 10^6, demostrando que la inducción hormonal presenta calidad de gametos en ejemplares que no se encuentran en etapa estacional, aportando información muy valiosa a las técnicas de reproducción asistida, ya que con esto se puede tener certeza para lograr una inseminación artificial viable, concordando con Calderón y colaboradores en el trabajo realizado en 2015 donde demostraron que la administración de la hormona GnRH presenta viabilidad espermática y mayor concentración espermática en ejemplares tratados, resultados que son concordantes a las observaciones realizadas por Hänse y colaboradores en 2008 quienes evaluaron la producción espermática en periquitos machos (*Melopsittacus undulatus*) durante distintos meses del año y en particular en la época reproductiva donde se produce la hormona GnRH, teniendo 86%-98% de viabilidad y la concentración espermática promedio fue de 7.7 x 10^6 espermatozoides, cabe

mencionar que el presente trabajo mostro mayor viabilidad y mayor concentración espermática.
Los resultados entre ambos estudios son de importancia en biología reproductiva, debido a que ambos son muy similares, con la diferencia de que el primero, Hänse y colaboradores (2008) fue realizado con animales en etapa reproductiva sin ningún manejo farmacológico, es decir, en condiciones naturales y el segundo estudio fue realizado en animales que se encontraban en etapa no reproductiva, en los que se realizó manipulación farmacológica de la reproducción con GnRH, lo que indica que es factible inducir "estacionalidad reproductiva" en aves de manera artificial.

CAPÍTULO 10. CONCLUSIÓN

La manipulación farmacológica con GnRH, es una técnica que a través de las evaluaciones realizadas en este trabajo, demostró tener un efecto favorecedor a nivel fisiológico reproductivo en aves psitácidas, ya que presentan una estacionalidad muy marcada además de que la reproducción en cautiverio trae consecuencias y alteraciones en el eje hipotálamo hipofisario, presentándose mayor mente en psitácidos comparado a otras especies de aves debido a la impronta ya que se adquieren como aves de compañía, estas alteraciones pueden repercutir permanentemente en la actividad reproductiva de los psitácidos por lo que la inducción hormonal representa una gran ventaja para contrarrestar esta problemática. El estudio se realizó en la especie *Melopsittacus undulatus* ya que es factible extrapolar protocolos a otras especies de alto valor biológico, y notamos que la inducción hormonal funciono en etapa no reproductiva, ya que se demostró que se presentó actividad sexual, mayor sincronización de hembras con machos teniendo receptividad de las hembras, así como incremento del desarrollo gonadal constatado mediante ultrasonografía, también se obtuvo mayor proliferación de células germinales evaluado a través de histometría testicular, además de presentar la calidad espermática viable para técnicas de reproducción asistida tales como la inseminación artificial o criopreservación. En Hembras se demostró un aumento en el crecimiento de ovocitos, lo que se constató por ultrasonografía además de que se presentó incremento en la postura demostrando que la inducción hormonal no nada más favorece el desarrollo gonadal si no también la calidad de gametos y con esto se presentan hembras más receptivas, mayor número de aves fertilizadas y mayor ovo-postura.
La inducción hormonal mediante análogos de la hormona GnRH, es una excelente alternativa para el manejo reproductivo favoreciendo la reproducción en especies de aves psitácidas en cautiverio que se encuentran en etapa estacional o no estacional, beneficiando su conservación, o bien, para la maximización de la producción en ejemplares que se utilizan con fines comerciales.
Cabe destacar, que las técnicas utilizadas en este trabajo, como la ultrasonografía, y la evaluación testicular por pixeles son innovadoras en psitácidos y no invasivas,

presentando ventajas para diagnósticos reproductivos que se realizan a especies de alto valor genético o que se encuentran en peligro de extinción.

BIBLIOGRAFÍA

- Abramson, J., Speer, B.L. & Thomsen, J.B. 1995. The Large Macaws: Their Care, Breeding and Conservation. *Journal of the American Federation of Aviculture,* p. 22: 552.
- Ahammad, M., Nishino, C., Tatemoto, H., Okura, N., Okamoto, S., Kawamoto, Y., & Nakada, T. 2013. Acrosome reaction of fowl sperm: Evidence for shedding of the acrosomal cap in intact form to reléase acrosome enzyme. *Poultry Science,* pp. 798-803.
- Anand, S. & Samborlang, B. 2018. Photoperiodic control of GnRH-I expression in seasonal reproduction of the Eurasian tree sparrow. *Photochemical & Photobiological Sciences,* pp. 17: 934-945.
- Armsworth, P., Kendall, B.E. & Davis, F.W. 2004. An introduction to biodiversity concepts for environmental economists. *Resource and Energy Economics,* pp. 26: 115-136.
- Bakst, M. 2010. Role of the Oviduct in Maintaining Sustained Fertility in Hens. *Journal of Animal Science ,* pp. 89: 1323-1329.
- Bentley, G., Kriegsfeld, L.J., Osugi, T., Ukena, K., O´brien, S. Perfito, N., Moore, I.T., Tsutsui, K. & Wingfield, J.C. 2006. Interactions of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) in birds and mammals. *Journal of Experimental Zoology,* pp. 305: 807-814.
- Blanco, J., Gree, G. F., Wildt, D. & Donoghe, A.M. 2002. Producing progeny from endangered birds of prey: treatment of urine-contaminated semen and a novel intramagnal insemination approach. *Journal Zoo Wildlife Medical ,* pp. 33: 1-7.
- Blanco, J., Long, J., Gee, G., Wildt, D. 2010. Comparative cryopreservation of avian spermatozoa: Effects of freezing and thawing rates on turkey and sandhill crane sperm cryosurvival. *Animal Reporduction of Science,* pp. 123: 242-248.
- Bousquets, J. & Ocegueda, S. 2008. Estado del conocimiento de la biota, en capital natural de México. *CONABIO, México,* Volumen I: Conocimiento actual de la biodiversidad., pp. 283-322.

- Bradshaw, G. & Engebretson, M. 2013. *Cría y tenencia de loros: impacto de su captura y cautiverio.* Estados Unidos de América: Animals and Society Institute.
- Brandstätter, R. 2003. Encoding time of day and time of year by the avian circadian system. *Journal of Neuroendocrinology,* pp. 15: 398-404.
- Burrows, W. & Quinn, J. 1937. The collection of spermatozoa the domestic fowl and turkey. *Poultry Science Journal,* pp. 16: 19-24.
- Calderón, G., Vargas A.K., Ávalos, R.A., Rosales, M.A. & Herrera J.A. 2015. Caracterización y criopreservación seminal de periquito australiano *Melopsittacus undulatus*. *Aviornis Internacional,* pp. 144:72-74.
- Cantú, J. & Sánchez, M. 2012. *ESTUDIO DE CASO: EL TRÁFICO ILEGAL DE PERICOS SILVESTRES EN MÉXICO. Seminario INE-PROFEPA-WSPA Tráfico Ilegal de Especies Silvestres, una Amenaza para la Biodiversidad,* México: s.n.
- CITES. 2017. *Ápendices I, II y III.* [En línea] Available at: https://www.cites.org/eng/app/appendices.php
- Collar, N., Crosby, J.M., & Stattersfield, J.A. 1994. *Birds to Watch 2 : the World List of Threatened Birds: Birdlife Conservation.* Cambridge: Birdlife International.
- Costantini, V., Carraco, C., Bucci, F.A., Simontacchi, C., Lacalandra, G.M. & Minoia, P. 2009. Influence of a new slow-release GnRH analogue implant on reproduction in the Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 1805).. *Animal Reproduction Science,* pp. 111: 289-301.
- Cruz, A., Arriaga, A.C., Rincón, R.M., Fernandez, G., Villasmil, O.Y., Gómez, O. & Henríquez, A. 2008. VALORES HEMATOLÓGICOS DE PSITÁCIDOS DE LOS GÉNEROS ARA Y AMAZONA*. Revista Científica, XVIII,* pp. 6: 649-661.
- Dickinson, E. 2003. Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World, 3rd Edition. En: London: s.n., pp. 1-1039.
- Duchi, D., Almela, V.L., Peinado, R.B. & Poto, R.A. 2009. Criopreservación de semen de gallo: una alternativa para la recuperación y conservación de la gallina de raza murciana. *Agroecología.*
- Engels, B. & Winkler, S. 2010. El patrimonio mundial y la meta de biodiversidad. *Revista del Patrimonio Mundial,* pp. 49: 4-17.

