

Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"
División de Ciencia Animal



**EFFECTO DE LA PAPILOMATOSIS DEL PENE EN EL CRECIMIENTO,
CIRCUNFERENCIA ESCROTAL Y CARACTERISTICAS DEL SEMEN DE
TOROS CHAROLAIS**

POR:

LUZ MARIA HERNANDEZ HERNANDEZ

TESIS:

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO.
NOVIEMBRE DEL 2001**

DEDICATORIA

A MI HIJA

ANA LAURA HERNANDEZ HERNANDEZ

Por ser la persona más importante desde el día en que llego a mi vida, por toda la felicidad que me ha dado, por todos los momentos de alegría que me brinda día con día. “ Te quiero hija”

A MIS PADRES

Sra. EULOGIA HERNANDEZ TREJO

Sr. DAGOBERTO HERNANDEZ GUTIERREZ

Por todo el AMOR, CARIÑO Y COMPRESION que me brindaron durante toda mi educación y formación, por haberme enseñado a valorar el trabajo y la vida, su apoyo moral y económico incondicionalmente.

A MIS HERMANOS

LORENA
DAGOBERTO

A quienes me apoyaron en todo momento y me otorgaron todo su cariño y mi admiración por todos los momentos difíciles los cuales nos ayudo a salir adelante sigan así siempre, logren todas sus metas.

A EL COMPAÑERO DE MI VIDA

ANDRES

Por brindarme su amor, confianza, respeto y su apoyo incondicional en todos los momentos en los que más lo he necesitado, por darme una razón para vivir. Por todo eso y muchas cosas más “ Te quiero mi amor”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios “ El ser supremo” por darme la vida y la gracia de tener una familia.

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por haber aceptado que formara parte de esta gran familia.

A todas aquellas personas que me brindaron su amistad y su apoyo incondicional durante mi estancia en este gran lugar.

Dr. MIGUEL MELLADO BOSQUE

Por todo el apoyo y dedicación para la culminación de este trabajo, gracias por todo y también por confiar en mi.

M.C. LAURA PADILLA GONZALES

Por todas las aportaciones y sugerencias, para el mejoramiento de esta investigación.

M.C. RAUL VALDES SAUCEDO

Gracias por las sugerencias y el tiempo dedicado para la realización del presente trabajo, y también por su confianza.

LIC. LAURA MARICELA LARA LOPEZ

Por su apoyo en la realización de este trabajo, gracias por todos los consejos y tú amistaada durante todo este tiempo.

A MIS MEJORES AMIGOS

Licha y Armando por todos los momentos en los que me apoyaron cuando más lo necesite, por darme la gracia de estar cerca de ellos y aceptarme tal y como soy.

A MI CUÑADA FABIOLA

Por toda la confianza por creer en mi gracias, sigue siempre adelante, tu puedes lograrlo también y hacer realidad tus sueños.

A MIS TIAS Y TODA MI FAMILIA

Por creer en mi, por darme su apoyo y sus palabras de aliento que día a día me ayudaron a ser mejor, no tengo más que decirles gracias por todo. También a alguien que ya no se encuentra con nosotros pero que siempre lo recordamos.

A LA FAMILIA HERNANDEZ CRUZ

Por haberme permitido formar parte de su familia y aceptarme gracias.

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	VII
INDICE DE FIGURAS	VIII
I.- INTRODUCCION	1
II.- REVISION DE LITERATURA	5
III.- MATERIALES Y METODOS	15
3.1.- Descripción del área de estudio	15
3.2.- Desarrollo del estudio	18
3.3.- Colección y evaluación del semen	20
3.4.-Pesaje de los toros	22
3.5.- Análisis estadístico	22
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
V.- CONCLUSIONES	28
VI .- BIBLIOGRAFIA	29

INDICE DE CUADROS

	PAGINA
Cuadro 1 Dieta ofrecida a los toros charoláis en el corral de engorda -----	19
Cuadro 2 Características del semen, circunferencia escrotal y aumento de peso con o sin papilomatosis en el pene. -----	24

INDICE DE FIGURAS

PAGINA

Figura 1 Curva de crecimiento de los toros ----- 27

INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas de México abarcan una superficie de 806,663,44 Km² (19 estados de la república) representando el 41 % con relación a la superficie del territorio nacional. Muchos de los habitantes de las zonas áridas viven de la cría y explotación del ganado mayor y menor (vacuno, ovino y caprino). De estas especies, el ganado bovino en el Norte de México es la especie de mayor importancia económica, ya que además de aportar divisas al país, es una fuente importante de trabajo para los campesinos de las zonas desérticas.

El volumen de producción de cabezas de ganado bovino tiene un buen desarrollo de esta explotación, sin embargo, México tiene la necesidad de incrementar aún más su producción de carne. Esto puede lograrse a través del aumento de la cantidad y el rendimiento de los bovinos, pero existen muchos factores que afectan negativamente este posible incremento en la productividad; entre ellos cabe mencionar las enfermedades, aspectos nutricionales, mal manejo de los agostaderos, baja capacidad genética del ganado e inadecuadas tasas reproductivas, entre otros aspectos. Uno de los factores más importantes para la producción pecuaria es la selección de sementales, ya que de estos animales dependerá, en gran medida, el mejoramiento genético del hato así como un incremento en producción. Un buen semental será aquel que presente una calidad genética (valor genético para producción y calidad de carne) superior a la

del hato, que tenga un buen desarrollo en sus órganos reproductores y que su calidad de semen sea adecuada.