- Etches, R. 1996. The male, en reproduction in poultry. En: Ontario, Canada: International C. Cambridge, pp. 208-2033.
- FAO. 2009. *Intercambio comercial de aves silvestres (y otros desplazamientos afines) en 33 países de america latina y el caribe.* [En línea] Available at: http:www.fao.org/doccrep/011/i0708s.htm
- Galina, C., Valencia, J. & Saltiel, A. 2008. Reprocucción de los animales domesticos. 3a. edición. En: México: Limusa, pp. 1-518.
- Gil, R. 2016. Reproducción de las aves. *Revista Digital Animales y Mascotas,* pp. ISSN 2529-895X.
- Gismondi, E. 1999. *El gran libro ilustrado de los loros.* Barcelona, España: DE VECCHI .
- Gutiérrez, G. 1999. Hormonas y reproducción en aves: La influencia de factores ambientales y sociales. *Revista Latinoamericana de PsicologÍa,* pp. 1: 151-154.
- Gwinner, E. & Brandstätter, R. 2001. Complex bird clocks. *Philosophical transactions of the royal Society of London,* p. 1415:1801.
- Hafez, E., Jainudeen, M.R. & Rosina, Y. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales, 7a. Ed. En: *Capitulo 3: Hormonas, factores de crecimiento y reproducción.* México: GrawHill.
- Hammer, Ø., Harper, D. & Ryan, P. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Paleontología Electrónica, 4: 9..
- Hänse, M., Schmidt, V., Schneider, S., Della Volpe, A. & Krautwald-Junghanns, M.E. 2008. Comparative examination of testicular biopsy samples and influence on semen characteristics in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery,* pp. 22: 300-309.
- Harrison, G. & Wasmund, D. 1983. Preliminary studies of electroejaculation to facilitate manual semen collection in psittacines. *Proceedings of the Annual Meeting of the Association of Avian Veterinarians, Krakow. Poland,* pp. 207-213.
- Herbert, C. & Trigg, T. 2005. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science,* pp. 88: 141- 153.
- Herrera, J.A., Ávalos, R.A., Rodríguez I., Gonzales, J.A. & Rosales, A.M. 2013. *Técnicas de Reproducción Asistida en Aves Domésticas Y Silvestres..*

México, D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Unidad Xochimilco.

- Herrera, J., Betancourt, M., Quintana, J. & López, M. 2005. Individual cryopreservation with dimethyl sulfoxide and polyvinylpyrrolidone of ejaculates and pooled semen of three avian species. *Archives Andrology,* pp. 51: 353-360.
- Hickman, C., Hickman, F.M., Alvarado, B.R. & Roberts, L.S. 2006. *Zoología: Principios integrales 7a Ed.* Madrid: Interamericana.
- Howard, J., Bush, M. & Wildt, W. 1986. Semen collection, analysis and crypreservation in non-domestic mammals. *Current Therapy in Theriogenology.,* pp. 1047-1053.
- Howell, S. & Webb, S. 1995. *A Guide to the Birds of México and Northern Central America.* New York: Oxford University .
- Ikegami, K. & Yoshimura, T. 2013. Seasonal time measurement during reproduction. *The Journal of Reproduction and development,* pp. 59: 327-333.
- Iñigo-Elias, E. E. 1996. Ecology and breeding biology of the scarlet macaw (*Ara macao*) in the Usumacinta drainage basin of Mexico and Guatemala. *Ph.D. Dissertation University of Florida, Gainesville, FL. USA. ,* p. 117.
- Iñigo-Elias, E. & Ramos, M. 1991. *The psittacine trade in México..* Chicago: The University of Chicago Press.
- Iseki, Y., Shibutani, M., Maeda, K., Nagahara, H., Fukuoka, T., Matsutani, S. & Ohira, M. 2018. A new method for evaluating tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancerusing hematoxylin and eosin (H-E)-stained tumor sections.. *PLoS ONE,* p. 13: e0192744.
- IUCN, 2018. [En línea] Available at: https://www.iucn.org/es
- Juniper, T. & Parr, M., 1998. *Parrots. A guide to parrots of the world.* London,UK: Yale University Press.
- LGEEPA, 2012. *Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al ambiente. Ley Publicada en el diario oficial de la Federación el 28 de enero de 1988.* [En línea] Available at: https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/protocolo/LGEEPA.pdf

- LGVS, 2000. *Ley General de Vida Silvestre. Ley Publicada en el Diario Oficial de la Federación y sus modificaciones..* [En línea] Available at: https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/5779/1/ley_general_de_vida_silvestre.pdf
- Liu, Q., Zhang, J., Feng, Y., Zhang, X., Xiang, H., Cao, Y., Tong, X., Ji, Y. & Xue, Z. 2018. Analyzing the Transcriptome Profile of Human Cumulus Cells Related to Embryo Quality via RNA Sequencing.. *BioMed Research International,* p. doi: 10.1155/2018/9846274.
- Long, D. 2006. Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges?. *Poultry Science,* pp. 85: 232-236.
- Lugo, C. 2011. Consideraciones especiales para la reproducción de aves psitácidas nativas y exóticas.. *Memorias de la conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional,* pp. 7: 4-14.
- Lugo, J. 2009. Principios de reproducción y neonatología en aves psitácidas nativas y exóticas.. *Memorias de la conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional,* pp. 5:30-38.
- McLean, D., Feltmann, A. & Froman, D. 1998. Transfer of sperm into a chemically defined environment by centrifugation through 12% (wt/vol) Accudenz. *Poultry Science ,* p. 77: 163.
- Melara, G. R. & Lazo, F. M. 2012. Desarrollo de un prototipo de electro-eyaculador para aves. *ING-NOVACIÓN. Revista semestral de ingeniería e innovación de la Facultad de Ingeniería.,* pp. 5: 107-116.
- Melnychuck, V.L., Cooper, M.W., Kirby, J.D., Rorie, R.W. & Anthony, N.B. 2002. Use of ultrasonography to characterize ovarian status in chicken. *Poultry Science,* pp. 81: 892-895.
- Minoia, P., G, de Benedictis., Lacalandra, G.M., Laterza, V. & Bufo, P. 1984. Reproductive conditioning of the partridge (*Perdix perdix*) whith GnRH and increase in the photoperiod. *Bollettino della Societa Italiana di Biologia Sperimentale,* pp. 60: 1153-9.
- Moxon, R., Bright, L., Pritchard, B., Bowen, I.M., De Souza, M.B. Da Silva, L.D. & England, G.C. 2015. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogencity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. *Animal Reproduction Science,* pp. 160: 112-9.

- Nakane, Y. & Yoshimura, T. 2018. Photoperiodic Regulation of Reproduction in Vertebrates. *Annual Review of Animal Biosciences,* pp. 7:173-194.

- NOM-059-SEMARNAT-2010. *Protección ambiental- Especies Nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y Especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de especies en Riesgo..* [En línea] Available at: http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestionambiental/vidasilvestre/Documents/NOM 059 SEMARNAT 2010.pdf

- NOM-062-ZOO-1999. *Diario oficial de la federación. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio..* [En línea] Available at: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF

- Ottinger, M.A., Abdelnabi, M., Quinn, M., Golden, N., Wu, J. & Thompson, N. 2002. Reproductive consequences of EDCs in birds: what do laboratory effects mean in field species?. *Neurotoxicol Teratol,* pp. 24: 17-28.

- Paredes, H. 2010. Control hormonal de la fertilidad en animales silvestres. *Memorias de la Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre y Exotica y no Convencional,* pp. 6: 63-67.

- Parker, H., Karaca, A., Yeatman, J., Frank, L. & McDaniel, C. 2002. Fertility of broiler breeders following categorization by the optibreed sperm quality index when hens inseminated with a constant number of sperm. *Poultry Science Journal,* pp. 81: 239-245.

- Peralta, M. & Miazzo, R. 2002. Bases de la reproducción animal: Reproducción aviar. *Cursos de Introducción a la Producción Animal y Producción Animal I. FAV UNRC.,* pp. 1-11.