Las características a evaluar en un semental serían: ganancia diaria de peso, conformación corporal, circunferencia escrotal. Estas características son de alta heredabilidad y se miden generalmente al final de la prueba de alimentación. Las características del semen y el libido no son de alta heredabilidad.

Los sementales pueden cumplir satisfactoriamente con los rasgos antes descritos, pero enfermedades como la papilomatosis del pene, en caso de no tratarse, arruinan a los animales, pues estos ya no son aptos para la reproducción.

El papilomavirus es un virus pequeño (ADN) que causa una infección e induce verrugas benignas y en ocasiones tumores malignos en el epitelio y mucosa de la piel (Paintsil et al., 1998). El virus es común encontrarlo en todas las partes del cuerpo, incluyendo el pene, donde se presentan neoplasias de diferentes tamaños y conformaciones. Esta enfermedad se presenta en hatos de bovinos del Norte de México, lo cual es un problema muy grave si se presenta en sementales, ya que los animales infectados que no son tratados (vacunados) no pueden ser utilizados como reproductores.

OBJETIVOS:

- Determinar el efecto de esta infección sobre la circunferencia escrotal y las características del semen de toros Charolais afectados con esta enfermedad en el pene.

- Evaluar si la papilomatosis en el pene tiene efectos sobre la ganancia diaria de peso de los toros.

JUSTIFICACIÓN:

El presente trabajo se realizó considerando la importancia que presenta esta enfermedad, la cual presenta una alta diseminación en donde se concentran toros. La infección es causada por un virus y los animales que presentan la infección y no son tratados para eliminarla, de ninguna manera vuelven a ser aptos para la reproducción, y el destino que tienen estos animales es el rastro automáticamente. Considerando que poco se conoce sobre los efectos de esta enfermedad sobre el crecimiento de los toros y la calidad del semen, se consideró pertinente ahondar sobre estos puntos, para conocer con más detalle las consecuencias de la infección del pene por fibropapilomas.

HIPÓTESIS:

Ho: No existe efecto alguno en la calidad del semen, circunferencia escrotal y la viabilidad de espermatozoides que presentan papilomatosis en el pene.

Ha: La calidad del semen y el crecimiento de los toros con el pene infectado con fibropapilomas se ve disminuida.

REVISIÓN DE LITERATURA

Amin et al. (1997) llevaron a cabo un estudio donde se observaron los signos clínicos y recabaron datos de patología y virología de papiloma bovino, en Ismalia, Egipto, con novillos en granjas de este país durante una epidemia en

1996. Doscientos setenta de 1165 (23%) toros revisados presentaron verrugas en la mayor parte de la cabeza, cuello y hombros, desarrollándose pocas lesiones en el tronco y abdomen. La aplicación de productos cáusticos (con 10-20% de tintura de yodo) a las verrugas no resultó en alguna mejoría. Las verrugas grandes fueron removidas quirúrgicamente y examinadas. Los signos clínicos de sitios histológicos sugirieron una infección de papilomavirus bovina 2.

Abdouslam et al. (1997) estudiaron la etapa progresiva y regresiva de fibropapilomas en terneros. Hiperplasia de los papilomas en la epidermis y una alta actividad mitótica del estrato basal de la epidermis caracterizaron la etapa progresiva. La etapa regresiva (120 días más tarde) exhibió infiltración dérmica de una capa papilar de células mononucleares, (células CD3 y macrófagos), un estrato espinoso delgado sin bordes de rete largo, y una hialinización de colágeno en la dermis. Diversas células basales en el ciclo mitótico fueron inmunohistoquímicamente positivas por papilomavirus. Inmunohistoquímicamente se detectó el papilomavirus en estas lesiones, con números superiores del virus en células de etapas progresivas, algunas células del estrato espinoso exhibieron tinción en el citoplasma y núcleos por el virus, lo cual implica la infiltración del virión dentro del citoplasma en estas capas.

Paintsil et al. (1998) señalan que los papilomavirus son pequeños virus de ADN que inducen verrugas benignas y ocasionalmente originan tumores malignos en el epitelio y mucosa de la piel. El virus no se produce en sistemas convencionales de cultivo de tejidos y poco conocimiento existe alrededor de los requerimientos para el ensamblaje de

este virus. Los efectos de Etileno glicol-bis (Aminoetílico) y ácido tetraacético (AGTA) y (DDT) para la estabilidad del papilomavirus bovino tipo 1 (BPV1) fueron investigados *in-vitro*.

La remoción de los iones de calcio por 11mMEGTA a un pH de 8.0 junto con la reducción de lasos de Disulfuro con el uso de 15mMDTT desestabilizó las partículas de BPV. Observaciones con el microscopio electrónico de las partículas tratadas mostraron que las partículas de BPV se habían desintegrado formando capsómeros. La adición de iones de calcio al buffer causante de la desintegración previno la desestabilización de los virus.

Bezerra et al. (1994) utilizaron un total de 32 bovinos, 9 como testigo, 11 vacunados con la vacuna de papilomatosis bovina atenuada con glicerina, y 12 animales fueron vacunados con virus inactivados con formalina. Las vacunas fueron administradas subcutáneamente: la primera dosis fue de 15 ml y la 2ª de 10 ml, ésta última fue administrada a los 7 días posteriores a la primera aplicación. La inmunidad acumulada de las vacunas fue elevada de acuerdo a la observación en los papilomas, y por el índice de recuperación, observándose que las vacunas fueron efectivas en contra de la papilomatosis bovina.