- Perez-Rivero, J., Perez-Martinez, M. & Aguilar-Setien, A. 2014. Histometric análisis of vampire bat (*Desmodus rotundus*) testicles treated with coumestrol by oral route. *Journal of Applied Animal Research.,* pp. 2: 208-212.

- PROFEPA, 2014 a. *Procuraduría Federal de Protección al Ambiente.* [En línea] Available at: http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/v/435/1/mx/perdida_de_biodiversidad_.html

- PROFEPA, 2014 b. *Procuraduría Federal de Protección al Ambiente.* [En línea]
  Available at: https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/v/436/1/mx/trafico_ilegal_de_especies.html
- Prophet, E. 1994. Fixation. Chapter 4. *En: Armed Forces Institute of Pathology. Laboratory Methods in Histotechnology. American Registry of Pathology. Washington D.C..*
- Prophet, E. 1994. Tissue Processing: dehydration, clearing, and infiltration. Chapter 5. *Armed Forces Institute of Pathology. Laboratory Methods in Histotechnology. American Registry of Pathology. Washington D.C..*
- Rangel, P. Sharp, P.J. & Gutierrez, C.G., 2006. Testosterone antagonist (*flutamide*) blocks avaluation and preovulatory surges of progesterone, luteinizing hormone and estradiol in laying hens. *Society for Reproduction and fertility ,* pp. 1470-1620.
- Reuter, A. & Mosig, P. 2010. Comercio y aprovechamiento de especies silvestres en México: observaciones sobre la gestión, tendencias y retos relacionados. *Traffic, the wild life trade monitoring network.*
- Ricart, M., Breininger, E. & Beconi, M.T. 2015. Participation of membrane adenylyl cyclase in heparin-induced capacitation in cryopreserved bovine spermatozoa. *Andrologia,* pp. 47: 30-36.
- Rosales, A. & Guzmán, A. 2011. Importancia del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF) y de sus receptores en el ciclo ovárico. Revision Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and its receptors during the ovarian cycle. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias,* pp. 3: 89-111.
- Samour, J. 2002. “The Reproductive Biology of the Budgerigar (Melopsittacus undulatus): Semen Preservation Techniques and Artificial Insemination Procedures”. *Journal of Avian Medicine and Surgery,* pp. 161: 39-49.
- Samour, J. 2010. Medicina Aviaria. Barcelona, España. *Elsevier,* p. 525.
- Samour, J., Hutton, R., Jones, D. & Spratt, D.M.J. 1985. Studies on collection in waterfowl by electrical stimulation. *British Veterinary Journal,* pp. 141: 265-268.
- Sanchez, O., Zamorano, P., Peters, E. & Moya, H. 2011. Temas sobre conservación de Vertebrados Silvestres de México. *SEMARNAT,* pp. 122-125.

- Sauveur, B. 2003. Reproducción de las Aves. Instituto de Investigaciones Avícolas. En: Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa, p. 350..
- SEMARNAP, 1994. *Proyecto para la concervación, manejo y aprovechamiento sustentable de Psitácidos en México.* [En línea] Available at: https://www.gob.mx/conanp/documentos/programa-de-accion-para-la-conservacion-de-la-especie-guacamaya-roja-ara-macao-cyanoptera
- SEMARNAT, 2000. *Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental, Dirección General de Vida Silvestre. Diversidad Biológica.* [En línea] Available at: https://apps1.semarnat.gob.mx:445/dgeia/informe_resumen/04_biodiversidad/cap4.html
- SEMARNAT, 2010. *Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Subsecretaria de Gestión para la protección Ambiental, Dirección General de Vida Silvestre.* [En línea] Available at: https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010
- Silva, M. 2011. *Diagnóstico y Tratamiento de parásitos intestinales en pericos australianos en la ciudad de Ambato.* Guaranda, Ecuador: Universidad estatal de Bolivar. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos naturales y ambiente. Escuela de medicina veterinaria y zootecnia.
- Sontakke, S.D., Umapathy, G., Sivaram, V., Kholkute, S.D. & Shivagi, S. 2004. Semen Characteristics, cryopreservation, and successful artificial insemination in the Blue rock pigeon (*Columba Livia*). *Theriogienology,* pp. 62: 139-153.
- Tamai, T. & Yoshimura, T. 2017. Molecular and Neuroendocrine Mechanisms of Avian Seasonal Reproduction. *Avian Reproduction,* pp. 125-136.
- Trivedi, A., Rani, S. & Kumar, V. 2004. Melatonin blocks inhibitory effects of prolactin on photoporiodic induction of gain in body mass, testicular growth and feather regeneration in the migratory male redheaded bunting (*Emberiza bruniceps*). *Reproductive Biology and Endocrinology,* p. 2:79.
- Tsutsui, K., Ubaka, T., Bentley, G.E. & Kriegsfeld, L.J. 2013. Review: Regulatory mechanisms of gonadotropin-inibitory hormone (GnIH) synthesis and release in photoperiodic animals. *Frontiers in Neuroscience,* p. doi.org/10.3389/fnins.2013.00060.

- Tsutsui, K., Ubuka, T., Yin, H., Osugi, T., Ukena, K., Bentley, G.E., Ciccone, N., Inoue, K., Chowdhury, V.S. & Sharp, P.J. 2006. Mode of action and functional significance of avian gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH): a review. . *Journal of exerimental Zoology part A: comparative experimental Biology,* pp. 305: 801-806.
- Ubuka, T., Bentley, G.E., Ukena, K., Wingfield, J.C. & Tsutsui, K. 2013. Melatonin induces the expression of gonadotropin-inhibitory hormone in the avian brain. *Proceedings of the national academic of science of the united states of America,* pp. 102: 3052-3057.
- Umapathy, G., Sontakke, S., Reddy, A., Ahmed, S. & Shivaji, S. 2005. Semen Characteristics of the Captive Indian White-Backed Vulture (*Gyps bengalensis*). *Biology of Reproduction,* pp. 73: 1039-1045.
- Usturoi, A. & Avarvarei, B. 2011. Reproductive and productive particularities in standard type undulated budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Animal Science and Biotechnologies,* pp. 68: 1843-5262.
- White, N.E., Phillips, M.J., Gilbert, M.T.P., Alfaro, N.A., Willerslev, E., Mawson, P.R., Spencer, P.B.S & Brunce, M. 2011. The evolutionary history of cockatoos (Aves: Psittaciformes: *Cacatuidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution ,* pp. 59: 615-622.
- Zawilska, J., Lorenc, A., Berezinska, M. Vivinen-Roels, B., Pévet, P. & Skene, D. 2007. Fotoperiod-dependent changes in melatonin synthesis in the turkey pineal gland and retina. *Poultry Science,* pp. 86: 1397-1405.

Desarrollo testicular inducido por GnRH-IS en periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*)

Testicular development induced by GnRH-IS in Budgerigars

Herrera-Barragán José A1, Carcoba-Pérez Samantha A 2, Ávalos-Rodríguez Alejandro 1, Vargas-Ibarra Ana K 2, López-Díaz Osvaldo1, Pérez-Rivero Juan J 1*

1 Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

2 Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

***Autor de correspondencia:**

Juan J. Pérez-Rivero. jjperez1_1999@yahoo.com and perivet.idea@gmail.com Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco**,** Calzada de Hueso No. 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, CDMX, México 04960

Article type: Original.

Area: Applied Research.

RESUMEN

Actualmente, un tercio de los psitácidos en el mundo están en riesgo de extinción; una alternativa para su conservación es su reproducción asistida en cautiverio mediante su manipulación hormonal. En aves, la GnRH es la principal hormona que controla la fisiología reproductiva, de la cual se sabe que existen tres tipos: GnRH-I, GnRH-II GnRH-III, involucradas en la liberación o inhibición de las hormonas luteinizante y folículo estimulante, para controlar el desarrollo gonadal y gamético. El objetivo de este estudio fue, evaluar el efecto de la administración de GnRH-I sintética en el desarrollo testicular de *Melopsittacus undulatus*. Veintiocho periquitos adultos se dividieron de manera aleatoria en dos grupos: control (n=14) y tratado (n=14) con una dosis única de 3 µg de GnRH-I sintética. Mediante ultrasonografía se evaluó el desarrollo testicular y su densidad mediante pixeles. Histológicamente se determinó el diámetro, grosor del epitelio germinal y se identificaron y contabilizaron las diferentes estirpes celulares en los túbulos seminíferos, además de la espermatobioscopía. Resultados. La densidad ecográfica fue: grupo control 76±7 pixeles, grupo tratado 41±3 pixeles. Grosor de epitelio germinal, 51.5±2.9µm y 73.1±3.1µm, para grupo control y con tratamiento respectivamente. La concentración espermatica en el grupo tratado fue 300% superior que en el grupo control. Se concluye que la administración de GnRH-I sintética, es una alternativa viable para utilizarse como parte de las técnicas de reproducción asistida, para inducir la reproducción.