Knowles et al. (1997), investigaron la respuesta inmune humoral a los primeros 200 N-amino ácidos terminales en la cápsida de la proteína L2 (L2a) del papilomavirus bovino tipo 4, y el papel que éstos juegan en la infección y la vacunación preventiva. La presentación de linfocitos B contra epítopos lineales de L2a se analizó en terneros infectados con el virus, pero no vacunados (17 terneros) y en terneros vacunados. Los

epítomos fueron identificados y tipificados en L2a usando sobreposición de peptidos; los epítomos variaron en los diferentes grupos de animales. Esto sugiere que los epítomos presentados por los L2 denaturados no están presentes en los virus y que aunque son responsables de inmunidad inducida por la vacuna L2, tienen una pequeña influencia en la inmunidad adquirida naturalmente.

Bloch y Breen (1997) llevaron a cabo un estudio en donde dos fragmentos restringidos de papilomavirus bovina tipo 5 (BPV5) de tamaño genómico de 1.6 a 1.32 Kb fueron subclonados y secuenciados. Uno parece corresponder a la terminación 3 del marco abierto de lectura E1 (ORF), y el otro a las terminaciones a las regiones E7, E8 y E5 del ORF. La alineación de todos estos fragmentos con otros BPVs mostraron que BPV5 está relacionado en forma distante con otros 5BPVs.

En un estudio de Mihura y Campero (1995), 539 toros de un total de 5381 animales Aberdeen Angus y Hereford en Argentina fueron rechazados debido a su incapacidad como sementales. Los defectos más comunes fueron: desviación del pene, el pene en forma de tirabuzón postitis, fibropapilomas, hematoma, pene con frenillo, balanitis y erección inadecuada. Las lesiones testiculares incluyeron hipoplasia, blandura, orquitis y atrofia. Algunos toros presentaron artritis de la cadera y del corvejón o vértebras oxostosas.

Anderson et al. (1997) estudiaron la distribución celular y subcelular de varios tumores de papilomavirus bovina tipo 4 (BPV4). Los productos fueron

estudiados en papilomas inducidos experimentalmente en terneros. Las proteínas E8 y E4 se detectaron solamente como antígenos citoplásmicos en las capas diferenciadas e indiferenciadas del papiloma, respectivamente.

L2 fue detectado solamente en el núcleo como antígeno y en las capas diferenciadas, mientras que E7 estuvo presente en los núcleos y en el citoplasma, dependiendo de la diferenciación del keratinocito.

Formas vírales de DNA replicativas fueron detectadas en las capas escamosas y espinosas. Antígenos vírales no fueron detectados durante la regresión de los papilomas o carcinomas. E8 fue más prominente en los estadios de desarrollo temprano, mientras que E4 y L2 fueron más abundantes en los papilomas maduros, declinando en los estadios tardíos. Se sugiere que hay un requerimiento temporal y espacial para la expresión y función de estas proteínas vírales.

Bloch et al. (1997) estudiaron 18 papilomas congelados de bovinos obtenidos de un rastro y muestras de 2 lesiones colectadas en ganado en el campo. El material colectado fue procesado y sujeto a la reacción en cadena de polimerasas (PCR) con primers de papilomavirus bovina 1/2 (BPV1/2) y BPV5. El tejido simple de cada lesión fue sometido a un examen histopatológico de rutina en forma constante. Doce lesiones que resultaron de los productos ampliados con primers específicos para BPV1/2 fueron diagnosticadas histológicamente como fibropapilomas. Cuatro lesiones identificadas histológicamente como fibropapilomas no dieron ningún producto con alguno de los primers vírales o con

primers designados para amplificar parte del gene globin. Concordancia completa entre el examen histológicos y la PCR se presentaron en 15 de las 16 muestras.

Estos autores concluyeron que los métodos descritos son convenientes para la identificación rápida y fácil de los virus presentes en las verrugas en bovino pudiéndose realizar estudios epidemiológicos extensivos en animales vivos sin remover lesiones.

Chandrachud et al. (1995) indican que se ha demostrado que el ganado vacunado con L2, la estructura menor en la proteína del papilomavirus bovina 4 (BPV-4) no desarrolla papilomas en el canal alimenticio después de un reto con BPV-4. Análisis de la respuesta de las células B y T en los animales vacunados con L2 muestran que la respuesta está dirigida directamente contra el término-N y término-C de L2.

El ganado vacunado con el término N protegido completamente a los animales después de un reto con estos virus, pero los animales vacunados con el término C no fueron protegidos. Por otra parte, Gaukroger et al. (1996) demostraron que la vacunación del ganado vacuno con el término-N (L2a, aa11-200) de la proteína menor del capsido L2 previno completamente la infección en el canal alimenticio por papilomavirus bovino tipo 4 (BPV4).

Wadhwa et al. (1996) llevaron a cabo un estudio clínico, terapéutico e histopatológico cutáneo en papilomatosis bovina. Se estudiaron 23 vacas cruzadas (de 2 a 6 años) con verrugas cutáneas; 19 vacas (82.6%) tuvieron verrugas en las tetas y ubre principalmente, aunque las verrugas se presentaron en la cara, cuello, cabeza, abdomen y

alrededor de los ojos. En 18 vacas las verrugas eran sésiles, pero en 5 vacas las verrugas tenían pedúnculo.

Los pedúnculos de las verrugas aparecían como estructuras de granos de arroz. Se presentaron verrugas con proyecciones en forma de dedos, como crecimientos aplanados de crecimiento circular de 1-2 cm o estructuras en forma de coliflor. Con el tratamiento de antiomalina se tuvo éxito en 55.5% de los casos. Las verrugas estaban compuestas de papilomas fibrosos.