PALABRAS CLAVE: Hormona, psitácidos, reproducción, gónada, machos.

ABSTRACT

Nowadays, the third part of parakeets in the world are endangered; an alternative for their preservation is assisted reproduction in captivity through hormonal manipulation. In birds, GnRH is the main hormone which controls reproductive physiology, it is known there are three types: GnRH-I, GnRH-II and GnRH-III, involved in the release or inhibition of luteinizing hormone and follicle stimulant hormone to control gonadal and gametic development. The objective of this study was, to evaluate the effect of administrating synthetic GnRH-I in the testicular development of Melopsittacus undulatus. Twenty-eight adult budgerigars were randomly divided in two groups: control (n=14) and treated (n=14) with a unique dose of synthetic GnRH-I. Testicular development was assessed through ultrasonography and density was evaluated with pixels. Germinal diameter and thickness of germinal epithelium were determined with histology; there were identified and countified different cellular strains in seminiferous tubules therefore spermatobioscopy. Results. Ecographic density was: control group: 76±7 pixels, treated group 41±3 pixels. Thickness of germinal epitellium, 51.5±2.9µm and 73.1±3.1µm, for control group and treated group respectively. Spermatic concentration in the treated group was 300% superior than in control group. It is concluded that the administration of synthetic GnRH-I, is a viable alternative to be used as part of the assisted reproductive techniques to induce reproduction.

KEY WORDS: Hormone, parakeet, reproduction, gonad, males.

INTRODUCCIÓN

Las especies aviares son muy diversas, al igual que sus patrones de vida y estrategias de reproducción, debido a esta diversidad, es difícil determinar los factores ambientales que regulan su actividad reproductiva como lo son la temperatura, la humedad y la disponibilidad de alimento las cuales son comunes en las 500 especies de aves que se encuentran en cautiverio de las de 9000 especies existentes (SEMARNAT, 2010; Cantú & Sánchez, 2012). Por lo anterior, la reproducción de las aves en cautiverio, se presenta de manera irregular, asociada con la inadecuada activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Lugo, 2011).

Las aves tienen mecanismos reproductivos estacionales distintos, uno de estos es asociado a ciclos de fotoperiodo, debido a que estas perciben la luz a través de foto receptores presentes en la retina y la glándula pineal (Nakane and Yoshimura, 2018). La activación de los fotoreceptores induce la secreción de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) la cual activa a la hormona tiroidea en el hipotálamo controlando la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y como resultado, la secreción de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), las cuales estimulan el crecimiento gonadal, así como la producción de gametos (Bentley et al., 2006; Nakane and Yoshimura, 2018).

Estudios realizados en aves han demostrado la presencia de dos factores liberadores de GnRH; el GnRH-I, el cual tiene una estructura molecular semejante a la GnRH de mamíferos, la cual ejerce una acción más prolongada sobre las gonadotropinas (LH y FSH), mientras que la GnRH-II se libera en la etapa no reproductiva de las aves siendo 2,5 veces más potente que la GnRH-I, actuando sobre la LH ejerciendo con

esto retroalimentación negativa hacia GnRH-I (Peralta and Miazzo, 2002).También existen estudios donde se ha reportado que existe la GnRH-III, aunque no ha sido caracterizada del todo (Peralta and Miazzo, 2002).

De manera sintética, se han desarrollado análogos y antagonistas de la hormona GnRH que tienen una actividad altamente específica sobre varios tejidos reproductivos (Ottinger et al., 2002). Existen disponibles comercialmente análogos de GnRH-I sintética (GnRH-IS), los cuales ejercen efecto biológico al unirse con el receptor de GnRH en la adenohipófisis (Paredes, 2010).

La reproducción de aves psitácidas es de importancia a nivel mundial desde el punto de vista de su conservación y su aprovechamiento económico sustentable (Lugo, 2011). Sin embargo, no se han desarrollado plenamente protocolos de reproducción asistida de manera especie específica, sabiendo además que la reproducción de los psitácidos es particularmente difícil debido a su susceptibilidad al estrés (Bradshaw and Engebretson, 2013).

Por otra parte, considerando el potencial impacto económico en el mercado de mascotas, el cual puede lograrse mediante su reproducción en cautiverio, se ha empleado como modelo para el desarrollo e implementación de técnicas de reproducción asistida a ejemplares de *M. undulatus*, las cuales se pueden extrapolar a otras especies psitácidas en peligro de extinción, debido a que sus características reproductivas son similares y así favorecer la producción de psitácidos, debido a que desde los años 70s se exportaban 7.5 millones de aves silvestres dejando una derrama económica de 500 dólares por ave (Costantini et al., 2009; Calderón et al., 2015 ;Whelan et al., 2015).

Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración exógena de GnRH-IS en el desarrollo gonadal y producción de espermatozoides *M. undulatus.*

METODOLGÍA

El estudio se realizó durante la temporada de otoño (agosto-octubre) en laboratorios de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, en la región central de México (19°18'08.3"N 99°06'11.2"W). Se utilizaron 28 machos de *M. undulatus* adultos, clínicamente sanos con 1 a 2 años de edad. Las aves se alojaron de manera individual en jaulas de 45 cm x 30 cm x 30 cm. Se alimentaron con mezcla de semillas (*Panicum miliaceum* 40%, *Phalaris canariensis* 10%, *Avena sativa* 10%) y agua potable fresca *ad libitum,* durante todo el experimento, se mantuvieron en fotoperiodo de 12 horas luz y 12 de obscuridad. Previo al inicio del estudio, todas las aves tuvieron un periodo de 30 días de adaptación a las mismas condiciones. Se cumplió con apego a la Normas Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y uso de los Animales de Laboratorio.

Se integraron de manera aleatoria en grupo control (GC) con 14 aves y grupo tratamiento (GT) también con 14 aves. Cada uno de los periquitos del GT recibió una dosis única de 3µg de GnRH-IS (Relina 500® [Gonadorelina] PiSA Agropecuaria, México), por vía subcutánea en el pliegue del ala izquierda; para después de 5 días del tratamiento, realizar las determinaciones del estudio.

Obtención y evaluación seminal

Mediante la técnica de masaje dorso ventral se obtuvieron eyaculados de los ejemplares del GC y GT. Cada eyaculado se depositó en un tubo Eppendorf, con 20

µl de medio Lake (Glutamato de sodio 0.1135 M, fructosa 0.04 M, acetato de potasio 0.050 M y acetato de magnesio 0.0056 M) para su evaluación (Herrera et al., 2013). Se determinó con un microscopio óptico Optisum™ y cámara de Neubauer, la concentración espermática, también se estimó el porcentaje de espermatozoides con movimiento a 37 °C; en un frotis con eosina/nigrosina se determinó los porcentajes de espermatozoides vivos y su morfología (Herrera et al., 2013).

Ultrasonografía

Los ejemplares de los GC y GT fueron inducidos a un estado de anestesia general con isofluorano (SofloranVet ® Pisa Agropecuaria, México) al 2.5% en oxígeno, se mantuvieron monitorizados durante todo el experimento con un oxímetro OX 100 (KONTROLab©, Italy). A todos los ejemplares se les determino el tamaño y densidad testicular mediante ultrasonografía testicular en modo “M”, utilizando un equipo K10 (KONTROLab©, Italy) y un transductor de 6.5 MHz colocado en la parte dorsal del ave, en la región del sinsacro para tener aproximación con los testículos (Melnychuck et al., 2002). Se obtuvieron imágenes durante el estudio, las que fueron analizadas con el programa ImageJ software (Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Maryland; http: rsb.info.nih.gov/ij/) tomando 10 puntos de 2.0 mm^2 al azar de cada testiculo obteniendo los valores de la intensidad del pixel (Moxon et al.,2015).