Bloch et al. (1996) llevaron a cabo un estudio donde las lesiones que tenía un novillo en la cabeza, histológicamente fue definida como papiloma epitelial. Esta lesión produjo DNA que no se hibridizó con algún DNA de papilomavirus bovino asociado usualmente con la formación de lesiones en la piel. El ADN de la lesión tampoco se hibridizó con DNA para papilomavirus bovino tipo 4, y contenía una secuencia que pudo ser amplificada con papilomavirus bovino 4. Previamente se había aislado exclusivamente de lesiones en el canal alimenticio superior.

Bruner et al (1995) llevaron a cabo evaluaciones de la capacidad reproductiva en 4 razas de toros, los cuales fueron en total 1,952: 852 Angus Americano (AA), 205 Charoláis, 520 Hereford, 375 Simmental. No se detectaron diferencias significativas entre años en cuanto al número de toros clasificados insatisfactoriamente. En total 85.2% de toros fueron clasificados como satisfactorios (No presentan problema de papiloma), 9% como cuestionable (Posible presencia de papiloma) y 5.7 como insatisfactorios (Con presencia de papiloma). El promedio de la evaluación (BSF) fue de 77.0 puntos.

Los toros Simmental presentaron la circunferencia escrotal más grande seguidos por Angus Americano, Charoláis y toros Hereford. El peso final fue el factor que tuvo mayor efecto sobre la circunferencia escrotal. La media de motilidad fue de 12.8 y el promedio total de espermias anormales fue de 24.9%. El fibropapiloma del pene se diagnosticó en el 2.8% de los toros. La incidencia o presencia de frenillo fue de 4.4% en el Angus Americano y esta raza presentó la más alta incidencia de fibropapiloma en el pene y presencia de frenillo.

Chandrachud et al. (1994) llevaron a cabo un estudio con dos grupos novillos libres de papilomas los cuales fueron inmunizados con 2 inyecciones intramusculares a intervalos de 4 semanas con 1 mg de papilomavirus bovino (BPV) gama-beta E7 proteína de fusión, o no fueron inoculados. Todo el ganado fue infectado en el paladar con BPV4 a los 14 días siguientes de la segunda vacunación. El desarrollo de los papilomas fue monitoreado a intervalos de 3 a 4 semanas. Títulos de anticuerpos E7 IgG fueron detectados después de la vacunación y antes del desafío, y éstos permanecieron altos durante las 10 semanas siguientes. Anticuerpos E7 no fueron detectados en el grupo control del ganado hasta después de 13 semanas de la exposición al virus.

Henn (1990) reporta que los antígenos alelos de linfocitos que comúnmente ocurrieron en 254 bovinos Red Pied fueron Aw6, Aw8, (Aw14) y Aw20. Similar patrón ocurrió en el ganado Germán Black Pied. Diferentes patrones se observaron en toros representativos de la raza en Suecia y Checoslovaquia.

Una severa papilomatosis se asoció con los alelos Aw8, Aw9, Aw14 y Aw16, mientras que las formas menos severas de esta enfermedad se asociaron con Aw6, Aw10 y Aw20.

Leckutova et al. (1998) llevaron a cabo un estudio donde una subpoblación de linfocitos en sangre (CD2, CD4, CD8 WC1 y cadenas de IgM ea) fue elevada en bovinos Pizgauer con papilomas. Significativamente menores porcentajes de CD2 (44.7%) CD4 (22.8%) y una menor proporción de Cd4/CD (1.5) se encontró en animales con tumores comparados con ganado sano (62.3%, 34% y 2.3 respectivamente). Los animales estaban en una región con cantidades elevadas de cobre, zinc, arsénico, cadmio y plomo en el suelo y en el tejido de los animales, lo que sugiere que los factores ambientales predisponen el desarrollo de papilomas en los animales.

Elzeir et al. (1991) describieron por primera vez infecciones genitales de papilomavirus bovina en Al-Ahsa, una región de Arabia Saudita. La enfermedad se observó en 1 hembra y 2 machos cruzados de 2 a 4 años de edad. Los fibropapilomas (verrugas) se limitaron al prepucio y la vulva. Observaciones con el microscopio electrónico de una delgada sección de las lesiones reveló la presencia de partículas de virus intranuclear. La infección se confirmó usando un antisuero policlonal desarrollado en conejos y dirigidos directamente contra antígenos de papilomavirus. No se tuvo éxito al intentar la propagación del virus por inoculación de partículas de tumores en membranas corionantóicas de embriones de pollo.

Ssenyonga et al. (1990) utilizaron 10 becerros Holstein naturalmente infectados con papilomatosis cutáneo. En cinco animales se usaron vacunas autógenas (20ml) y se procedió a remover las lesiones; en otros 5 animales no se usaron vacunas. La remoción de las lesiones combinados con la administración de vacunas autógenas tuvo algún valor terapéutico en animales con pequeños papilomas con pedúnculo, pero no en animales con lesiones confluentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio.

El presente trabajo se realizó en el Rancho Experimental Ganadero "Santa Teresa de la Rueda" propiedad de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". El rancho se encuentra localizado a 82 Kilómetros al noroeste de la villa de Ocampo, Coahuila, México en una área cuya vegetación

corresponde a la del desierto Chihuahuense El rancho se ubica en los 27° 58'16'' de latitud Norte y 102° 40'05'' De longitud oeste. Su altitud varía desde los 1270 m.s.n.m. en valle hasta los 1550 m.s.n.m. en la cima de los lomeríos. Cuenta con una Superficie aproximada de 5700 ha. (CETENAL 1976).