Obtención y evaluación testicular

Al término de la valoración ultrasonográfica, de manera aleatoria se seleccionaron 3 aves de cada grupo, los cuales fueron eutanaciados, con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intra torácica (100mg/kg). Por disección, se obtuvieron los testículos, los cuales se fijaron en solución de Boin, y procesados de manera convencional por inmersión en parafina; se obtuvieron 3 laminillas semi-seriadas

(2,4,6 corte) a un grosor a 3 µm, los cuales fueron teñidos con hematoxilina-eosina (Iseki et al., 2018; Prophet 1994a; b).

Evaluación histológica testicular.

Utilizando un microscopio óptico Optisum™, se observaron 10 campos microscópicos a 200X y 400X por laminilla de cada ave. Se obtuvieron imágenes con una cámara (OP900 Optisum). Mediante el programa de libre acceso LSM5 (Carl Zeiss) se obtuvieron el área de los túbulos seminíferos y el grosor de su epitelio germinal. También se identificó y contabilizo las espermatogónias, espermatocitos, espermátides redondas, espermátides elongadas, células de Sertoli y células de Leydig (Hänse et al, 2008; Perez-Rivero et al., 2014).

Análisis estadístico

Se verifico la normalidad de las variables con la prueba de Shapiro-Wilks, se realizó estadística descriptiva y se compararon las medianas de todos los parámetros entre el GC y el GT con la prueba de Mann-Whitney, tomando como valor de significancia $p<0.05$. Se realizó una correlación lineal de Spearman comparando entre los grupos la densidad en pixeles del epitelio germinal con la concentración de espermatozoides en el eyaculado. Todos los análisis se realizaron el programa PAST 3.18 (Hammer, 2001).

RESULTADOS

Evaluación espermática básica

La concentración espermática de los eyaculados en aves del GT fue de $7.7 \pm 3.7 X 10^6$ espermatozoides por µl en comparación con los animales del GC, la cual fue de 2.2±0.9 espermatozoides por µl, evidenciando una diferencia significativa ($p<0.05$), los demás parámetros evaluados no presentaron diferencias, como se muestra en la Tabla 1.

Dimensión y densidad testicular por pixeles

El area testicular obtenida mediante ultrasonografía, en los ejemplares del GC para el testiculo derecho fue de 22.6 ± 5.5mm^2 y para testiculo izquierdo 25.3 ± 6.7 mm^2 mientras que en los ejemplares del GT se obtuvieron para el testiculo derecho de 47.6 ± 8 mm^2 y testiculo izquierdo 46 ± 7.9 mm^2 ($p<0.05$).

Los resultados obtenidos de intensidad en pixeles (Pix) fueron, para los ejemplares del GT de 41.3±3 Pix, para el GC se obtuvieron 76±7 Pix ($P<0.001$). De manera general en testículos de las aves del GT, se observo que presentaron regiones del parénquima testicular heterogénea, con punteado anecoico prominente (Figura 1).

Densidad testicular VS Concentración espermática

La evaluación de las imágenes ultrasonográficas en base a pixeles, se correlacionó con la concentración espermática, obteniendo como resultado que entre menor sea la intensidad de pixeles, mayor es la producción espermática $R=0.816$ ($p<0.05$)

Morfo-histología testicular

Las mediciones obtenidas del grosor del epitelio germinal y la cantidad de células germinales mostraron un incremento significativo en los animales del GT comparado con los animales del GC ($p<0.05$), como se muestra en la Figura 2 y Tabla 2.

DISCUSIÓN

La evaluación espermática básica, demostró un incremento de la concentración espermática en el GT, comparado con el GC, proporcionando evidencia que el tratamiento con GnRH-IS favorece la formación de gametos, concordando estos resultados con Calderón et al*.,* (2015) quienes reportaron que con la administración de dos diferentes análogos de la hormona GnRH se mejora la viabilidad y la concentración espermática en los ejemplares tratados y con Hänse et al*.,* (2008) quienes evaluaron la producción espermática en *M. undulatus* durante un ciclo anual, encontrando que en la época reproductiva donde de manera natural se produce la hormona GnRH, se incrementa la viabilidad espermática hasta 98%, reportando también un incremento en la concentración espermática.

Se ha demostrado que la estimulación con gonadotropinas, induce la actividad celular testicular en mamíferos (Ramaswamy et al., 2017), los resultados del presente trabajo concuerdan con lo anterior, ya que la administración de la hormona GnRH-IS en *M. undulatus*, indujo proliferación celular a nivel parénquima testicular.

De manera adicional, fue posible asociar mediante correlación lineal, que entre menor sea la densidad ultrasonografía del parénquima testicular expresada en pixeles, mayor será la concentración espermática. Nuestros hallazgos coinciden con el estudio realizado por Moxon y colaboradores en 2015, quienes mediante ultrasonografía midieron la ecogenisidad de los testículos en perros fértiles, correlacionando la mayor producción espermática con la mayor heterogeneidad ultrasonográfica, concluyendo que esta metodología complementaria es de utilidad para valorar la fertilidad de los ejemplares.

Las evidencias de la evaluación histomorfológica en aves del GT, demostraron mayor proliferación celular a nivel de los túbulos seminíferos, lo cual es consistente con lo encontrado por Hänse et al., (2008), quienes evaluaron mediante histomorfología los testículos de *M. undulatus* en etapa reproductiva, encontrando que el 78% de los testículos evaluados presentaron un desarrollo activo del epitelio germinal y proliferación celular evidente.

Los resultados de este estudio pueden ser utilizados como referencia para otras especies de psitácidos de alto valor biológico, siendo la administración de GnRH-IS una alternativa viable para utilizarse como parte de las técnicas de reproducción asistida, para inducir producción de gametos en psitácidos que pueden estar fuera de periodo reproductivo natural o cuando la actividad reproductiva es inhibida por el cautiverio o impronta de aves de compañía, lo anterior con el propósito de incrementar la reproducción de psitácidos en cautiverio para su conservación o aprovechamiento comercial.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Bentley, G., Kriegsfeld, L.J., Osugi, T., Ukena, K., O´brien, S. Perfito, N., Moore, I.T., Tsutsui, K. & Wingfield, J.C**. 2006. Interactions of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) in birds and mammals. *Journal of Experimental Zoology,* pp. 305: 807-814.

2. **Bradshaw, G. & Engebretson, M.** 2013. *Cría y tenencia de loros: impacto de su captura y cautiverio.* Estados Unidos de América: Animals and Society Institute.

3. **Calderón, G., Vargas A.K., Ávalos, R.A., Rosales, M.A. & Herrera J.A**. 2015. Caracterización y criopreservación seminal de periquito australiano *Melopsittacus undulatus*. *Aviornis Internacional,* pp. 144:72-74.

4. **Costantini, V., Carraco, C., Bucci, F.A., Simontacchi, C., Lacalandra, G.M. & Minoia, P.** 2009. Influence of a new slow-release GnRH analogue implant on reproduction in the Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 1805).. *Animal Reproduction Science,* pp. 111: 289-301.

5. **Hammer, Ø., Harper, D. & Ryan, P.**, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Paleontología Electrónica, 4: 9.

6. **Hänse, M., Schmidt, V., Schneider, S., Della Volpe, A. & Krautwald-Junghanns, M.E.** 2008. Comparative examination of testicular biopsy samples and influence on semen characteristics in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery,* pp. 22: 300-309.

7. **Herrera, J.A., Ávalos, R.A., Rodríguez I., Gonzales, J.A. & Rosales, A.M**. 2013. *Técnicas de Reproducción Asistida en Aves Domésticas Y Silvestres..* México, D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Unidad Xochimilco.

8. **Herrera, J., Betancourt, M., Quintana, J. & López, M.,** 2005. Individual cryopreservation with dimethyl sulfoxide and polyvinylpyrrolidone of ejaculates

and pooled semen of three avian species. Archives Andrology, pp. 51: 353-360.

9. **Iñigo, E., & Ramos, A.** (1991). The Psittacine Trade in Mexico. En G. Robinson, & H. Redford, Neotropical wildlife use and conservation, (1ra Ed. ed., págs. 380-391). London: University of Chicago Press

10. **Lugo, C.**, 2011. Consideraciones especiales para la reproducción de aves psitácidas nativas y exóticas. Memorias de la conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional, pp. 7: 4-14.

11. **Melnychuck, V.L., Cooper, M.W., Kirby, J.D., Rorie, R.W. & Anthony, N.B**. 2002. Use of ultrasonography to characterize ovarian status in chicken. *Poultry Science,* pp. 81: 892-895.

12. **Moxon, R., Bright, L., Pritchard, B., Bowen, I.M., De Souza, M.B. Da Silva, L.D. & England, G.C.** 2015. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogencity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. *Animal Reproduction Science,* pp. 160: 112-9.

13. **Nakane, Y. & Yoshimura, T**, 2018. Photoperiodic Regulation of Reproduction in Vertebrates. Annual Review of Animal Biosciences, pp. 7:173-194.

14. **Ottinger, M.A., Abdelnabi, M., Quinn, M., Golden, N., Wu, J. & Thompson, N.** 2002. Reproductive consequences of EDCs in birds: ¿what do laboratory effects mean in field species? Neurotoxicol Teratol, pp. 24: 17-28.

15. **Paredes, H**., 2010. Control hormonal de la fertilidad en animales silvestres. Memorias de la Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre y Exotica y no Convencional, pp. 6: 63-67.

16. **Peralta, M. & Miazzo, R**., 2002. Bases de la reproducción animal: Reproducción aviar. Cursos de Introducción a la Producción Animal y Producción Animal I. FAV UNRC., pp. 1-11.

17. **Perez-Rivero, J., Perez-Martinez, M. & Aguilar-Setien, A**., 2014. Histometric análisis of vampire bat (Desmodus rotundus) testicles treated with coumestrol by oral route. Journal of Applied Animal Research., pp. 2: 208-212.

18. **Prophet, E.**, 1994. Tissue Processing: dehydration, clearing, and infiltration. Chapter 5. Armed Forces Institute of Pathology. Laboratory Methods in Histotechnology. American Registry of Pathology. Washington D.C.

19. **Ramaswamy, S., Walker, W.H., Aliberti, P., Sethi, R., Marshall, G.R., Smith, A., Nourashrafeddin, S., Belgorosky, A., Chandran, U.R., Hedger, M.P., Plant, T.M.** 2017. The testicular transcriptome associated with spermatogonia differentiation initiated by gonadotrophin stimulation in the juvenile rhesus monkey (Macaca mulatta). Human Reproduction, Volumen 32(10):2088-2100.

20. **Ricart, M., Breininger, E. & Beconi, M.T**., 2015. Participation of membrane adenylyl cyclase in heparin-induced capacitation in cryopreserved bovine spermatozoa. Andrologia, pp. 47: 30-36.

21. **SEMARNAT,** 2010. *Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Subsecretaria de Gestión para la protección Ambiental, Dirección General de Vida Silvestre.* [En línea] Available at: https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010.

22. **Umapathy, G., Sontakke, S., Reddy, A., Ahmed, S. & Shivaji, S.** 2005. Semen Characteristics of the Captive Indian White-Backed Vulture (*Gyps bengalensis*). *Biology of Reproduction,* pp. 73: 1039-1045.

23. **Whelan, J., Şekercioğlu, H., & Wenny, G**. 2015. Why birds matter: from economic ornithology to ecosystem services. Journal of Ornithology, 156(1), 227–238

TABLA 1. Parámetros de evaluación seminal básica.

	GC	**GT**	**Valor de P** (Mann-Whitney)
% Motilidad	60±7.4	70±7.3	P>0.05
% Viabilidad	97±1.0	98±1.0	P>0.05
% Morfología anormal	2.0±1.0	1.0±0.0	P>0.05
Concentración espermática $X10^6$µL	2.2±0.9	7.7±3.7	P<0.05

Medianas totales de evaluación seminal básica (mediana ± E.E.) por grupo, Mann Whitney (P<0.05).

TABLA 2. Parámetros morfométricos de la histomorfología testicular.

Número de células	**Grupo Control**	**Grupo Tratamiento**	**Valor de P** (Mann-Whitney**)**
Área testículo izquierdo (mm^3)	25.3 ± 6.7	46 ± 7.9	p<0.005
Área testículo derecho (mm^3)	22.6 ± 5.5	47.6 ± 8	p<0.005
Espermatogónias	33±4.0	58±2.0	p<0.001
Espermatocitos	34±2.0	52±2.0	p<0.001
Células de Sertoli	4.0±1.0	6.0±1.0	p<0.001
Células de Leydig	3.0±1.0	6.0±1.0	p<0.001
Espermátides redondas	46±7.0	98±6.0	p<0.001
Espermátides elongadas	20±2.0	74±5.0	p<0.001
Área del túbulo seminífero (μm^2)	$67.8 \pm 9.4 X 10^3$	$71.4 \pm 3.9 X 10^3$	p>0.05
Grosor del epitelio germinal (µm)	51.5±2.9	73.1±3.1	p<0.001

Conteo celular (mediana ± E.E.) por grupo, durante el periodo experimental. Datos indicando resultados significativamente diferentes para el análisis estadístico Mann Whitney (P≤ 0.05).

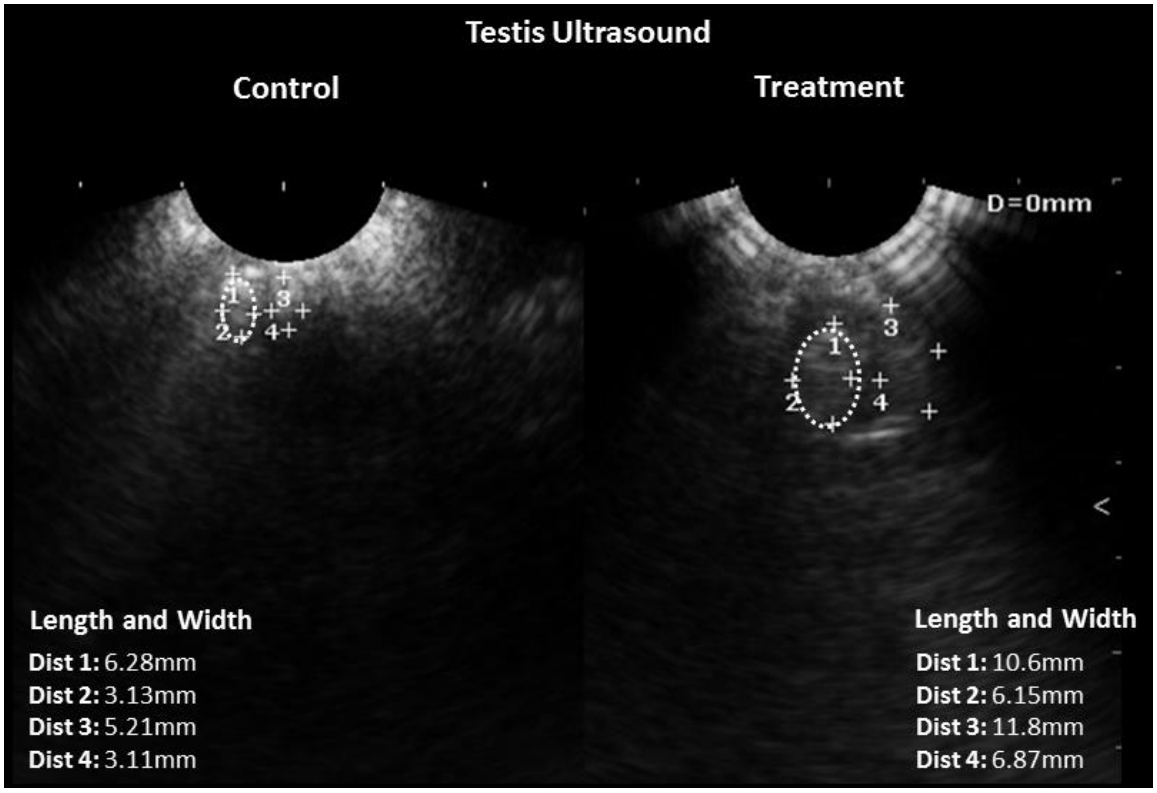


Figura 1. Imagen ultrasonografica de los testiculos de los animales del grupo control y del grupo con tratamiento. Se ha delimitado con un ovalo punteado, el perimetro del testiculo izquierdo en ambos tratamientos.