El área muestra una exposición general hacia el noreste, la pendiente y la topografía ocasionan que la generalidad de los escurrimientos pluviales desciendan en una misma dirección, lo que a determinado que se manifieste una erosión un tanto más de tipo laminar que acanalado o por arroyuelos. En cuanto a patrones generales de drenaje, se muestra una configuración déndrica, de tal manera que tanto los cauces primarios como secundarios se integran por un solo conducto por donde se drenan los escurrimientos pluviales captados en los lomeríos, los cuales se dispersan al salir a valle abierto.

Suelo

Dentro del área predomina un suelo de origen aluvial. En las partes bajas de las laderas se observa un suelo coluvial presentando afloramiento de rocas sedimentarias formadas por calizas y lutitas. Algunos de los tipos de suelos son: regosol calcáreo, xerosolápico y calcáreo y litosol; presentándose una textura fina o media.

Clima

Este predio presenta una fórmula climática “Bso Kw” (x) (e). Este clima es el más seco de los Bs, clima seco templado con verano cálido y una temperatura media anual de 20°C. El rancho se registra una precipitación media anual de 300 mm. La estación lluviosa se presenta de julio a septiembre, existiendo además otras aportaciones de agua de la atmósfera al suelo en forma de nieva, rocío y granizo, las cuales presentan cierta importancia dadas las limitantes de este elemento.

Vegetación

Dentro del predio se pueden distinguir 3 principales tipos de comunidades vegetales caracterizadas por elementos micrófilos (parvifolio), elementos rosetófilos y una comunidad halófila formada principalmente por gramíneas. Para el manejo práctico de las comunidades vegetales y para un mejor aprovechamiento del predio, éste se ha dividido en 2 tipos de vegetación potencial que a continuación se describen:

Pastizal mediano abierto

Se encuentra localizado en valles de suelos profundos franco-limosos y de origen aluvial, de climas secos o muy secos con una precipitación que varía de 250-450 mm anuales. La altura del pastizal es de 10-15 cm con especies

graminoides, tanto perennes como anuales. Las principales especies que se presentan en este tipo de vegetación son: *Bouteloua gracilis* (navajita azul), *B. hirsuta* (navajita velluda), *B. curtipendula* (zacate banderita), *B. eriopoda* (navajita negra), *Aristida spp* (zacates tres barbas), *Hilaria mutica* (zacate toboso), *Sporobolus airoides* (zacatón alcalino) y *Opuntia spp* (nopales).

Matorral desértico rosetófilo

Se localiza cubriendo las laderas y cimas de cerros con una mayor presencia en las exposiciones sur y este, con suelos de origen coluvial con una profundidad de 8 cm. Las especies que predominan en este tipo de vegetación son: *Dasyllirion texanum* (sotol) y *Yucca carnerosana* (palma samandoca). En el estrato inferior se encuentran algunos arbustos, en su mayoría las especies corresponden a gramíneas, principalmente el *Tridens pilosus* (falso tridente peludo), y algunos otros géneros como *Aristida*, *Stipa*, *Bouteloua* y *Muhlenbergia*. Además, se han diferenciado 4 sitios de pastizal: pastizal halófito, matorral parvifolio espinoso de *Acacia constricta* (largoncillo) y de *Prosopis glandulosa* (mezquite) y matorral parvifolio inerme de hojasen.

Desarrollo del estudio

Para la realización de la presente investigación se utilizaron 31 toros Charoláis con un promedio de edad de 18 meses, provenientes del rancho la

Rueda. La evaluación de semen se realizó en el rancho Angeles propiedad de la UAAAN. Éstos se encontraban en buenas condiciones corporales (calificación > 6 en la escala de 1 a 9). Los animales llegaron a los corrales de engorda de la Universidad, en Buenavista, Saltillo, Coah. en el mes de Agosto del 2001, en donde se les proporcionó la dieta que se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Dieta ofrecida a los toros Charoláis en el corral de engorda.

INGREDIENTES DE LA MEZCLA	%
Forraje molido *	20
Salvadillo	16
Harinolina	13
Sorgo Molido	50
Minerales traza**	1

* Sorgo, avena, rastrojo de maíz, triticale.

** Primeramente se homogeneizaban con 20 Kg de sal común, luego se mezclaban con el resto de la ración.

Al momento de la evaluación del semen de los toros, se detectaron animales con fibropapilomas en el pene, por lo que se optó por dividir a éstos en dos grupos: infectados y no infectados. Esta división se realizó después de la obtención del semen, porque la enfermedad se detectó justo en el momento de obtención de semen.

El material que se utilizó para esta investigación fue el siguiente:

- Electroeyaculador
- Tubo colector de semen
- Vagina de látex
 - Cinta métrica
- Cubre objetos
- Porta objetos
- Microscopio
 - Eosina nigrosina
- Algodón
- Alcohol
- Aceite de inmersión
- Pipetas Pasteur
- Hemocitómetro

Colección y evaluación de semen

Se colectaron muestras de semen de 31 toros Charoláis, el 13 de septiembre y la segunda evaluación se realizó a los quince días, para lo cual se daba un ligero masaje por vía rectal, para posteriormente introducir el electrodo en el recto. Al accionarse el electroeyaculador, éste enviaba las descargas eléctricas automáticamente, con lo que eventualmente se iniciaba el escurrimiento del semen. Éste era colectado en tubos colectores graduados, los cuales, luego de la colección del semen, eran llevados de

inmediato al laboratorio, donde se colocaban en un baño de agua caliente a 37° C, donde permanecían mientras se realizaban las evaluaciones de motilidad y morfología.

La concentración espermática fue medida diluyendo el semen en una solución de citrato-formol y ésta se realizó utilizando un homocitómetro Erick y Sidwell citado por Jorge de Alba, (1985).

Además de la concentración de espermatozoides, a cada uno de los 31 eyaculados colectados se les determinó el volumen, con el uso de tubos graduados. Para la determinación del porcentaje de motilidad de los espermatozoides se colocó una gota de semen mezclada con una gota de solución buffer fosfatada (SBF) en un portaobjetos mantenido a 36° C. Se procedió luego a observar con el microscopio (45 aumentos), en por lo menos 5 campos, el porcentaje de células con movimiento progresivo.

Para evaluar la morfología de los espermatozoides se formó una película sobre el portaobjetos de una mezcla de semen y eosina-nigrosina. Se observaron 200 células espermáticas por muestra y se registraron las anomalías primarias y secundarias.

Previo a la colección del semen se determinó la circunferencia escrotal de todos los toros. Para esta medición se utilizó una cinta métrica flexible, la cual era colocada en la parte más ancha de los testículos.

Pesaje de los toros

Mientras los toros permanecieron en el agostadero; éstos se pesaron 5 veces a partir del 20 de marzo. Los pesajes se repitieron cada 32 días, en el ultimo peso transcurrió un lapso de 60 días para la realización del ultimo peso, sin dietar previamente a los animales. El aumento diario de peso se calculó restando el peso final del peso inicial, dividiendo esta cifra entre el número de días entre la primera y última pesada.

Análisis estadístico

Se utilizaron análisis de varianza para detectar diferencias entre grupo de animales en cuanto a aumentos diarios de peso, circunferencia escrotal, y características del semen. El peso inicial de los toros se utilizó como covariable para todos los análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En una primera evaluación de los toros (durante la colección del semen), 10 de los 31 toros (32%) presentaron papilomas en el pene. Quince días posteriores a la primera revisión de los toros, se llevó a cabo una segunda auscultación en todos los animales, encontrándose que 16 de ellos (52%) presentaban neoplasias en el pene, presumiblemente debido a fibropapilomas. Esta incidencia es muy superior a la reportada en otros estudios donde los problemas de papilomatosis en el pene de los toros ha sido inferior a 3% (Bruner et al., 1995).

La rápida diseminación de esta enfermedad se debe a que el virus del papiloma se adquiere por contacto estrecho entre animales, infectando el epitelio escamoso de la piel o las membranas mucosas. Al permanecer los toros en un mismo corral se promueve la actividad homosexual, actividad que conduce a la deposición de los virus en el área anal de los toros montados (los virus en esta área llegan a producir verrugas, conocidas como condilomata acumiata). Al continuar la actividad homosexual los toros no infectados, éstos adquieren los virus al hacer contacto su pene con el área anal de los animales contaminados con el virus.

Las neoplasias del pene de uno de los toros fueron removidas quirúrgicamente, observándose que estas verrugas no penetraban al cuerpo del pene, sino que crecían a partir del epitelio superficial. Cabe señalar también que

las neoplasias se presentaban con una superficie lisa, o bien con superficie rugosa y con pedúnculos. A excepción de un toro y a diferencia de otros reportes (Amin et al., 1997; Bloch et al., 1997), los toros no presentaron verrugas en otras partes del cuerpo.

En el cuadro 2 se presentan las características del semen y circunferencia escrotal de los toros infectados y no infectados por fibropapilomas.

Cuadro 2. Características del semen, circunferencia escrotal y aumento de peso de toros con o sin papilomatosis en el pene.

INFECTADOS				NO INFECTADOS			
		X±EE	IC		X±EE	IC	S SSig.
Volumen (ml)	10	2.85±0.75	1.2-4.5	21	3.64±0.53	2.6-4.7	NS
Motilidad (%)	6	36.7 ±9.2	27.6-45.7	21	35.5-±0.43	34.6-36.8	**
Vivos (%)	6	49.5±6.3	40.3-58.7	21	81±304	76.1-85.1	**
Anormalid. (%)	6	2.2±0.8	1.0-3.4	21	3.9±0.4	3.3-4.6	NS
C. E. (cm)	10	35.8±0.64	34.3-37.1.	21	35.5±0.43	34.6-36.8	NS
GDP (Kg)	10	1.26±0.04	1.2-1.3	21	1.38±0.02	1.33-1.42	*

*= P<0.05; **= P<0.01; NS= P>0.05 GDP= Ganancia diaria de peso

IC = Índice de confianza C.E= Circunferencia escrotal

Aparentemente este es el primer reporte que analiza la asociación entre la presencia de papilomas en el pene y las características del semen. Estos datos sugieren que la presencia de los virus en el pene repercute en el epitelio germinal del parénquima testicular, pues la calidad de los espermatozoides

claramente se ve disminuida con la presencia de las neoplasias. Se desconoce si este deterioro de las células espermáticas pueda ser una acción directa de los virus, o se trate de algún cambio bioquímico en el tejido productor de espermatozoides, como resultado de la enfermedad. En toros con enfermedades virales se han detectado anticuerpos contra los virus en el semen de los animales infectados. Estos anticuerpos pudieran también afectar la calidad del semen. En los animales infectados la regresión de los papilomas es debida a la respuesta inmunológica del animal, donde los linfocitos (principalmente CD4+, CD8+ y gama delta(WC1+)) penetran el papiloma y causan su regresión (Knoeles et al., 1996). Esta excesiva presencia de leucocitos pudiera provocar cambios bioquímicos en el tejido testicular, lo que explicaría el deterioro de los espermatozoides.