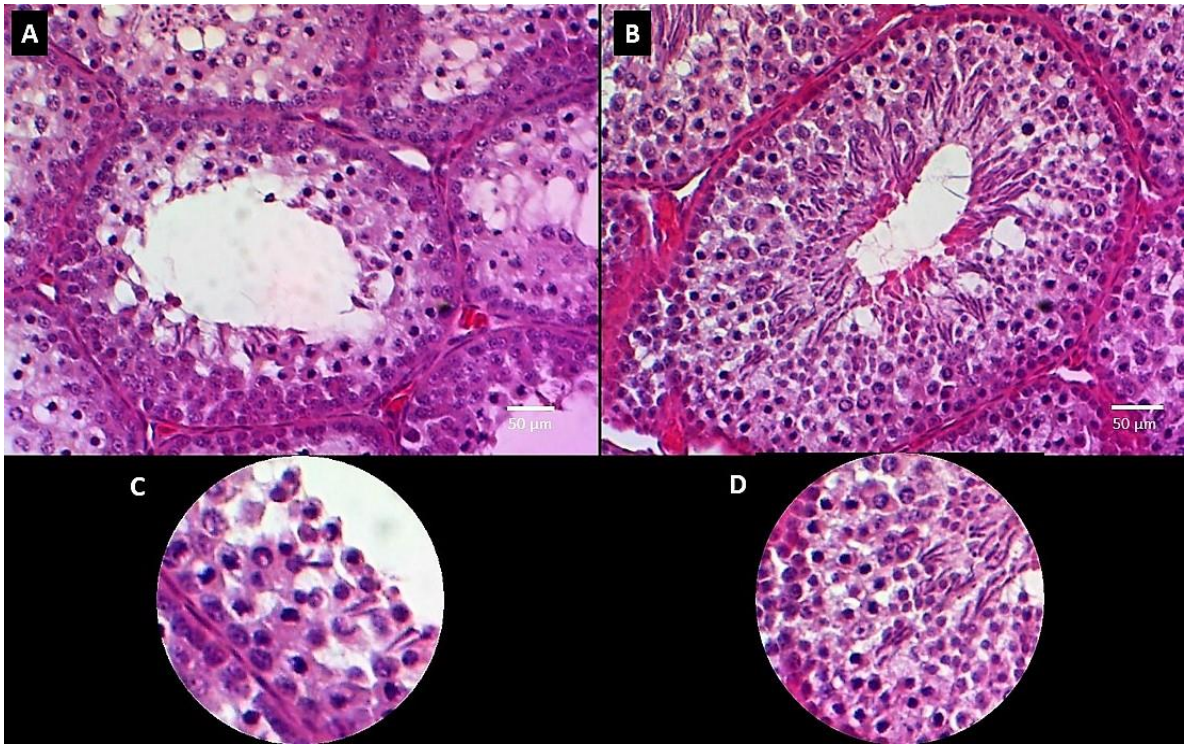


Figura 2. Cortes histológicos de testículo a 400X. **A:** el túbulo seminífero de aves del grupo control, muestra menor desarrollo del epitelio germinal. **B:** túbulo seminífero de aves del grupo con tratamiento, muestra mayor desarrollo del epitelio germinal. **C:** acercamiento del túbulo seminífero del grupo control. **D:** acercamiento del túbulo seminífero de aves del grupo con tratamiento.

ASISTENCIA A CURSOS

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

A través de la
Coordinación de Educación Continua y a Distancia

Otorga la presente

CONSTANCIA

a: **Samantha Anahí Carcoba Pérez**

Por cumplir con los objetivos del curso:

IMAGENOLOGÍA MÉDICA DIAGNÓSTICA:
DE LA CABEZA A LOS PIES

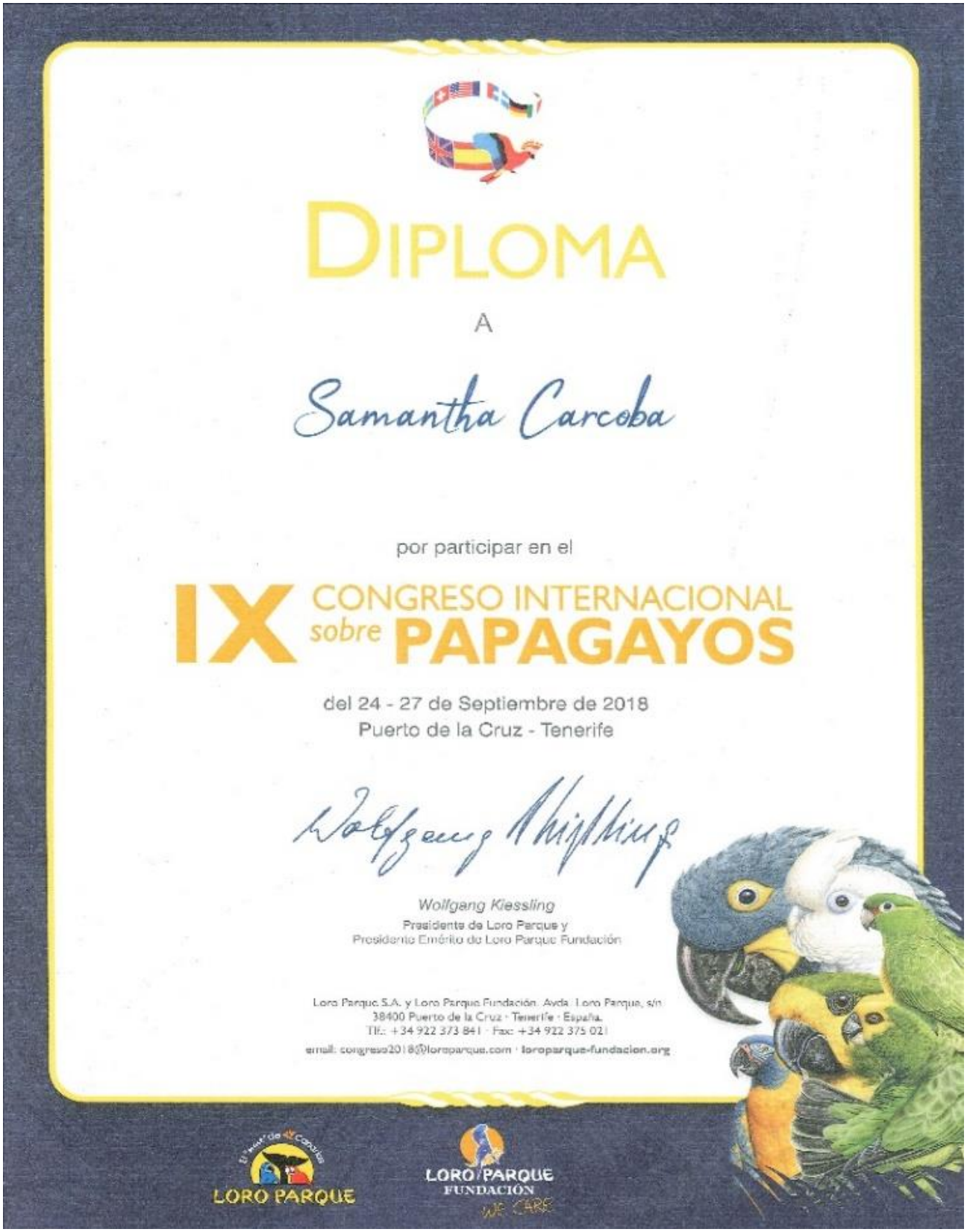
Impartido del 10 al 14 de julio de 2017,
con una duración de 20 horas.

"Casa abierta al tiempo"
Ciudad de México a 14 de julio de 2017.