En una primera evaluación del semen, el eyaculado de seis de los 10 animales con infección en el pene presentó azoospermia, por lo cual la concentración de espermatozoides no fue analizada estadísticamente. En una segunda evaluación del semen de los toros (26 días posteriores a la primera evaluación), la concentración del eyaculado no difirió entre toros infectados y no infectados (2324 ± 572 y $2109 \pm 502 \times 10^6$ espermatozoides / ml, respectivamente).

La ganancia diaria de peso de los toros infectados fue más baja ($P < 0.05$) comparada con los toros no infectados.

Tanto el volumen como las anomalías de los espermatozoides no difirieron entre grupos de animales. En el cuadro 2 se presentan también la circunferencia escrotal de los toros, la cual no fue afectada por la presencia de la papilomatosis en los toros.

En la figura 1 se presenta la curva de crecimiento de los toros infectados o no infectados con papilomatosis en el pene. Estos datos muestran que durante los meses 13, 14, 16 y 18 de vida, las tasas de ganancia de peso de los toros fueron significativamente ($P < 0.05$) afectadas por la presencia de neoplasias en el pene. La menor ganancia de los animales infectados pudiera deberse a la acción de las citocinas, proteínas del sistema inmunológico liberadas en los animales enfermos, las cuales provocan la disminución del apetito, vía su acción en el centro de saciedad en el hipotálamo.

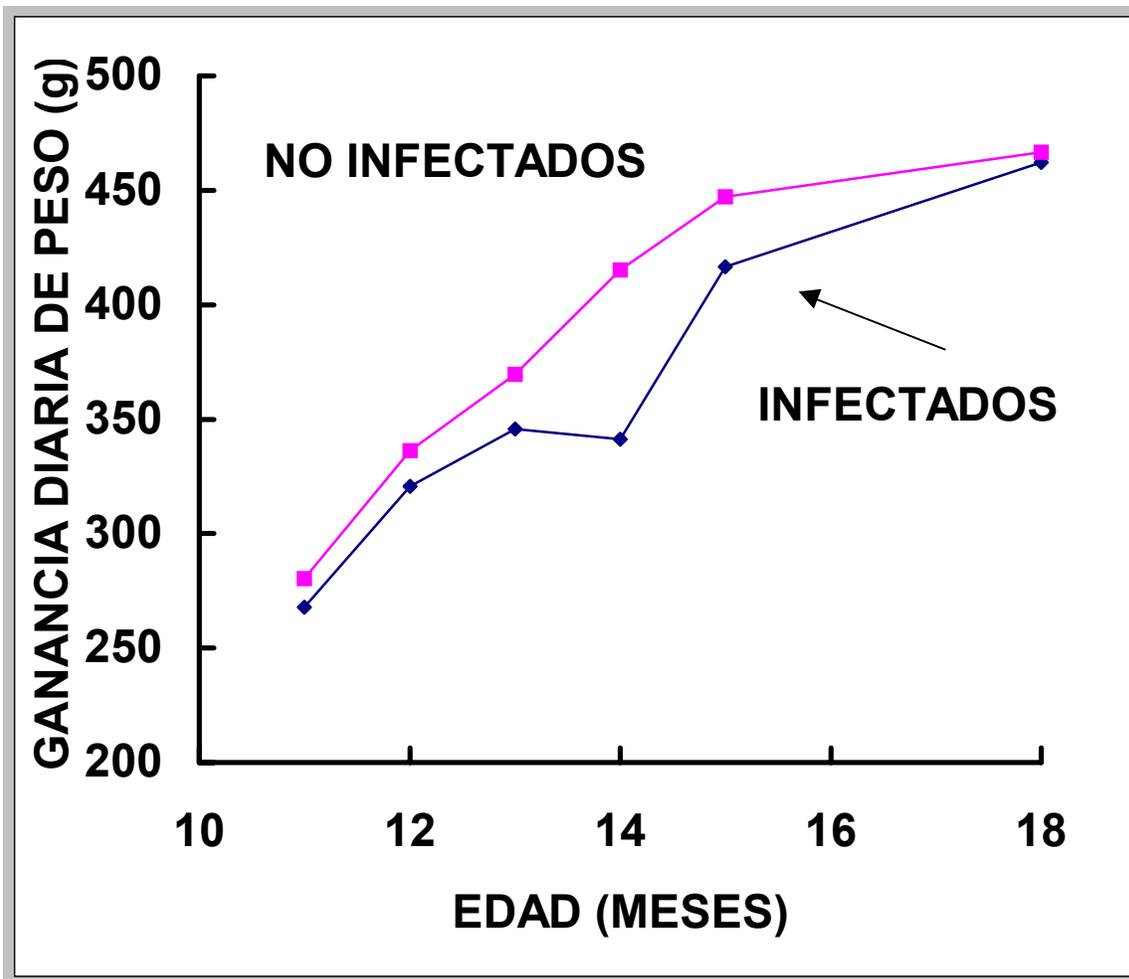


Figura 1. Crecimiento de toros Charoláis infectados o no infectados con papilomatosis en el pene.

CONCLUSIÓN

La papilomatosis del pene en los toros afecta adversamente la ganancia diaria de peso de los animales infectados (28% menos). Esta enfermedad repercute además en la

calidad del semen, provocando azoospermia temporal, la cual desaparece algunas semanas después de la infección, mostrando los toros infectados similar conteo de células espermáticas que los animales sanos. Esta enfermedad resultó además en una menor motilidad de células espermáticas y una mayor cantidad de anomalías de los espermatozoides.

LITERATURA CITADA

- Abdouslam, O.E., Levkut, M., Levkutova, M., Revajova, V., Ondrejka, R., Benisek, Z. 1997. Immunohistochemistry of the progressive and regressive stages of bovine papillomatosis. *Acta Veterinaria Brno.* 66: 245-248.
- Anderson, R. A., Scobie, L., O'Neil, B.W., Grindlay, G.J., Campo, M.S. 1997. Viral Proteins of bovine papillomavirus type 4 during the development of alimentary canal tumors. *Veterinary J.* 154: 69-78.
- Amin, D.M, Salem, S.A.H, Ahamed, M.H, Karim I.A. 1997. Pathological and virological studies on bovine papillomatosis in cattle. *Egyptian J. Comparative Pathology and Clinical Pathology* 10:1

- Bezerra M.J.G., Soares, P.C., Bezerra, R. 1994. Evaluation of immunization against bovine papillomatosis using attenuated or inactivated vaccines. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria* 16:3, 98-101.
- Bloch, N., Breen, M. 1997. Bovine papillomavirus type 5: Partial sequence and comparison with other bovine papillomaviruses. *Virus Genes* 14:3, 171-17
- Bloch, N, Breen, M., Irvin, Z.V., Spradbrow, P.B., 1996. Bovine papillomavirus type 4 DNA isolated from a skin lesion in a steer. *Vet. Record.* 138: 414-416.
- Bloch, N., Sutton, R.H. , Breen, M., Spradbrow, P.B. 1997. Identification of pillomaviruses in scrapings from bovine warts by use of the polymerase chain reaction. *Vet. Res. Communications* 21:63-68.
- Bruner, K.A., McCraw, R.L., Whitacre, M.D., Van Camp, S.D. 1995. Breeding soundness examination of 1,952 yearling beef bulls in North Carolina. *Theriogenology* 44:129-145.
- CETENAL, 1976 Carta Topografica "Santa Elena " 613-1317 México, D.F.
- Chandrachud, L.M, Grindlay, G.j., McGarvie, G.M., O'Neil, B.W., Wagner, E.R., Jarrett, W.F.H., Campo, M.S. 1995. Vaccination of cattle with the N-terminus of L2 is necessary and sufficient for preventing infection by bovine papillomavirus 4. *Virology New York*, 211: 204-208.
- Chandrachud, L.M., O'Neil, B.W., Jarrett, W.F.H., Grindlay, G.J., Campo, M.S. 1994. Humoral immune response to the E7 protein of bovine papillomavirus type 4 and identification of B-cell epitopes. *Virology New York* 200:98-104.
- De Alba, J. 1985. *Reproducción Animal*. Ediciones científicas. La prensa Medica Mexicana, S. A., México, D. F.
- Elzein, E.T.E., Sundberg, J.P., Housawi., F.M., Gameel, A.A., Ramadam, R.O., Hassanein, M.M. 1991. Genital bovine papillomavirus infection in Saudi Arabia. *J. Vet. Diagnostic Invest.* 3: 36-38.
- Henn, M. 1990. Major histocompatibility complex of German Red Pied cattle and its relationship to bovine papillomatosis. *Tierarztliche Hochschule*, 169pp.
- Knowles, G., Grindlay, G.J, Campo M.S., Chandrachud, L.M, O'Neil B.W. 1997. Linear B-cell epitopes in the N-terminus of L2 of bovine papillomavirus type 4. *Research Vet. Sci.* 62: 289-291.

- Knowles, G., O'Neil, B.W., Campo, M.S. 1996. Phenotypical characterization of lymphocytes infiltrating regressing papillomas. *J. Virol.* 70: 8451-8458.
- Levkutova, M., Revoja, V., Leng, L. 1998. Subpopulations of lymphocytes in cattle naturally infected with papillomavirus. *Acta Vet. Hungarica* 46:13-18.
- Mihura, H., Campero, C.M. 1995. Lesiones genitales y locomotoras en 5381 toros de carne detectadas clínicamente y por la prueba de capacidad de servicio. *Revista Argentina de Producción Animal.* 15:3,4 748-751. XIV Reunión Latinoamericana De producción Animal (Mar de plata), Argentina.
- Paintsil, J., Muller, M., Picken, M., Gissmann, L., Zhou-Jian, Zhou, J. 1998, Calcium is required in reassembly of bovine papillomavirus in vitro. *J. General Virology.* 79:1133-1141.
- Ssenyonga, G.S.Z., Onapito, J.S., Nakasala-Situma, J., Omara-Opyene, A.L. 1990. Therapy value of partial excision of lesions combined with administration of an autogenous vaccine during an episode of cutaneous papillomatosis in cattle of Uganda. *J. American Vet. Med. Ass.* 197: 739-740.
- Wadhwa, D.R., Prasad, B., Rao, V.N., Dhaliwal, A.S. 1996. Clinico-therapeutic and histopathologic studies on bovine cutaneous papillomatosis. *Indian J. Dairy Sci.* 49:206-208.