FOLIO
CECAD/CDN/STAN/CIA/2017/02058

Lic. J. Francisco Javier Huerta Moreno
Coordinador de Educación Continua y a Distancia

Lic. Alejandro Alonso Altamirano
Profesor del Curso



DIPLOMA

A

Samantha Carcoba

por participar en el

IX CONGRESO INTERNACIONAL sobre PAPAGAYOS

del 24 - 27 de Septiembre de 2018
Puerto de la Cruz - Tenerife

Wolfgang Kiessling
Presidente de Loro Parque y
Presidente Emérito de Loro Parque Fundación

Loro Parque S.A. y Loro Parque Fundación. Avda. Loro Parque, s/n
38400 Puerto de la Cruz · Tenerife · España.
Tlf.: +34 922 373 841 · Fax: +34 922 375 021
email: congreso2018@loroparque.com · loroparque-fundacion.org

LORO PARQUE

LORO PARQUE FUNDACIÓN WE CARE

PARTICIPACION EN CONGRESOS Y CONFERENCIAS

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Secretaría de Educación Continua

Otorgan la presente

Constancia

a

Samantha Anahí Carcoba Pérez

Quien participó como **Asistente** en la conferencia:

Signos de enfermedad en aves de ornato

Impartida en esta Institución
El 26 de febrero de 2018
Con una duración de 2 horas

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria Cd. Mx., a 26 de febrero de 2018

Dr. Francisco Suárez Güemes
Director de la FMVZ

MVZ Martha Beatriz Trejo Salas
Secretaria de Educación Continua

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Secretaría de Educación Continua

Otorgan la presente

Constancia

a

Samantha Anahi Carcoba Perez

Quien participó como **Asistente** en la conferencia:

Desarrollo de nuevos diluyentes para semen de aves

Impartida en esta Institución
El 29 de enero de 2018
Con una duración de 2 horas

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria Cd. Mx., a 29 de enero de 2018

Dr. Francisco Suárez Güemes
Director de la FMVZ, UNAM

MVZ Martha Beatriz Trejo Salas
Secretaria de Educación Continua

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Otorga la presente

Educación Continua ECCBS

CONSTANCIA

A: Samantha Anahí Cárcoba Pérez, Ana Karen Vargas Ibarra, Ricardo Camarillo Flores, Fernanda Rodríguez Hernández, Alejandro Ávalos Rodríguez, Juan Jose Pérez Rivero CyC y José Antonio Herrera Barragán

FOLIO 2038-17
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL

Por participar con la presentación del cartel: **"El "aprovechamiento sustentable" de los psitácidos en México"** en el ***"6' CONGRESO Y 2ª FERIA TÉCNICO-CIENTÍFICA DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL 2017"*** realizado en esta Universidad del 18 al 20 de octubre de 2017 con duración de 24 horas.

Mtro. Rafael Díaz García
Director
División CBS

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Otorga la presente

Educación Continua ECCBS

CONSTANCIA

A: Ana Karen Vargas Ibarra, Ana María Rosales Torres, Alejandro Ávalos Rodríguez, Fernanda Rodríguez Hernández, Ricardo Camarillo Flores, Samantha Anahí Cárcoba Pérez, José Antonio Quintana López y José Antonio Herrera Barragán

FOLIO 1976-17
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL

Por participar con la presentación del cartel: **"Secreciones de la unión útero vaginal vs conservación espermática in vitro de Gallus gallus."** en el *"6' CONGRESO Y 2ª FERIA TÉCNICO-CIENTÍFICA DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL 2017"* realizado en esta Universidad del 18 al 20 de octubre de 2017 con duración de 24 horas.

Mtro. Rafael Díaz García
Director
División CBS

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Otorga la presente

Educación Continua ECCBS

CONSTANCIA

A: **Ricardo Camarillo Flores, Irma Jiménez Morales, Adrián Guzmán Sánchez, José Antonio Herrera Barragán, Ana Maria Rosales Torres, Prisma Itzel Navarro Guido, Fernanda Rodríguez Hernández, Ana Karen Vargas Ibarra y Samantha Anahí Cárcoba Pérez**

FOLIO 2033-17
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL

Por participar con la presentación del cartel: **"Densidad del líquido oviductal a diferentes horas de la ovoposición en gallinas de postura"** en el *"6° CONGRESO Y 2ª FERIA TÉCNICO-CIENTÍFICA DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL 2017"* realizado en esta Universidad del 18 al 20 de octubre de 2017 con duración de 24 horas.

Mtro. Rafael Díaz García
Director
División CBS

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Otorga la presente

Educación Continua ECCBS

CONSTANCIA

A: **Ana Karen Vargas Ibarra, Estefany Brenda Nochebuena Aguilar, Itzel Andrea Marin Tapia, Ana María Rosales Torres, Fernanda Rodríguez Hernández, Ricardo Camarillo Flores y José Antonio Herrera Barragán**

FOLIO 1975-17
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL

Por participar con la presentación del cartel: **"Extractos de la unión útero vaginal utilizados para la criopreservación espermática de Gallus gallus."** en el *"6° CONGRESO Y 2ª FERIA TÉCNICO-CIENTÍFICA DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL 2017"* realizado en esta Universidad del 18 al 20 de octubre de 2017 con duración de 24 horas.

Mtro. Rafael Díaz García
Director
División CBS

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Producción Agrícola y Animal

Otorgan la presente

CONSTANCIA

A

José Antonio Herrera Barragán, Ana Karen Vargas Ibarra, Ricardo Camarillo Flores, Fernanda Rodríguez Hernández, Samantha Anahí Cárcoba Pérez

Por su participación en la Segunda Reunión Científica Interinstitucional sobre Diversidad Biológica.

Con el cartel: **¿Acciones para la conservación?**

Ciudad de México, 26 de mayo de 2017.

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

M. en C. Dorys P. Orea Coria
Presidenta del Comité Organizador

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Producción Agrícola y Animal

Otorgan la presente

CONSTANCIA

A

José Antonio Herrera Barragán, Ana Karen Vargas Ibarra, Ricardo Camarillo Flores. Fernanda Rodríguez Hernández, Samantha Anahí Cárcoba Pérez

Por su participación en la Segunda Reunión Científica Interinstitucional sobre Diversidad Biológica.

Con el cartel : **¿Conservación de psitácidos mexicanos?**

Ciudad de México, 26 de mayo de 2017.

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agrícola y Animal

M. en C. Dorys P. Orea Coria
Presidenta del Comité Organizador

IMPARTICIÓN DE CURSOS

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la salud

Departamento de Producción Agricola y Animal

Extiende la presente constancia a :

Biol. Samantha Anahí Carcoba Pérez

Por su participación como **Instructor** en el curso-taller:

Elaboración de dardos para uso veterinario

En el: **7° Congreso y 3° Feria Técnico-cientifica del Departamento de Producción Agricola y Animal,** realizada en esta universidad, con una duración de 4 horas, el lunes 17 de septiembre del 2018.

Dr. José Antonio Herrera Barragán
Coordinador del curso

Dr. Rey Gutiérrez Tolentino
Jefe del Departamento de Producción Agricola y Animal

ASESORIA EN SERVICIO SOCIAL

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

NOMBRAMIENTO DE ASESOR
24 de abril del 2017

CSS/DCBS/I-222/2017

BIOL. SAMANTHA ANAHI CARCOBA PEREZ
ASESOR EXTERNO RESPONSABLE
Presente

Informo a usted que con base en el artículo 17 y 18 del Reglamento de Servicio Social a Nivel Licenciatura de la UAM, ha sido designada asesora responsable de **JORGE ALFREDO GALICIA VALDEZ**, con matrícula **2122044233** de la licenciatura en **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**, para que bajo su supervisión y aprobación, evalúe el cumplimiento de ésta prestación que se llevará a cabo a partir del **3 de Abril de 2017** al **3 de Octubre de 2017** en **PRIVADA, PARQUE NATURAL AKTUN CHEN**, con clave y denominación:

IDENTIFICACIÓN DE AVES SILVESTRES EN LÀ REGIÓN DE AKUMAL, QUINTANA ROO, MÉXICO

Le agradeceré que con base en este nombramiento y bajo su aprobación, se cumplan los requerimientos y objetivos propuestos del proyecto y se entregue el informe final, establecido en el artículo 29 del Reglamento citado, de las actividades realizadas por el prestador.

Sin otro particular, agradezco su atención.

Atentamente
Casa abierta al tiempo

P.P

MTRO. RAFAEL DIAZ GARCIA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN