

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA.

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS BIOLÓGICAS Y QUÍMICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EVALUACIÓN DE TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS PARA
LA OBTENCIÓN DE EMBRYOS, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE
CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015”**

**“ EVALUATION OF THREE PROTOCOLS OF SUPEROVULATION IN ALPACAS FOR
OBTAINING EMBRYOS, SIBAYO DISTRICT, PROVINCE OF CAYLLOMA, AREQUIPA,
2015”**

Tesis presentado por la Bachiller:
LAURA ADRIANA, ELGUERA TEJADA.

Para optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA.

Arequipa – Perú

2015

DEDICATORIA

A Dios que me dio las
fuerzas necesarias para
seguir adelante en la
realización de mi tesis.

A mi madre Paulina, por su apoyo
incondicional y la confianza
depositada hacia mi persona para la
culminación de mi carrera
profesional.

A mis amigos y amigas que me han brindado desinteresadamente
su valiosa amistad, y que con sus consejos y críticas constructivas
han formado parte de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Santa María por la excelente formación profesional y por haberme acogido en sus aulas y realizarme como una persona de bien y preparada para los retos que se presentan para los retos que pone la vida.

A mi asesor de tesis Mgtr. MVZ. Guillermo Vásquez Rodríguez, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo, a su orientación y ayuda que me brindo como guía para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

A los Doctores: Gary Villanueva Gandarillas, Jorge Zegarra Paredes y Carlo Sanz Ludeña por su orientación y apoyo como jurados en el desarrollo de este trabajo de tesis.

A la Dra. Yessenia Picha Torres, quien me oriento y enseñó la parte experimental de la tesis y mostro las facilidades para poder ejecutar la parte práctica de la tesis en su hato alpaquero.

INDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	1
SUMARY	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Enunciado del problema.	3
1.2. Descripción del problema.....	3
1.3. Justificación.	4
1.3.1. Aspecto general.....	4
1.3.2. Aspecto tecnológico.....	4
1.3.3. Aspecto social.....	4
1.3.4. Aspecto económico.....	5
1.3.5. Importancia del trabajo.....	5
1.4. OBJETIVOS.....	5
1.4.1. Objetivo general.....	5
1.4.2. Objetivos específicos.....	5
1.5. Planteamiento de la hipótesis	6
II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Características anatomofuncionales del aparato reproductor de los camélidos sudamericanos.	6
2.1.1. Anatomía Reproductiva de los camélidos sudamericanos.	6
2.1.2. Fisiología de la reproducción.	7
2.1.3. Dinámica folicular.....	9
2.1.4. La ovulación.....	14
2.1.5. Óvulos sin fertilizar.....	16
2.1.6. Superestimulación ovárica	17
2.1.7. Superovulación	23
2.1.8. Problemas con superovulación en camélidos	24

	Pág.
2.1.9. Fertilización y desarrollo embrionario.....	25
2.1.10. Migración embrionaria y el reconocimiento maternal de la preñez	27
2.1.11. Colección embrionaria	28
2.2. Antecedentes de investigación.....	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	33
3.1. Materiales.	33
3.1.1. Localización del trabajo.....	33
3.1.2. Material biológico.....	33
3.1.3. Material farmacológico.....	33
3.1.4. Material de laboratorio.....	34
3.1.5. Material de campo.....	34
3.1.6. Equipo y maquinaria.....	35
3.1.7. Materiales digitales.....	35
3.2. Métodos.....	35
3.2.1. Muestreo.....	35
3.2.2. Formación de unidades experimentales de estudio:	36
3.2.3. Métodos de evaluación.....	36
3.2.4. Variables de respuesta.....	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSION:.....	43
4.1. Resultados:.....	43
CUADRO N° 01: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN TOTAL DE FOLÍCULOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.	43

CUADRO N° 02: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE CUERPOS LÚTEOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.	45
CUADRO N° 03: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE QUISTES FOLICULARES COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.	47
CUADRO N° 04: EVALUACIÓN DE EMBRIONES RECOLECTADOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.....	49
CUADRO N° 05: NÚMERO Y PORCENTAJE DE HEMBRAS QUE RESPONDEN AL TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.....	52
CUADRO N° 06: TASA DE RECUPERACIÓN EMBRIONARIA COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.....	54
V. CONCLUSIONES.	56
VI. RECOMENDACIONES.	58
VII. BIBLIOGRAFIA.	59
ANEXOS	63

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de tres protocolos de superovulación en alpacas para la obtención y colección de embriones. El estudio se realizó en el Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma en el hato alpaquero privado "Tres estancias". Se utilizaron 36 alpacas hembras (3-6 años de edad) distribuidos en tres grupos: Prot. "A" (n=12): Día 0: 500 UI eCG; día 5: 1000 UI hCG + monta; Prot. "B" (n=12): Día -1:500 UI eCG; día 0: 500 UI eCG; día 5: 2,5 ml GnRH + monta y Prot. "C" (n=12): Día 0: 200 UI eCG; día 5: 1000 UI + monta.

La respuesta ovárica a los tratamientos se evaluó mediante ultrasonografía transrectal usando un ecógrafo veterinario con transductor lineal de 7.5 Mhz. El número de CL's fue mayor en el protocolo "A" (5.83 ± 0.90) seguido del protocolo "C" (4.42 ± 0.55) y por último el protocolo "B" (4.17 ± 0.82), no observándose diferencia significativa ($p > 0.05$). Con respecto al número de quistes foliculares fue mayor en el protocolo "B" (2.83 ± 0.31), seguido del protocolo "A" (1.75 ± 0.26) y por último el protocolo "C" (1.42 ± 0.20), observándose diferencia significativa ($p < 0.05$). El lavado uterino se realizó a los 7,5 días (día 12) después de la inducción de la ovulación y monta, se procedió a la colección de embriones con el uso del método no quirúrgico. El número de embriones fue mayor en protocolo "A" (2.67 ± 0.45), seguido del protocolo "C" (1.83 ± 0.28) y por último el protocolo "B" (1.50 ± 0.20), observándose diferencia significativa ($p < 0.05$). En cuanto a la tasa de colección embrionaria fue mayor en el Protocolo "A" (45.71%), seguido del Protocolo "C" (41.51%) y por último el Protocolo "B" (36.00%). Se concluye que el Protocolo "A" es el mejor para la obtención de embriones. Se recomienda seguir evaluando la respuesta a diferentes tratamientos hormonales para obtener el mayor número de embriones colectados

Palabras claves: alpacas, superovulación, cuerpo lúteo, quiste folicular, embriones.

SUMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of three superovulation protocols on alpacas for obtaining and collection of embryos. The study was conducted in District Sibayo, Province of Caylloma, in private alpaca herd "Three stays". Were used 36 alpacas females (3-6 years old) divided into three groups: Prot "A" (n=12): Day 0: 500 UI eCG, Day 5: 1000 UI hCG + mating; Prot "B" (n=12): Day -1: 500 UI eCG, Day 0: 500 UI eCG, Day 5: 2.5 ml GnRH + mating and Prot "C" (n=12): Day 0: 200 IU eCG, Day 5: 1000 IU + mating. Ovarian response to treatment was evaluated by transrectal ultrasonography using veterinary ultrasonography with linear transducer of 7.5 Mhz.

The number of CL's was higher in Protocol "A" (5.83 ± 0.90) followed Protocol "C" (4.42 ± 0.55) and finally Protocol "B" (4.17 ± 0.82), with no significant difference ($p > 0.05$). Regarding number of follicular cysts was higher in Protocol "B" (2.83 ± 0.31), followed Protocol "A" (1.75 ± 0.26) and finally Protocol "C" (1.42 ± 0.20), showing significant difference ($p < 0.05$). The uterine lavage was performed at 7.5 days (Day 12) after induction of ovulation and mating, and proceeded to the collection of embryos with the use of nonsurgical method. Regarding number of embryos was higher in Protocol "A" (2.67 ± 0.45), followed Protocol "C" (1.83 ± 0.28) and finally Protocol "B" (1.50 ± 0.20), showing significant difference ($p < 0.05$). As for embryo collection rate was higher in Protocol "A" (45.71%), followed Protocol "C" (41.51%) and finally Protocol "B" (36.00%). It concludes that the Protocol "A" is the best for obtaining embryos. It is recommended to further evaluate the response to different hormonal treatments for the greatest number of embryos collected.

Keywords: alpacas, superovulation, corpora lutea, follicular cysts, embryos.

I. INTRODUCCIÓN.

1.1. Enunciado del problema.

“EVALUACIÓN DE TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA – AREQUIPA, 2015”

1.2. Descripción del problema.

La mayoría de la población de camélidos sudamericanos en el país se cría en rebaños pequeños de composición heterogénea, que incluyen animales de diferentes colores y de razas (alpacas Huacaya y Suri y llamas Chaku y Ccara) y sus cruces. En estas condiciones los diferentes recursos genéticos se encuentran sub utilizados, su potencial productivo que podría ser mejorado mediante selección se ve muy limitado. Para superar estas limitaciones varias instituciones están trabajando en la formación de núcleos genéticos de alpacas y llamas "puras" y, con base en estos animales preseleccionados, avanzar en el mejoramiento genético mediante selección de los animales que reúnen características deseables desde el punto de vista productivo. El objetivo es lograr que la ganancia genética acumulada en dichos núcleos, sea transmitida a los rebaños de los productores en forma de vientres y reproductores mejorados. Mientras dichos esfuerzos se van materializando y ampliando, se necesita desarrollar técnicas reproductivas que faciliten la difusión masiva de dichos animales mejorados. En la actualidad, el número promedio de crías ($n=6$) que una hembra alpaca o llama puede producir durante toda su vida reproductiva es muy limitado para difundir material genético deseado. Las técnicas de la superovulación y transferencia de embriones (TE) son una posibilidad para superar esta

limitación; permitirían, por otro lado, reducir el intervalo generacional mediante el uso de animales jóvenes.

1.3. Justificación.

1.3.1. Aspecto general.

Las alpacas tienen un tiempo de gestación de 11 meses, y por lo tanto las hembras sólo pueden producir una cría por año. Con el fin de acelerar la ganancia genética de un rebaño; la superovulación se puede utilizar para producir múltiples embriones de hembras genéticamente superiores para luego ser transferidos.

La superovulación necesita ser estudiada con la finalidad de obtener los mejores protocolos que den los resultados ideales de estimulación ovárica con la superovulación y la tasa de colección embrionaria, para luego ser usada como método eficiente de mejoramiento genético en la población alpaquera.

1.3.2. Aspecto tecnológico.

El estudio y posterior uso de biotecnologías reproductivas asistidas como es la superovulación y colección de embriones son muy necesarios en el desarrollo alpaquero con el objetivo de un eficiente mejoramiento genético en corto plazo.

1.3.3. Aspecto social.

La producción alpaquera da ocupación a múltiples sectores sociales de la población (Médicos Veterinarios, criadores, comerciantes y consumidores) y por tanto es necesario apoyar e incentivar el uso de biotecnologías reproductivas asistida como es la superovulación y producción de embriones para el mejoramiento de la calidad de fibra de la alpaca.

1.3.4. Aspecto económico.

El mejoramiento de la reproducción tiene una implicación directa en el incremento de la población de las alpacas y así incentivar a los municipios para hacer crecer a los criadores obteniendo mayor calidad en los animales para incrementar la economía de la familia y el bienestar de la población en general.

1.3.5. Importancia del trabajo.

El uso de biotecnologías reproductivas asistidas como es la superovulación y colección de embriones necesita una fase de evaluación, para ser implementadas en los sistemas de producción que usualmente no se aplican, y así poder validar dichas técnicas obteniendo una mejora en la selección y calidad.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general.

- Evaluar tres protocolos de superovulación en alpacas para la obtención de embriones, Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma - Arequipa, 2015.

1.4.2. Objetivos específicos.

- Conocer el efecto de la aplicación de 500 UI de eCG asociada a de 1000 UI hCG en la superovulación en alpacas.
- Conocer el efecto de la aplicación de 1000 UI de eCG asociada a de 2.5 ml GnRH en la superovulación en alpacas.
- Conocer el efecto de la aplicación de 200 UI de eCG asociada a de 1000 UI hCG en la superovulación en alpacas.
- Determinar el número y porcentaje de hembras que responden al tratamiento superovulatorio.

- Obtener la tasa de colección de embriones por el método no quirúrgico a los 7.5 días post tratamiento.

1.5. Planteamiento de la hipótesis

Dado que el uso de hormonas gonadotrópicas de diferente tipo y cantidad influye sobre la respuesta de ovulación, es probable que la combinación de tipo y cantidad mejore la respuesta ovulatoria y por lo tanto el número de embriones producidos.

II. MARCO TEÓRICO.

2.1. Características anatomofuncionales del aparato reproductor de los camélidos sudamericanos.

2.1.1. Anatomía Reproductiva de los camélidos sudamericanos.

Los ovarios tienen una forma globular irregular, similar a los de la cerda, en particular cuando tienen folículos múltiples. El tamaño y la forma de los ovarios varían con la edad y con su contenido en folículos y cuerpos lúteos. En la alpaca, los folículos entre 5-12 mm se consideran normales. El útero de la alpaca es bicorne, con forma de Y, presentando dos cuernos uterinos y un cuerpo muy corto. Los oviductos son grandes y están arrollados; terminan en una bolsa que circunda por completo el ovario. Las puntas de los cuernos uterinos en las alpacas y en las llamas son romas y redondeadas, y el oviducto se abre en el cuerno uterino mediante una pequeña papila elevada que actúa como un esfínter bien definido. Incluso bajo presión, no es posible que salgan líquidos del útero hacia el oviducto, aunque el flujo del oviducto al útero es posible. Las funciones del oviducto son diversas, destacando la captación del ovocito proveniente del ovario, el transporte y almacenamiento de los espermatozoides depositados en el útero, proporcionar el ambiente adecuado para que se produzca la fecundación y el

inicio del desarrollo embrionario. El cérvix tiene 2 ó 3 pliegues con forma anular o espiral irregular. El cuerpo y los cuernos uterinos se palpan fácilmente por el recto (Sato y Montoya, 1990).

2.1.2. Fisiología de la reproducción.

2.1.2.1. Pubertad

Las alpacas hembras jóvenes de 12-13 meses de edad muestran conducta de estro similar a las alpacas adultas, aún cuando la actividad ovárica empieza a los 10 meses con la presencia de folículos de 5 mm o más. En un estudio realizado en el sur de Perú con alpacas hembra de un año de edad, se determinó que había una relación muy significativa ($P < .001$) entre el peso corporal en el apareamiento y las tasas de nacimiento subsecuentes, Por cada kilogramo más de peso, se incrementaba 5% la natalidad, pero cuando el peso corporal excedía los 33 kilogramos, el porcentaje de hembras no preñadas era relativamente independiente del peso corporal. En los sistemas tradicionales de producción peruanos, 50% o menos de las alpacas de un año de edad alcanzan los 33 kg de peso corporal en el momento del apareamiento; por lo tanto, la edad de reproducción se pospone hasta los 2 años de edad en alpacas y después de 3 años de edad en las llamas. También se ha mostrado que con un mejor nivel de nutrición después del destete (7-8 meses de edad), casi el 100% de las alpacas de un año superan los 33 kg de peso corporal (Hafez y Hafez, 2002).

2.1.2.2. Estacionalidad reproductiva

Estudios con alpacas y llamas en su hábitat natural en la región montañosa del sur del Perú, donde machos y hembras conviven todo el año, mostraron que las actividades sexuales son estacionales, y duran de Diciembre a Marzo (meses de

verano); estos son los meses más calurosos del año, con lluvia suficiente y abundante forraje verde. En las alpacas, cuando las hembras se mantienen separadas de los machos y se permite la copulación solo una vez al mes, ambos sexos tienen actividad sexual durante todo el año; las tasas de ovulación y fertilización, junto con la sobrevivencia del embrión, no se vieron afectadas de manera significativa por la estación del año. La asociación continua de hembras y machos inhibe la actividad sexual de estos últimos e inclusive provoca que desaparezca por completo. Se desconocen los factores que causan el inicio y la terminación de la actividad sexual bajo condiciones naturales. Factores ambientales, además de la estimulación visual y olfatoria, podrían influir a través de sistema nervioso central. (Hafez y Hafez, 2002).

2.1.2.3. Receptividad sexual y conducta de apareamiento

En hembras cuya ovulación es inducida, no hay una definición clara de los eventos asociados al ciclo estrual. En ausencia de la estimulación copulatoria, las alpacas o llamas hembras muestran períodos de receptividad sexual hasta de 36 días, con periodos breves de rechazo que pueden durar 48 horas. Parece haber una variabilidad considerable para mostrar receptividad abierta entre los individuos, independientemente de la paridad. La variabilidad de la receptividad sexual puede atribuirse sobre todo al grado de madurez del folículo en cualquier estado de la fase folicular continua; sin embargo, no se dispone de ninguna documentación a este respecto (Hafez y Hafez, 2002).

La hembra receptiva adopta la posición particular (recumbencia ventral) después de un breve periodo de persecución por parte del macho, o se acerca a un macho que está copulando con otra hembra y adopta la posición señalada. Algunas hembras

receptivas en ocasiones muestran conducta de monta con otras hembras del hato, aunque tal conducta es mucho menos frecuente que en las vacas. Si la hembra no está receptiva, el rechazo lo demuestra al correr para alejarse del macho y escupirle. Durante la brevísima fase de cortejo y durante el apareamiento, los machos resoplan, gruñen y hacen sonidos laringo nasales. La copulación ocurre en una posición recumbente en la que el macho monta por encima y exactamente atrás a la hembra. La hembra adopta una actitud muy pasiva durante la copulación, y en ocasiones, cuando la copulación es prolongada, parece cansarse y a veces cambia de posición para acostarse sobre un lado. En comparación con otras especies domésticas el coito en los camélidos es notablemente prolongado (10-15 minutos) (Hafez y Hafez, 2002).

2.1.3. Dinámica folicular

El reclutamiento de un grupo de folículos generalmente se evidencia por la aparición de un grupo de folículos entre 2-3 mm de diámetro. Estos folículos crecen a un diámetro de 4-5 mm en el que se produce desviación folicular; etapa que conduce a la selección de un folículo dominante y la regresión de todos los otros folículos (subordinados) (Adams et. al., 1989).

El folículo dominante ejerce un efecto inhibitorio sobre el desarrollo folicular en los ovarios y esto es probablemente debido a la inhibina como en otras especies. En alpacas, una nueva onda folicular surge como un grupo de 8-10 folículos de menos de 3 mm de diámetro. De 1-3 folículos alcanzarán 5 mm en la que la fase de dominancia se establece por 1 y raramente 2 folículos mientras los demás regresionan. Aunque algunos autores informaron que el desarrollo folicular tiende a alternar entre el ovario derecho e izquierdo, la mayoría de estudios sugieren que el desarrollo folicular no sigue

esta regla, tanto en alpacas (Vaughan et. al., 2004; San-Martín et. al., 1968) y llamas (Adams et. al., 1990; Bourke et. al., 1992).

En alpacas, la tasa de crecimiento folicular durante los primeros 10 días después de la aparición de una nueva onda folicular es constante ($1,0 \pm 0,3$ mm / día) (Vaughan et. al., 2000). Está bien establecido que los folículos en crecimiento son capaces de ovular cuando llegan a 7 mm de diámetro (Vaughan et. al., 2003). El tiempo óptimo de servicio con el macho parece ser 6-8 días después de la aparición de la nueva onda folicular que corresponde a finales del crecimiento o principios de fase de madurez de un folículo dominante (Adams et. al., 1989; Sumar, 1993). En alpacas, la mayoría de los intervalos entre ondas foliculares es de 12-16 días de duración, pero también estos intervalos entre ondas pueden durar entre 18, 20 y 22 días ocasionalmente. Existe una variación en el intervalo de onda entre alpacas y dentro de las ondas foliculares de una misma hembra (Vaughan et. al. 2004). Con base en exámenes laparoscópicos de los ovarios de las alpacas, se observó que el crecimiento, la conservación y la regresión de un folículo requirieron cada uno un promedio de 4 días (12 días en total; con límites de 9-17 días) (Bravo y Sumar, 1989).

Sin embargo, estudios más recientes basados en la evaluación precisa diaria de la actividad ovario usando la ultrasonografía han mostrado diferentes duraciones para cada fase de la onda folicular (Vaughan et. al., 2004). Estudios endocrinos demostraron que las concentraciones plasmáticas de estradiol siguen de cerca el crecimiento folicular y alcanzan niveles máximos justo antes de que el folículo alcanza su tamaño maduro y luego disminuye con la regresión del folículo (Vaughan, 2011).

La duración de la onda folicular varía entre las especies de CSA, la vicuña tiene la onda folicular corta. Los eventos endocrinos que regulan la dinámica folicular en camélidos

no han sido ampliamente investigados. Sin embargo, sobre la base de los estudios de estimulación ovárica se cree que esta regulación implica el eje hipotálamo-pituitaria-gonadal y la secreción de inhibina del folículo dominante maduro. La FSH puede estar implicada en los mecanismos de reclutamiento de cada onda folicular (Tibary, 2001b).

El tiempo del intervalo entre ondas foliculares es necesario para que sucesivos folículos dominantes puedan surgir y alcanzar rangos de tamaño máximo (11-18 días para las llamas, de 8-12 días para alpacas, y de 9-10 días para la vicuña) (Adams et. al., 1990; Bourke et. al., 1992).

El intervalo entre ondas foliculares varía de una hembra y otra. Por lo tanto, la predicción de la mejor época para servir a una hembra basándonos en la duración anterior de un folículo dominante no es exacta y no se recomienda (Vaughan, 2011). Las ondas foliculares están presentes durante la lactancia y hasta 6 meses de gestación (Vaughan et. al., 2004).

Se ha estudiado la función del cuerpo lúteo después del apareamiento estéril y fértil en camélidos domésticos. Después de apareamientos infértiles en alpacas y llamas, la progesterona en sangre aumento a partir del día 5 y alcanzó concentraciones máximas de 10-20 nmol/L el día 7-8, y hubo un rápido descenso de progesterona el día 9-10, en relación con oleadas repetidas de prostaglandina F_{2α}. Las concentraciones de 17β estradiol fueron superiores de 100-200 pmol/L durante el estro cuando los animales se apareaban. Se detectó un incremento temporal en relación con el aumento de las concentraciones de progesterona en la fase lútea temprana. Con esta excepción, los niveles de estradiol permanecieron bajos, 20-40 pmol/L durante la fase lútea, pero aumentaron en casi todos los animales después de la luteólisis a 40-60 pmol/L. Durante los días 3-4 después del coito, cuando el cuerpo lúteo está en formación y las

concentraciones de progesterona son bajas, casi todas las hembras permanecen receptivas al macho. Las concentraciones plasmáticas de progesterona en hembras que mostraban receptividad sexual en este momento estaban entre 0.06-0.28 ng/ml. En las llamas, mediante ultrasonografía, se detectó el cuerpo lúteo por primera vez el día 3.1 ± 0.2 (la ovulación corresponde al día 0, que ocurre en promedio 2 días después del apareamiento) en hembras apareadas con machos vasectomizados, y alcanzó el diámetro máximo (13mm) el día 5.9 ± 0.3 (equivalente a aproximadamente 8 días después del apareamiento). El diámetro del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en plasma están muy correlacionados. No se observó una fase lútea prolongada en ninguna alpaca o llama con apareamiento estéril (sin preñez). Un apareamiento fértil propicia la formación de un cuerpo lúteo que permanece funcional durante toda la gestación. Durante los primeros 60 días de la preñez, el diámetro del cuerpo lúteo fue observado mediante ultrasonografía rectal y se determinaron las concentraciones de progesterona en plasma en llamas preñadas. Se detectó el cuerpo lúteo el día 3.1 ± 0.2 , y alcanzó su diámetro máximo (16mm) el día 21 ± 1.2 . Hubo una disminución en la concentración promedio de progesterona en plasma entre los días 8-10, así como una reducción transitoria del diámetro lúteo durante este periodo. Se ha informado un descenso similar de progesterona entre los días 8-11 en alpacas (Hafez y Hafez, 2002).

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DINÁMICA FOLICULAR

Los factores estudiados que pueden afectar la dinámica folicular en camélidos son la estacionalidad o temporada del año, la edad y el estado de lactación.

a) EFECTO DE LA TEMPORADA:

Alpacas hembras muestran períodos prolongados de receptividad sexual (hasta 36 días) (San-Martín et. al., 1968) con intervalos cortos de rechazo al macho. Los CSA no son estacionales y la actividad folicular ovárica se produce durante todo el año (Bravo y Sumar, 1989). Sin embargo, las lluvias de temporada y por lo tanto la disponibilidad de buenos pastos, en los meses de verano en los Andes han llevado a la creación de un sistema de manejo de los servicios con macho durante una temporada. Durante la época de servicio o empadre, de Enero a Marzo en el hemisferio sur, las hembras se juntan a los machos por periodos de hasta 45-60 días (Tibary y Anouassi, 1996).

b) EFECTO DE LA EDAD

El efecto de la edad y la madurez sexual ha sido estudiado por Sumar (1993). No se observó ninguna diferencia significativa en el patrón de receptividad o el tamaño folicular en el apareamiento entre primerizas y hembras adultas. Sin embargo, es importante señalar que la tasa de falla de la ovulación después de apareamiento fue significativamente mayor en hembras primerizas que en hembras adultas.

Las hembras jóvenes (2-6 años de edad) pueden tener patrones normales de ondas foliculares, la receptividad al macho a menudo no es tan fuerte como en las hembras adultas (Sumar, 1993).

c) EFECTO DE LA LACTANCIA

La lactancia afecta fuertemente la actividad folicular en alpacas que resulta en intervalos entre ondas foliculares cortos, reduce el diámetro máximo de los folículos dominantes, así como una mayor tasa de falla de la ovulación (Sumar et. al., 2010). En lactantes llamas, el intervalo es desde el apareamiento hasta la ovulación y la tasa de crecimiento de los folículos preovulatorios no se vió afectada por el estado de

lactancia. Sin embargo, la lactancia se asoció con más corto intervalo entre ondas ($2,5\pm 0,05$ días), y con menor diámetro máximo de los folículos dominantes en comparación con las hembras no lactantes (Adams et. al., 1990).

2.1.4. La ovulación

En la alpaca, el tiempo mínimo de ovulación se calculó en 26 horas después del empadre natural y 24 horas después del tratamiento con hCG. En alpacas hembra receptivas a las que se les permitió un solo apareamiento, 50% ovuló en un lapso de entre 26-30 horas, 24% ovuló entre 30-72 horas después, y 26% no ovuló después del apareamiento. Cerca de 40% de las hembras que no ovularon tenían 1 año y 15% eran adultas. Con el empleo de una técnica de ultrasonografía en llamas, se observó que la ovulación ocurre, en promedio, 2 días (con límites de 1-3 días) después de un solo apareamiento. Un solo servicio por un macho intacto o vasectomizado provocó la ovulación en 77-82% de alpacas, y un incremento a 3 del número de servicios por machos intactos en un periodo de 24 horas no influyó de manera significativa en la tasa de ovulación. La tasa de ovulación fue del 100% después de una sola inyección de gonadotropina coriónica humana (hCG, UI 750, por vía IM), con o sin IA. En CSA el apareamiento dura en promedio de 20 minutos y no se encontró correlación entre la longitud de la copulación y la tasa de ovulación. En alpacas, los folículos son capaces de ovular en respuesta al apareamiento o la administración de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) o gonadotropina corionica humana (hCG) cuando llegan a 7 mm de diámetro. El máximo diámetro folicular se alcanza en una media de 8 días y tiene rangos de 7-12 mm. También logró inducirse la ovulación con 1 mg de LH, y además fue necesaria una dosis de 4-8 μ g de GnRH para provocar el estímulo adecuado para la ovulación. Se observó un incremento significativo de la concentración de LH en suero

15 minutos después del inicio de la copulación, con el nivel máximo de la oleada preovulatoria de LH a 2 horas, retornando a niveles basales a las 7 horas después de la copulación. No se detectó una segunda secreción de LH después de un segundo período copulatorio en el lapso de 24 horas después del primero. La oleada de LH observada después de la copulación es congruente con el hecho de que la alpaca y la llama tienen ovulación inducida. (Hafez y Hafez,2002).

Vaughan et. al., (2004) reportó un aumento de LH 30-40 minutos después del apareamiento. En un estudio, las llamas se aparearon de forma natural o tratadas con LH (5 mg, IM) o GnRH (50 mg, IM). Las hembras pueden ovular sin estimulación coital y hormonas exógenas, sobre todo cuando al principio se les aísla del macho y luego se les vuelve a presentar ante él.

Se informó que la tasa de ovulación espontánea es de aproximadamente 5-10% en las alpacas y 9-15% en llamas (Adams, 1990). Algunos autores observaron que la deposición del semen en la vagina del camello Bactrian induce la ovulación y demostraron que la inyección intramuscular (I.M) de plasma seminal a las hembras durante la fase folicular resultó en un pico de hormona luteinizante (LH) y FSH hasta 4 horas; más tarde se dio la ovulación dentro de 30-48 horas; lo que ha conducido a la propuesta de que debe haber un “factor inductor de la ovulación” (OIF) en el semen del camello y el toro. Debido a la cercana relación filogenética entre los *Camelidae* del Viejo y del Nuevo Mundo se consideró probable que efectos similares se observaran en alpacas y llamas. En el caso de los camellos, los investigadores chinos sugirieron la presencia de un efecto semejante al de GnRH en el semen de camello o toro. A la inversa, otros autores observaron que el semen de alpaca podría contener algún factor

o factores, distintos de GnRH, que pudieran contribuir con el mecanismo de secreción de LH en esta especie.

La ovulación en alpacas y llamas receptoras puede inducirse por la deposición de semen de alpaca, llama o toro. Factores del plasma seminal incluyendo el FIO también pueden estar implicados en el transporte de espermatozoides, formación de depósito, capacitación y fertilización. No se encontraron diferencias en la tasa de ovulación entre ovarios. Se detectó un cuerpo lúteo en el ovario derecho en 51% de las alpacas, 47% en el izquierdo, y cerca de 2% en ambos. (Hafez y Hafez, 2002).

El plasma seminal puede jugar un papel en el reconocimiento de los espermatozoides por los hidratos de carbono de la trompa uterina, unión de espermatozoides y la formación de un depósito de espermatozoides. (Apichela et. al., 2010; 2011).

2.1.5. Óvulos sin fertilizar

La literatura científica que describe el destino de los óvulos mamíferos no fertilizados es escasa. La degeneración y la desaparición de los óvulos en el oviducto se consideraron una posibilidad en los CSA. Van Nierkek y Gerneke (1966) estudió sobre el transporte diferencial de oocitos y embriones en el oviducto del equino. Es decir, si el óvulo recién ovulado permanece sin fertilizar, pasa al oviducto sólo hasta la unión útero-tubárica donde permanece alojado en los pliegues del oviducto y este óvulo no fecundado se degenera lentamente durante muchos meses.

Bourke et. al. (1995) sugieren que, en llamas, el oocito no fertilizado no alcanza el útero después de la ovulación, lo que implica que los camélidos son similares a los caballos con respecto al transporte selectivo de embriones a través del oviducto.

Picha et. al. (2013a) informaron que el óvulo no fertilizado de la alpaca se encuentra en el oviducto ipsilateral al lado de la ovulación del día 1 al día 5 después de la ovulación y

continuó su viaje ingresando a los cuernos uterinos en el día 6 después de la ovulación, donde este óvulo no fertilizado se encuentra degenerado o con la zona pelúcida desintegrada. Durante el transporte oviductal de los oocitos, estos se encuentran en el área del istmo al día 4-5 después de la ovulación. Este hallazgo contradice la hipótesis anterior de que los CSA pueden tener un transporte selectivo de los óvulos no fertilizados a través de la unión útero-tubárica (UUT), como se describe en la yegua (Van y Gerneke, 1966).

Los resultados de Picha et. al. (2013a) mostraron que los oocitos no fertilizados alcanzan los cuernos uterinos al día 6 después de la ovulación lo que demuestra que no hay transporte selectivo.

2.1.6. Superestimulación ovárica

La superestimulación ovárica en llamas y alpacas han sido logradas usando eCG, FSH, o una combinación de estos dos. El tratamiento con eCG es usualmente dado como una simple dosis por vía IM de 500-1500 UI. Altas dosis han sido relacionadas al desarrollo de quistes foliculares (2.000 UI). FSH porcino es administrado por vía IM en un parámetro decreciente cada 12 horas por 4-5 días. FSH ovino también ha sido usado exitosamente para la inducción del crecimiento folicular en llamas usando un régimen de dosis decrecientes. Después del tratamiento superestimulador, las hembras pueden ser servidas para inducir la ovulación, pero usualmente el servicio es seguido por la administración de un agente de inducción de ovulación tales como GnRH, hCG o LH. (Ratto et. al., 2013)

2.1.6.1. Superestimulación ovárica durante la fase de receptividad sexual

Después de 5 días consecutivos de receptividad sexual, las llamas fueron tratadas con 20 mg pFSH (NIH-FSH-P1) por vía IM 2 veces diariamente por 5 días

consecutivos (dosis total de 200 mg) seguido por la administración de 750 UI de hCG por vía IM para la inducción de la ovulación. La superestimulación durante la fase receptiva sexual ha sido reportada en alpacas, excepto que las hembras fueron tratadas con una dosis única de 1000 UI de eCG (Día 0) seguido por 1000 IU de hCG en el día 6 para la inducción de ovulación. (Ratto et. al., 2013)

2.1.6.2. Superestimulación ovárica durante la fase luteal natural

Las hembras con un folículo de por lo menos 9 mm en diámetro fueron tratadas con GnRH o hCG para inducir la ovulación (Día 0). Después de 7 días, 1000 UI de eCG fueron administradas por vía IM. Al día 9, una dosis de prostaglandina (luteolítico) fue dado, y finalmente, una dosis de 750 UI de hCG fue administrado cuando los folículos alcanzaron un diámetro de 9-13 mm para inducir una ovulación sincronizada (Ratto et. al., 2013).

2.1.6.3. Superestimulación ovárica durante una fase luteal artificial

Para imitar la fase luteal, se ha administrado P4 por vía de esponjas vaginales conteniendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), 0.3 g de P4 en un dispositivo intravaginal de liberación controlada (CIDR), implantes subcutáneos de 3 mg de norgestomet (Crestar), o administración diaria IM de 50 mg de P4 por 7-12 días. La superestimulación ha sido lograda mediante la administración de 20 mg de pFSH (NIH-FSH-P1) I.M. 2 veces diariamente por 5 días (dosis total de 200mg) o 1000 UI de eCG iniciando a las 48 horas antes de retirar la P4. Finalmente, una dosis ovulatoria de hCG o GnRH es administrada. La necesidad de inducir la fase luteal antes o durante la superestimulación en camélidos no es claramente entendida, pero esto puede reflejar un empírico método convencional usado en otros rumiantes. (Ratto et. al., 2013).

2.1.6.4. Superestimulación después del control del crecimiento folicular

Basados en que la dominancia folicular reduce la respuesta superestimuladora, como sucede en los rumiantes, diferentes intentos han sido usados para el control del desarrollo folicular en llamas y alpacas. Con el uso de la ultrasonografía diaria, es posible iniciar la superestimulación ovárica en hembras en un tiempo cuando la dominancia folicular es mínima (folículos <7mm de diámetro). Sin embargo, el uso de la ultrasonografía regular en granjas comerciales puede no ser económicamente favorable o práctico. Sin embargo, intentos han sido hechos para inhibir la dominancia folicular tratando hembras con P4, sin o con estradiol, o a través del uso de un agente de inducción de ovulación (GnRH o LH) o por eliminación folicular. Con el desarrollo exitoso de protocolos para el desarrollo folicular, es posible asumir que la superestimulación puede ser iniciada en un tiempo pre-programado, considerando la presencia de una fase luteal natural o artificial. En llamas, el tratamiento con P4 inhibe el desarrollo folicular temporalmente y sincroniza la aparición de un nuevo folículo dominante aproximadamente 7 días después del inicio del tratamiento. El uso de P4 solo o asociado con la administración de 1 mg de (BE) al inicio del tratamiento de P4 resultó en la aparición de una nueva onda folicular a los 4.5 y 6.5 días después del inicio del tratamiento, respectivamente. Adicionalmente, los autores reportan que el tratamiento con gonadotropinas después de BE + P4 resulta en una alta tasa de colección embrionaria que en llamas tratadas con P4 sola. (Ratto et. al., 2013).

El inicio de una onda folicular en las llamas tratadas con P4 en combinación con 17β -estradiol no fue mejor que grupos controles sin tratamiento; una onda folicular nueva emerge a los 4.5 ± 0.8 y 5.5 ± 1.0 (promedio \pm SEM) después del tratamiento.

Otras aproximaciones, involucran la administración de LH para inducir la ovulación del folículo dominante presente, o la eliminación de los folículos $\geq 5\text{mm}$ a través de la guía ultrasonografía transvaginal, fueron más efectivas para la sincronización de una nueva onda folicular (2 días después del tratamiento) y el desarrollo de un folículo ovulatorio (5 días después del tratamiento). La ruptura manual del folículo dominante ha sido también descrita como un método efectivo para la supresión de la dominancia folicular, con el tratamiento superestimulador iniciado después de la ruptura folicular, pero tiene el riesgo de daño de la pared rectal con operadores inexpertos. En un reciente estudio en llamas, la colección de embriones fue mejorado cuando el tratamiento superestimulador fue iniciado al tiempo del inicio de una onda folicular inducida por BE más esponjas intravaginales de MPA. (Ratto et. al., 2013).

Sin embargo, otros estudios en llamas y alpacas (Huanca, 2008) han demostrado un mejoramiento en la tasa de colección de embriones cuando el tratamiento superestimulador es iniciado al tiempo del inicio de la onda folicular inducido por la administración de LH. Como se mencionó previamente, aparentemente no hay bases fisiológicas para la inducción de una fase luteal o durante superestimulación en camélidos, y esta práctica puede ser simplemente una reflexión de un método convencional usado en otras especies. Considerando esto, eCG con o sin P4 efectivamente induce una respuesta superovulatoria y múltiple producción de embriones en llamas; la adición de P4 durante el tratamiento superovulatorio no provee efectos beneficiosos. Los estudios hechos en alpacas sugieren que la respuesta ovárica es más variable que lo observado en llamas, y que existe una mayor proporción de animales que no responden al tratamiento. Estos resultados

son demostrados con información de estudios en los cuales solo el 53% (18/34) de alpacas produjeron embriones después de la superovulación, con una tasa de colección del 41% (número de embriones/número de CL's detectados mediante ultrasonografía. (Huanca, 2008). En el mismo estudio, solo el 6% de las hembras superestimuladas produjo un promedio de 7 embriones transferibles y 45% de las hembras produjeron entre 1-3 embriones. A pesar de los esfuerzos para mejorar los protocolos de superovulación en llamas y alpacas, la respuesta ovárica es aún una variable frustrante. El número total de CL's que se reporta es de 0-17 por hembra, y la tasa de colección de embriones no excede el 45% (0-4 embriones transferibles por hembra), con una proporción de hembras que no dieron embriones (~20%). (Ratto et. al., 2013)

2.1.6.5. Superestimación para la colección del complejo cumulus–oocito por aspiración folicular

El control del crecimiento folicular combinado con los protocolos de superestimación ha resultado en una consistente respuesta ovárica con un largo número de folículos disponibles para punción folicular y colección de oocitos. Sin embargo, parece que cuando los tratamientos de superestimación ovárica son usados para superovulación y colección embrionaria, ovulación, in vivo fertilización y transporte de gametos puede estar comprometido, resultando en una pobre tasa de colección embrionaria; el número promedio de CL fue 11.5 por hembra después del tratamiento de eCG y el número promedio de embriones colectados fue 4.8 por hembra. Por lo tanto la colección viable del complejo cumulus-oocitos por aspiración folicular para FIV, podría ser un método alternativo para sobrellevar las

dificultades observadas durante el procedimiento de producción de embriones in vivo (Ratto et. al., 2013).

En las llamas y alpacas, la estimulación ovárica con eCG y FSH provee una población uniforme de oocitos. La mejor respuesta para gonadotropinas fue obtenida cuando el tratamiento fue iniciado después de inhibir el folículo dominante o sincronizando la aparición de una nueva onda folicular. Estos tratamientos han sido de ventaja para proveer más complejos de cumulus-oocito expandidos (COC) (Trasorras et. al., 2009). En llamas, la superestimulación con eCG fue asociado con un ligero aumento de la proporción de COC's expandidos y COC's en metafase II comparado con la superestimulación con FSH. Sin embargo, en otro estudio con tratamientos superestimuladores con FSH y eCG fueron igualmente efectivos. Aunque un gran número de COC's puede ser obtenido de animales in vivo; no existen muchos estudios relacionados a la producción in vitro de embriones en esta especie. La producción in vitro de llamas ha sido reportado después del control del crecimiento folicular con BE + P4 dió resultados exitosos o la eliminación de folículos y el uso de eCG o FSH para la obtención in vivo de COC's maduros. Considerando las bajas tasas de recuperación embrionaria observadas en programas de transferencia de embriones convencionales, los protocolos de superestimulación ovárica podrían ser usados más efectivamente como método potencial para obtener COC's maduros para FIV y producción embrionaria. El mejoramiento de la producción in vitro de embriones es un desafío para que esta técnica pueda estar disponible en granjas comerciales. (Ratto et. al., 2013).

2.1.7. Superovulación

La superovulación es la producción de un número mayor de lo habitual de oocitos, generalmente resultante de la administración de gonadotropinas exógenas para procedimientos de fecundación asistida. También denominada ovulación múltiple o hiperestimulación ovárica controlada, se realiza su seguimiento con ecografías transrectales en animales domésticos de producción y cuyo objetivo es obtener más oocitos para incrementar las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida. Los métodos de superovulación, también se aplican en el CSA. Tanto eCG y FSH se están utilizando en la actualidad como agentes para estimular la ovulación múltiple.

Trasorras et. al. (2009) reportaron que 500 UI de eCG no produjo superovulación ovárica después de la inhibición del folículo con benzoato de estradiol (BE) y aplicación vaginal de progesterona (CIDR). En alpacas la administración de 1000 UI de eCG al final de un protocolo de CIDR produjo una respuesta ovárica superior (número de CL's) que el tratamiento durante la fase folicular (sin tratamiento P4); además, las hembras tratadas con eCG sin pre-tratamiento con P4 tenía una incidencia significativamente mayor de quistes foliculares (Velásquez y Novoa, 1999).

De acuerdo con Trasorras et. al. (2012), el tratamiento con 1000 o 1500 UI de eCG es eficaz para la inducción del crecimiento de folículos múltiples en llamas, aunque la administración de 1500 UI produce un mayor número de folículos (Trasorras et. al., 2009). La administración de altas dosis de eCG puede ser beneficiosa para llevar a cabo la aspiración del folículo para obtener oocitos para su uso en técnicas de reproducción asistida tales como FIV e inyección intraplasmática de esperma (ICSI). Por otro lado, cuando el objetivo es la obtención de embriones a través de lavado uterino, su uso podría ser perjudicial debido al posible desplazamiento de la bolsa

ovárica, debido al gran tamaño del ovario superovulado. Las técnicas están produciendo un promedio de 2,5-3 embriones por descarga (hasta 21 embriones por hembra) El número de estudios sobre la superovulación y la TE en los CSA se mantiene baja y el perfeccionamiento de los protocolos existentes continúa para identificar un programa de superovulación que produce sistemáticamente un número aceptable de embriones transferibles, y se asocia con un riesgo mínimo de la infertilidad de la hembra donante elite. (Vaughan et. al., 2013).

2.1.8. Problemas con superovulación en camélidos

El tratamiento para superovulación en camélidos están bien lejos de ser perfecto. La respuesta ovulatoria y la producción de embriones permanece muy variable. A partir de la experiencia reportada en alpacas y llamas, los mayores problemas son:

- La alta incidencia de hembras que no responden: Del 20-30% de las hembras que reciben el tratamiento de superovulación no desarrollan folículos. Esto es probablemente debido a que algunas hembras producen inmunidad contra eCG.
- La alta incidencia de luteinización de folículos antes del servicio. Esto es particularmente prevalente en los tratamientos con eCG y puede deberse a la actividad de LH de esta hormona.
- La alta variabilidad en la respuesta entre las hembras tratadas.
- La alta incidencia de ovarios superestimulados. En algunas hembras superovuladas con eCG o FSH, los ovarios se agrandan y presentan muchas generaciones de folículos de diferentes tamaños. Esto probablemente se deba a una respuesta individual a las hormonas. Muchas de las hembras tratadas con ovarios superestimulados no producen ningún embrión, probablemente se debe a una interferencia en el transporte de los gametos o en el proceso de fertilización.

2.1.9. Fertilización y desarrollo embrionario

2.1.9.1. Maduración de oocitos y la fertilización

Los acontecimientos de la maduración de oocitos, la capacitación espermática y reacción acrosómica que conduce a la fertilización no se han investigado a fondo (Tibary y Anouassi, 1996; Tibary, 2001a).

Basado en la observación clínica y en estudios de FIV, se cree que estos procesos sean similares a otros tipos de ganado doméstico. La maduración de oocitos se produce después de la cópula y la liberación de LH. La tasa de fertilización es mayor al 85% en una hembra fértil, en la etapa correcta del desarrollo folicular, apareada por un macho fértil (Tibary, 2001a).

Apichela et. al. (2009-2011) informó la formación de un depósito de esperma en la trompa uterina después de apareamiento en la llama. Los espermatozoides adheridos a la mucosa de la UUT y el istmo permanecieron unidos hasta 28 horas post-apareamiento. La formación del depósito de espermatozoides se atribuyó a las células secretoras de la UUT, y de las células ciliadas en el epitelio del istmo.

2.1.9.2. Etapas oviductales del desarrollo embrionario temprano

Los estudios sobre el desarrollo embrionario temprano en alpacas se han llevado a cabo desde mediados y finales de los 60. San-Martín et. al. (1968) informó la cronología del desarrollo de embriones de alpaca de la siguiente manera: fertilizado o 2 células a los 2 días después de apareamiento, de 4-8 células a los 3 días y 8-16 mórula al día 4.

Sin embargo, Bravo et. al., (1996) informó el desarrollo de un embrión de 4-8 células a los 4 días después del apareamiento. Cárdenas et. al. (1997) informó de la cronología del desarrollo embrionario después de apareamiento en alpacas (2-4

células al día 2; 4-8 células al día 3; mórulas tempranas al día 4, mórula compacta al día 5).

De acuerdo con estudios recientes (Picha et. al., 2013c) las etapas oviductales de desarrollo temprano del embrión en alpacas se producen en la trompa uterina durante los primeros 5 días después de la ovulación.

2.1.9.3. Etapas uterinas del desarrollo embrionario temprano

El transporte del embrión a través del oviducto y, especialmente, a través de la UUT en el útero parece estar bajo la influencia del embrión.

Picha et. al. (2013c) informó que el embrión entra en la cavidad uterina entre los días 6-6,5 después de la ovulación en una etapa temprana de blastocisto eclosionado. La eclosión del blastocisto puede ser un fenómeno mecánico que se produce durante el paso del embrión a través de la UUT. En camélidos, el embrión comienza a alargarse al día 9 y el trofoblasto establece un estrecho contacto con el endometrio al día 14 (Tibary, 2001b).

Cárdenas (1997) informó que en el día 10 post-apareamiento los embriones fueron recolectados como trofoblastos colapsados o alargados, y entre los días 11-15 trofoblastos alargados. Ningún embrión fue recuperado desde el día 6 hasta día 7. Tal vez debido a que al día 6-7 post-apareamiento el embrión estaba todavía localizado en el oviducto.

En alpacas, Olivera et. al. (2003) informó que los blastocistos son completamente libres en el lumen uterino en el día 15 y el implante comienza alrededor del día 20 post-apareamiento. En los días 22-26 de la gestación, el trofoblasto se sobrepone a la superficie epitelial del útero, con las zonas de contacto y la adhesión por medio del complejo de interdigitación. Los sitios de implantación se producen

predominantemente en el cuerno uterino izquierdo, pero el trofoblasto también ocupa grandes extensiones del cuerno derecho, donde la interacción materno-fetal muestra las zonas peculiares de aposición. Como el desarrollo continúa las áreas de fijación se hacen más extensas.

2.1.10. Migración embrionaria y el reconocimiento maternal de la preñez

El reconocimiento materno de la preñez debe ocurrir en camélidos antes del día 10 post-apareamiento con el fin de evitar la liberación de la PGF2 α a partir del endometrio y para mantener un CL funcional (Aba et. al., 1997).

Bravo et. al. (2000) describe en alpacas el crecimiento de vesículas embrionarias y embriones en multíparas y nulíparas de 7-45 días después de la cópula. Los blastocistos fueron recuperados sólo en el cuerno uterino izquierdo de alpacas en el día 7 después de la cópula. Todas las vesículas embrionarias se detectaron por primera vez en alpacas en el día 12 en el cuerno uterino izquierdo, aunque la mitad de los CL's se observaron en el ovario contralateral.

Picha et. al. (2013c) informó que el embrión comienza a alargarse al día 9 post-ovulación, esta etapa de desarrollo coincide con la migración del embrión en el cuerno uterino izquierdo.

El 98% de las preñeces de camélidos se producen en el cuerno uterino izquierdo, a pesar de que el CL de preñez se encuentra igualmente en el ovario izquierdo o derecho (Fernández Baca et. al., 1970). Además, se ha observado que la luteólisis diferencial se produce en los cuernos uterinos tanto izquierdo como derecho, lo cual puede explicar por qué los embriones concebidos en el cuerno uterino derecho migran al cuerno uterino izquierdo para evitar los efectos sistémicos luteolíticos en el cuerno uterino izquierdo.

Skidmore et. al., (2009) no pudo detectar ninguna sustancia similar a los interferones de trofoblasto ovina y bovina en el embrión del camello (*Camelus dromedarius*) incubado de 10-33 días después de la ovulación, pero se observó una considerable capacidad de aromatización de las membranas embrionarias adicionales a los 10 días después de la ovulación.

La administración exógena de estradiol ha sido reportado para extender la vida útil del CL en llamas durante la fase crítica del reconocimiento materno embrionario. Huanca et. al. (2001) informó de una reducción de la mortalidad embrionaria en llamas cuando el BE es administrado en los días 8-9 de post-apareamiento.

Cosio (2000) informó que los embriones de alpaca al día 5 post-apareamiento fueron encontrados en el cuerno uterino ipsilateral al lado de la ovulación, y en el día 6 post-apareamiento el embrión entra en el útero.

2.1.11. Colección embrionaria:

La determinación de la hora exacta de la entrada del embrión al útero tiene un impacto en la tasa de colecta de embriones. La recolección de embriones en el útero tan pronto como sea posible (antes de la rápida expansión) podría mejorar la técnica de criopreservación. Además, el estudio del desarrollo embrionario y la migración embrionaria puede tener un impacto en la selección de la hembra receptora (sincronía con el donante) y la colocación de los embriones en el momento de la transferencia (izquierda vs derecha cuerno uterino).

Los mecanismos de control de origen embrionario en el cuerpo uterino de los camélidos todavía no se entienden. Es posible que la eclosión de la zona pelúcida necesite ocurrir dentro de la UUT con el fin de permitir el paso del embrión.

Se ha informado que los embriones de camélidos entran en la cavidad uterina aproximadamente 5-6 días de ovulación después de la eclosión o el estadio de blastocisto temprano (Tibary y Anouassi, 1996; Tibary, 2001b).

En llamas, Taylor et. al. (2000) informaron de las tasas de colección de embriones de 55%, 79% y 100% a los 7, 8 y 10 días post-apareamiento, respectivamente. En la colección, todos los embriones estaban en la fase de blastocito eclosionado.

La gran variación en la cronología del desarrollo del embrión y el momento de descenso en el cuerpo uterino puede ser debido a la variabilidad en el tiempo de la ovulación y otros factores que influyen en la velocidad de desarrollo, tales como el estado nutricional de la hembra o la calidad del embrión. En los programas comerciales de transferencia de embriones de alpaca, la colección de embriones se lleva a cabo en el día 7,5 después del apareamiento, pero la tasa de recuperación de embriones sigue siendo variable de 55-100 % (Sumar et. al., 2010). Además, los embriones recogidos en el mismo intervalo de apareamiento tienen diferentes tamaños y son generalmente más grandes que 300 micras. En la mayoría de los informes, la tasa de recogida de embriones disminuyó bruscamente cuando el lavado uterino se realiza antes de 7 días después del apareamiento. Por lo tanto, el momento de la ovulación debe ser considerado cuando se estudia la cronología y el tiempo de descenso de embriones en el útero de alpaca, obteniendo de este modo la tasa de recogida más alta de embriones viables adecuados para la transferencia de embriones.

Picha et. al. (2013c) confirma las observaciones anteriores que la recogida de los blastocistos de la cavidad uterina es posible desde los 6 días después de la ovulación (7.5 días después de la monta).

En un estudio retrospectivo de una gran cantidad de recogida de embriones ($n=938$) en un programa de transferencia de embriones en Chile, la tasa de recogida a los 7-8 días después de la monta fueron 66,5% y 68,9% para las alpacas y llamas, respectivamente. (Von Baer et. al., 2000).

En alpacas, (Picha et. al., 2010), los embriones ($n=650$) colectados en el día 7 y 4 horas después del apareamiento y transferidos no quirúrgicamente en el cuerno uterino izquierdo, independientemente de la ubicación del CL, resultó en una tasa de preñez del 20,3% y 12,4% con la ovulación en el ovario izquierdo y derecho (CL), respectivamente.

Para la tasa máxima de preñez en las receptoras, un estudio reciente realizado por Picha et. al. (2013c) recomienda la transferencia de embriones a los 7.5 días en el cuerno uterino ipsilateral al lado de la ovulación, sin embargo se necesitan más estudios con el fin de determinar el efecto de lado de transferencia en las tasas de preñez.

2.2. Antecedentes de investigación.

- En un estudio se comparó la respuesta ovulatoria a la estimulación con PMSG aplicada en fase folicular versus fase luteal inducida, en alpacas. El estudio se realizó en la estación experimental del IVITA "La Raya"-Cusco, durante los meses de Marzo-Abril de 1996. Se usaron 15 alpacas Huacaya, vacías, entre 2-11 años de edad, que fueron divididas en tres grupos iguales, los que recibieron al azar los siguientes tratamientos: T₁ (testigo): día 0, 2 ml de agua destilada; T₂ (fase folicular): día 0, 1000 UI PMSG; día 6, 1000 UI hCG; T₃ (fase luteal inducida): día 7, aplicación vaginal de Progesterona (CIDR); día 0, 1000 UI PMSG; día 2, retiro del dispositivo CIDR; día 6, 1000 UI hCG. La respuesta ovulatoria fue medida verificando el número de cuerpos lúteos (CL) mediante laparatomía. El número y tamaño de los cuerpos lúteos formados en T₃ (17,8±8,3 CL) fueron mayores ($P < 0,05$) a los registrados en T₂ (8,2±2,3 CL), sin embargo la respuesta ovárica fue excesiva, particularmente en el tratamiento en fase progestacional, lo que determinó que el ovario quede atrapado en la bolsa ovárica. (*Velásquez y Novoa, 1999*).
- En este estudio se emplearon un total de 85 alpacas adultas con edades comprendidas entre los 4-8 años pertenecientes al Centro de Investigación y Producción Quimsachata del Instituto Nacional de Investigación Agraria, Puno Perú, encontrándose todas ellas en buen estado nutricional y sanitario. En alpacas no lactantes utilizando una dosis de 750 UI vía IM. Un porcentaje importante de las hembras tratadas desarrollaron folículos quísticos. El lavado del útero a los 7 días de la cópula recuperó 3.75±0.62 embriones de un total de 4 alpacas superovuladas, y se obtuvo una tasa de recuperación baja (41,1%). La mayor parte de los embriones recuperados fueron blastocistos eclosionados y pocos fueron mórulas. (*Huanca, 2008*).

- El experimento fue realizado entre los meses de Enero-Mayo, en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, de la Universidad Nacional del Altiplano, situado en la región Puno (3974 msnm). Se utilizaron 9 alpacas hembras de la raza Suri entre 4-6 años de edad, con un peso promedio de 60 Kg; tuvieron una cría en la última época reproductiva. Se realizó la evaluación ecográfica para determinar la presencia de un folículo $\geq 7\text{mm}$, iniciando la sincronización de la onda folicular con 1 ml de GnRH, para la inducción de la ovulación; el día 2 se administró 400UI y 500UI de eCG vía I.M., para el T1 y T2 respectivamente y para el grupo T3 control se le aplicó suero fisiológico. Para el día 7 se aplicó 1 ml de Lutaprost®, I.M., el día 8 se realizó la monta controlada más la aplicación de 1 ml de Fertagyl® i.m; la recuperación de embriones se obtuvo a través del lavado uterino transcervical 6 días pos monta, se lavó cada cuerno con 30-50 ml de solución de lavado la cual estuvo en base a PBS más el 10% de suero fetal bovino. (Ancco y Olivera, 2013)

Se obtuvieron los siguientes resultados:

	T1	T2	CONTROL
Nº total de folículos (X±DS)	5.83±2.04 ^a	4.33±1.51 ^a	1±0.00 ^b
Nº cuerpos lúteos (X±DS)	4.83±2.48 ^a	3.60±1.14 ^a	1±0.00 ^b
Nº Embriones recuperados (X±DS)	2.4±1.14 ^a	1±0.00 ^b	1±0.00 ^b
% Embriones recuperados	60%	20.71 %	20.71 %

Valores son medias \pm desviaciones estándar.

Letras con superíndice diferente en filas (a, b), indica diferencias significativas ($P < 0.05$).

Fuente: Ancco y Olivera (2013)

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Materiales.

3.1.1. Localización del trabajo.

A). Localización espacial.

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma, en el hato alpaquero privado “Tres estancias”

Región Geográfica: Sierra

Departamento/Región: Arequipa

Provincia: Caylloma

Distrito: Sibayo

Localidad: Sibayo

Coordenadas: UTM 8 286 342 S 236 384 E

Altitud: 3 200 – 5 200 m.s.n.m

Fuente: Senamhi-2011

B). Localización temporal.

El período de experimentación, tabulación y análisis de los datos de la presente investigación, comprendió los meses de Julio a Setiembre 2015.

3.1.2. Material biológico.

Los tratamientos se realizaron en 36 alpacas.

3.1.3. Material farmacológico.

- Dormixyl® (xilazina clorhidrato) – Agrovvetmarket.
- Folligon® (eCG) – Intervet.
- Chorulon® (hCG) – Intervet.

- Conceptal ® (GnRH) – Intervet.
- Flunidrog ® (Flunixin meglumina) – Ganavet.
- Lutaprost ® (PF2 α) – Agrovvetmarket.

3.1.4. Material de laboratorio.

MEDIOS:

- Medio de lavado (Emcare Complete Ultra Flush Medium)
- Medio de mantenimiento (SYNGRO Holding Media)

MATERIALES PARA COLECCIÓN DE EMBRIONES

- Pinza hemostática.
- Sonda Foley de 2 vías (18" long-22fr 30cc).
- Estilete (25" long, large diameter for 16fr or larger).
- Filtro (EmCon Filter).
- Vaso de precipitado (250ml).
- Mangueras conectoras en "Y" (Agtech Rapid-Flow Y-tubing).
- Placa Petri reticulada.
- Placa de búsqueda (90x15mm).
- Placa de evaluación.
- Catéter para aspirar embriones.
- Jeringas desechables de 1, 5, 20 y 60 ml.

3.1.5. Material de campo.

- Sogas de sujeción.
- Cuaderno de campo.
- Lápiz y borrador.
- Mameluco.

- Guantes obstétricos.
- Guantes quirúrgicos.
- Jabón y antiséptico.
- Botas.
- Collares con número de identificación de las hembras tratadas.

3.1.6. Equipo y maquinaria.

- Ultrasonógrafo SonoScape A6/A5V Ultrasonido portátil
- Transductor L745/7.5 MHz/ lineal
- Gel ecográfico.
- Estereoscopio.
- Termoplatina.

3.1.7. Materiales digitales.

- Fichas de campo individual para los animales examinados
- Cámara fotográfica

3.2. Métodos.

3.2.1. Muestreo.

A). Universo.

Se consideró que un hato alpaquero de la zona de Sibayo – Caylloma, conformado por 200 hembras en edad reproductiva, lo cual es una realidad en el hato alpaquero en estudio; se consideró el 18% de esta población en el estudio experimental, esto representó 36 alpacas hembras en edad reproductiva del hato, considerando esta cantidad representativa de validez al estudio en términos estadísticos.

B). Tamaño de la muestra.

Un total de 36 alpacas hembras en edad reproductiva fueron seleccionadas para el estudio. Doce hembras por grupo experimental.

C). Procedimiento de muestreo.

Todas las hembras tuvieron entre 3-6 años de edad ($\bar{x}=5$ años) y una cría en el año previo. El criterio de selección animal para inclusión en este estudio fue una buena salud en general, sin desordenes reproductivos previos, animales que no se encuentren en etapa de lactación, y una condición corporal entre 3-3.5 (1-muy delgada, 5-obesa). Alimentación ad libitum.

3.2.2. Formación de unidades experimentales de estudio:

De un total de 36 hembras. Se asignó 12 hembras a cada grupo experimental: Grupo A (n=12), Grupo B (n=12), Grupo C (n=12).

3.2.3. Métodos de evaluación.**A). Metodología de la experimentación.****• MANEJO DE LA SUPERESTIMULACIÓN OVÁRICA:**

Todas las hembras fueron examinadas por palpación transrectal para determinar alguna anomalía en el tracto reproductivo, verificar el tono y edema uterino.

• PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ESTUDIO

Los protocolos en experimentación fueron diseñados para el presente estudio considerando los fundamentos fisiológicos más importantes de todo protocolo de superovulación usado en camélidos sudamericanos domésticos.

PROTOCOLO A:

En el experimento A, 12 alpacas hembras. Al Día 0, se monitoreo por ultrasonografía transrectal y se identificó folículo dominante ≥ 10 mm de diámetro

y se procedió a reventar el folículo por palpación transrectal manualmente. El mismo día, las hembras fueron tratadas con 500 UI de eCG por vía IM. La dosis se dividió en dos aplicaciones, una en la mañana y otra en la tarde. Se realizó ecografía al día 2 y 3; y se monitoreo el crecimiento folicular. Al día 5, se monitorearon los ovarios con ecografía y se aplicó 1000 UI de hCG por vía IM, la dosis se dividió en dos aplicaciones con un servicio con macho entero fértil en la mañana y otro por la tarde. Cinco días después, se monitorearán los ovarios para la identificación de ovulación y conteo de CL's. El lavado uterino se realizó a los 7.5 días después de la inducción de ovulación y monta. Y finalmente se procedió a la colección de embriones con el uso del método no quirúrgico. (Tabla 1).

Tabla 1: Protocolo A

DIAS	TRATAMIENTOS
0	Ecografía: folículo ≥ 10 mm (reventar folículo) 500 UI eCG (2.5 ml IM - aplicar en dos dosis, AM y PM.)
1	
2	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
3	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
4	
5	AM: Ecografía / LH (hCG) 500 UI (1 ml) + Monta PM: (hCG) 500 UI (1 ml) + Monta
6	
7	
8	
9	
10	Ecografía para identificación de CL's – ovulación
11	
12	Lavado uterino para colección de embriones

Fuente: Ancco y Olivera, 2013; modificado por Elguera, 2015.

PROCOLO B:

En el experimento B, 12 alpacas hembras, al día -1, los ovarios fueron monitoreados para la identificación de folículos maduros ≥ 8 mm de diámetro, y luego se aplicó 500 UI eCG por vía IM. La dosis se dividió en dos aplicaciones, una en la mañana y otra en la tarde. Se realizó ecografía al día 2 y 3; y se monitoreo el crecimiento folicular. Al día 5, se monitorearon los ovarios con ecografía y se aplicó GnRH por vía IM junto con monta en el momento del tratamiento y se repitió la monta a las 12 horas posteriores a la primera monta. Cinco días después, se monitorearon los ovarios para la identificación de ovulación y conteo de CL's. El lavado uterino se realizó a los 7.5 días después de la inducción de ovulación y monta. Y finalmente se procedió a la colección de embriones con el uso del método no quirúrgico. (Tabla 2).

Tabla 2: Protocolo B

DIAS	TRATAMIENTOS
-1	Ecografía: folículo ≥ 8 mm / 500 UI eCG (2.5 ml IM dosis dividida en AM y PM)
0	Ecografía: folículo ≥ 9 mm / 500 UI eCG (2.5 ml IM dosis dividida en AM y PM)
1	
2	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
3	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
4	
5	AM: Ecografía CL + 2.5 ml GnRH IM + Monta PM: Monta
6	
7	
8	
9	
10	Ecografía para identificación de CL's – ovulación
11	
12	Lavado uterino para colección de embriones

Fuente: Ancco y Olivera, 2013; modificado por Elguera, 2015.

PROCOLO C:

En el experimento C, 12 alpacas hembras. Al Día 0, se monitoreo por ultrasonografía transrectal y se identificó folículos ≤ 4 mm de diámetro con ausencia de folículo dominante. El mismo día se aplicó 200 UI de eCG por vía IM. La dosis se dividió en dos aplicaciones, una en la mañana y otra en la tarde. Se realizó ecografía al día 2 y 3; y se monitoreo el crecimiento folicular. Al día 5, se monitorearon los ovarios con ecografía y se aplicó LH (hCG) 1000 UI por vía IM., la dosis se dividió en dos aplicaciones con un servicio con macho entero fértil en la mañana y otro por la tarde. Cinco días después, se monitorearon los ovarios para la identificación de ovulación y conteo de CL's. El lavado uterino se realizó a los 7.5 días después de la inducción de ovulación y monta. Y finalmente se procedió a la colección de embriones con el uso del método no quirúrgico. (Tabla3).

Tabla 3: Protocolo C

DIAS	TRATAMIENTOS
0	Ecografía: folículo ≤ 4 mm 200 UI eCG (1 ml IM - aplicar en dos dosis, AM y PM.)
1	
2	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
3	Ecografía para monitorear crecimiento folicular
4	
5	AM: Ecografía / LH (hCG) 500 UI (1 ml) + Monta PM: (hCG) 500 UI (1 ml) + Monta
6	
7	
8	
9	
10	Ecografía para identificación de CL's – ovulación
11	
12	Lavado uterino para colección de embriones

Fuente: Ancco y Olivera, 2013; modificado por Elguera, 2015.

• TÉCNICA DE COLECCIÓN DE EMBRIONES

La colección se realizó en posición decúbito esternal. Se procedió a sedar el animal y luego la cola fue fijada a la parte dorsal de la fibra utilizando clips de pinza hemostática para minimizar la contaminación de la vulva. Para la manipulación transrectal del tracto reproductivo durante la recolección de embriones en alpacas se recomiendan guantes de examen de látex suaves con grandes cantidades de lubricante. Se introdujo la mano en el recto, el operador giró suavemente su mano durante el paso a través del esfínter anal. Después de la evacuación del contenido del recto y se ubicó el cuello del útero y los cuernos uterinos, se retiró la mano y el área perineal se lavó con agua y jabón; y la vulva se limpió con un antiséptico y se secó. Se procedió a introducir la sonda Foley con su estilete asépticamente en la vagina con la ayuda de un asistente que abrió los labios vulvares. La sonda se dirigió hacia el dorso de la vagina, una vez que el catéter se encontró dentro de la vagina, el operador colocó la mano prelubricada en el recto y guió la sonda a través del cuello uterino y la sostuvo suavemente entre dos dedos y luego lo empujó cranealmente lo que permitió que el catéter se aproxime al orificio cervical. El estilete se retiró ligeramente de modo que la punta quedo caudal al globo de la sonda Foley. El globo se infló con 5 ml de medio de lavado uterino y se fijó la sonda dentro del cuerpo del útero. Se retiró el estilete y las mangueras conectoras en “Y” estaban unidas a la sonda Foley con un extremo a una bolsa de medio de lavado caliente (37 °C), y el extremo de retorno estuvo conectado a un filtro de colección de embriones. El útero se llenó con medio de lavado (60 ml) a continuación, el extremo de retorno se abrió para recuperar el fluido en el filtro. Este procedimiento se repitió 3 ó 4

veces. Fue importante permitir que el líquido de lavado permanezca en el útero 30-60 segundos antes de ser recuperado. Cada lavado consistió en un masaje suave de los cuernos uterinos para evacuar el líquido. Al final del lavado uterino, el globo se desinfló, se retiró el catéter, y su contenido se lavó cuidadosamente en el filtro. Una vez que el lavado uterino fue completado, la hembra recibió una dosis de prostaglandina luteolytic para inducir luteólisis y evitar cualquier posibilidad de preñez en caso de que no se haya recuperado algún embrión. (Sumar, 2013).

• **EVALUACIÓN DE EMBRIONES**

El contenido del filtro se vertió en una placa de Petri, el filtro se enjuagó con medio de lavado utilizando una jeringa. Los embriones se evaluarán usando un estereoscopio, una vez identificado el embrión se procedió a aspirarlo con un catéter para aspirar embriones (se tuvo cuidado de aspirar una pequeña cantidad de medio antes de contactar con el embrión para minimizar la adherencia y el contacto con el aire), se colocara en la placa de búsqueda, luego se pasó a la placa de enjuague y finalmente se observó en la placa de evaluación.

Es importante que durante todas las operaciones de laboratorio, la temperatura se mantenga a un nivel confortable y que el laboratorio esté libre de polvo. Todos los medios a utilizar deben ser pre-calentados y esterilizados. La transferencia del medio debe hacerse con jeringas de plástico herméticas (sin embolo de caucho). (Picha y Sumar; 2013b).

3.2.4. Variables de respuesta.

A). Variables dependientes.

- Formación de folículos.
- Ovulación.
- Embriones colectados.

B). Variables independientes.

- Tratamiento hormonal.

C). Evaluación estadística.

Se desarrolló mediante la prueba de análisis de varianza de una vía (ANOVA) y Tukey para analizar el efecto de los protocolos “A”, “B” y “C” en las siguientes variables: número de cuerpos lúteos, número de folículos quísticos y número de embriones colectados. Los valores se expresaran como medias \pm error estándar y se considerará las diferencias estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$.

Se determinó la tasa de recuperación embrionaria de los protocolos “A”, “B” y “C” al dividir el número de embriones colectados entre el número de cuerpos lúteos observados a la ecografía. (Calzada, 1984).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION:

4.1. Resultados:

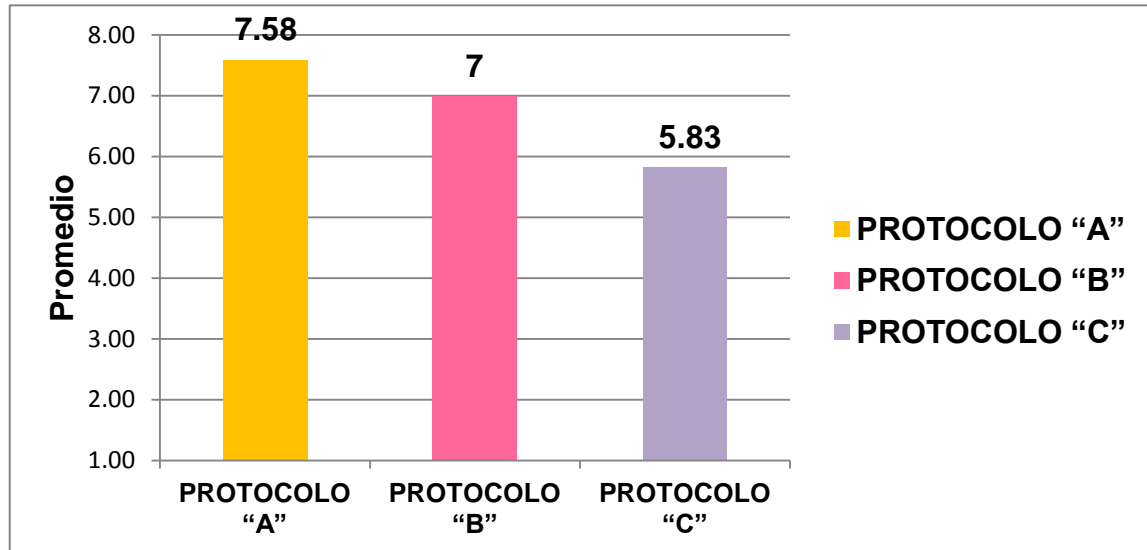
CUADRO N° 01: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN TOTAL DE FOLÍCULOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

NÚMERO DE ANIMALES	PROTOCOLO "A"	PROTOCOLO "B"	PROTOCOLO "C"	
1	5	5	3	
2	9	9	5	
3	6	7	7	
4	5	11	7	
5	10	6	8	
6	11	4	5	
7	8	9	7	
8	5	9	6	
9	11	4	5	
10	5	10	4	
11	10	5	6	
12	6	5	7	TOTAL
TOTAL	91	84	70	245
PROMEDIO	7.58 ^a	7.00 ^a	5.83 ^a	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	2.50	2.49	1.47	
S.E.M.	0.72	0.72	0.42	

Letras con superíndice diferente en filas (a, b), indica diferencias significativas ($P < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 01: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN TOTAL DE FOLÍCULOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 01 y gráfico N° 01 muestra el número total de folículos superestimulados de los cuales se obtuvo la mejor respuesta en el protocolo "A" (7.58 ± 0.72) en el cual trabajamos con 500 UI de eCG lo que dio un mayor desarrollo folicular en comparación del protocolo "B" en el que se utilizó 100 UI de eCG lo que nos dio como resultado (7.00 ± 0.72) y finalmente el protocolo "C" donde se utilizó 200 UI de eCG lo que nos dio el menor número de folículos formados (5.83 ± 0.42). Esto se puede deber ya que la eCG entre sus propiedades se comporta haciendo desarrollar el crecimiento de los diferentes folículos estimulados ya que tiene una función análoga a la hormona foliculoestimulante, con los resultados obtenidos podemos comprobar que se utilizó una dosis adecuada ya que se obtuvo una buena respuesta.

El análisis estadístico del cuadro N°01 nos muestra que no existe diferencias significativas entre los promedios de los 3 protocolos para el número total de folículos superestimulados, los mismos que tienen un comportamiento similar entre sí. ($p > 0.05$). Ancco y Olivera (2013) reportan el uso de 400 y 500 UI eCG a través del lavado uterino obteniendo 5.83 ± 2.04 y 4.33 ± 1.51 en promedio de total de folículos formados, respectivamente, no se encontraron diferencias estadísticas ($P < ,05$).

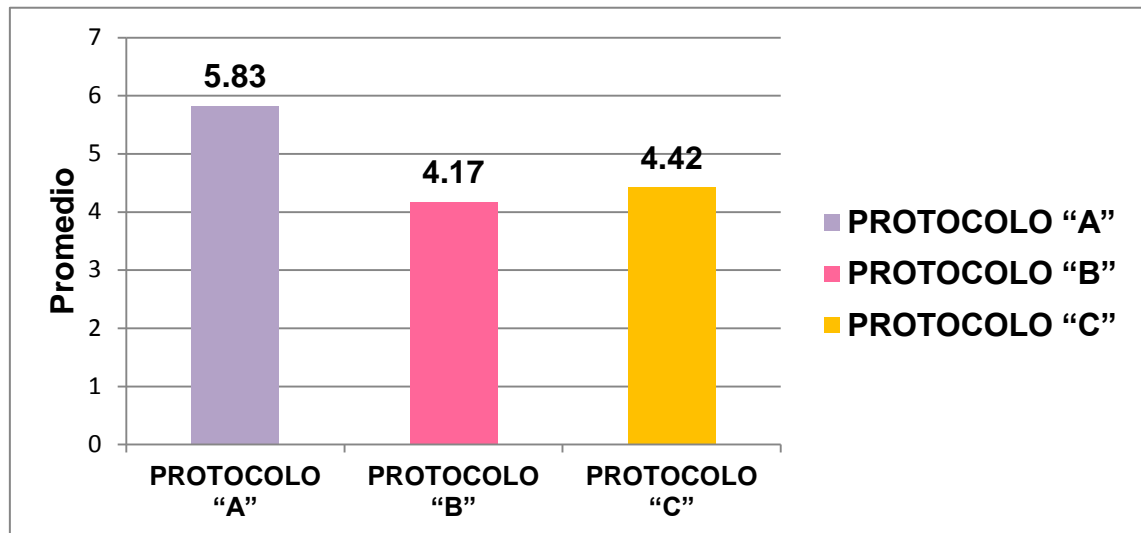
CUADRO N° 02: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE CUERPOS LÚTEOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

NÚMERO DE ANIMALES	PROTOCOLO "A"	PROTOCOLO "B"	PROTOCOLO "C"	
1	2	3	1	
2	6	6	4	
3	4	5	6	
4	4	9	5	
5	9	1	7	
6	10	2	4	
7	6	6	6	
8	2	5	5	
9	10	2	4	
10	4	8	1	
11	9	2	5	
12	4	1	5	TOTAL
TOTAL	70	50	53	173
PROMEDIO	5.83 ^a	4.17 ^a	4.42 ^a	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	2.98	2.72	1.83	
S.E.M.	0.90	0.82	0.55	

Letras con superíndice diferente en filas (a, b), indica diferencias significativas (P < 0.05).

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 02: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE CUERPOS LÚTEOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 02 y gráfico N° 02 muestra el número de cuerpos lúteos de los cuales el protocolo "A" (5.83 ± 0.90) obtuvo mejor resultado ya que trabajamos con 1000 UI de hCG, seguida del protocolo "C" (4.42 ± 0.55) que se trabajó con 2,5 ml de GnRH y por último el protocolo "B" (4.17 ± 0.82) en el que se utilizó 1000 UI de hCG todos acompañados de monta para la ovulación ya que los camélidos se comportan como ovuladores inducidos. Estas hormonas tienen función LH y ayudan a la ovulación.

El análisis estadístico del cuadro N°02 nos muestra que no existe diferencias significativas entre los promedios de los 3 protocolos para el número de cuerpos lúteos, los mismos que tienen un comportamiento similar entre sí. ($p > 0.05$)

Velásquez y Novoa (1999) reportan el uso de 1000 UI eCG con 1000 UI hCG, tanto en fase folicular como progestacional inducida, obteniendo 8.2 ± 2.3 y 17.8 ± 8.3 cuerpos lúteos, respectivamente. Esta diferencia fue significativa ($P < 0.05$).

Ancco y Olivera (2013) reportan el uso de 400 y 500 UI eCG obteniendo 4.83 ± 2.48 y 3.60 ± 1.14 en promedio de cuerpos lúteos, respectivamente, sin diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

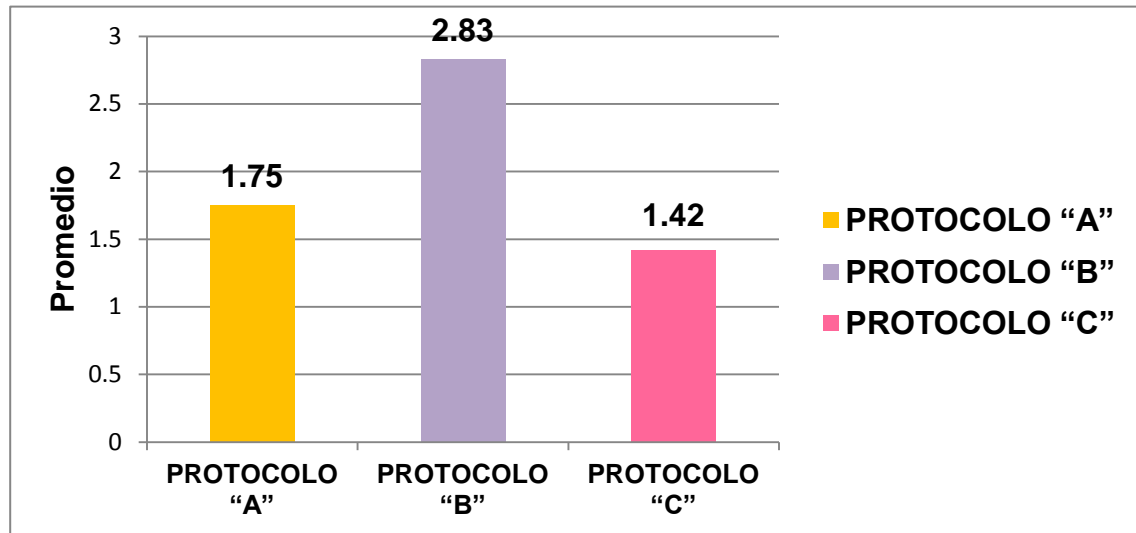
CUADRO N° 03: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE QUISTES FOLICULARES COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

NÚMERO DE ANIMALES	PROTOCOLO "A"	PROTOCOLO "B"	PROTOCOLO "C"	
1	3	2	2	
2	3	3	1	
3	2	2	1	
4	1	2	2	
5	1	5	1	
6	1	2	1	
7	2	3	1	
8	3	4	1	
9	1	2	1	
10	1	2	3	
11	1	3	1	
12	2	4	2	TOTAL
TOTAL	21	34	17	72
PROMEDIO	1.75 ^b	2.83 ^a	1.42 ^b	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0.87	1.03	0.67	
S.E.M.	0.26	0.31	0.20	

Letras con superíndice diferente en filas (a, b), indica diferencias significativas (P < 0.05).

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 03: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE QUISTES FOLICULARES COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 03 y gráfico N° 03 muestra el número de quistes foliculares los cuales presentan promedios diferentes, los resultados obtenidos son: para el protocolo "A" (1.75 ± 0.26), para el protocolo "B" (2.83 ± 0.31) y para el protocolo "C" (1.42 ± 0.20). Los quistes foliculares son estructuras ováricas que no responden al proceso normal de ovulación, los cuales se forman generalmente por pulsos de LH lo que nos hace suponer en aquellos tratamientos en los cuales se obtiene mayor número de quistes foliculares (protocolo "B") probablemente hubo mucha influencia de hormona FSH y los niveles de hormona análoga de LH son insuficientes.

El análisis estadístico del cuadro N° 03 nos muestra que existen diferencias significativas entre los promedios de los 3 protocolos para el número de folículos quísticos ($p < 0.05$)

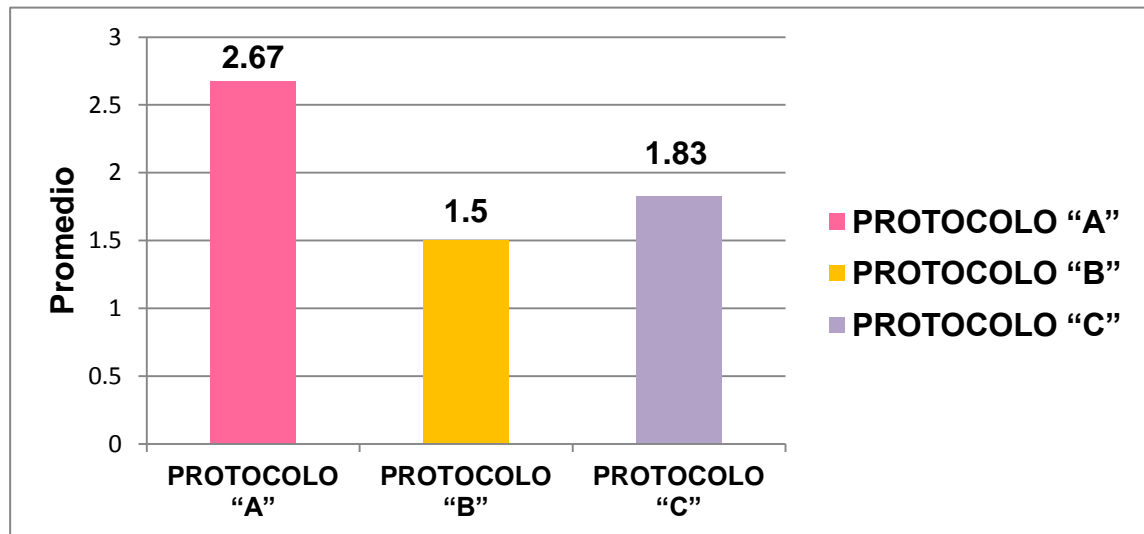
CUADRO N° 04: EVALUACIÓN DE EMBRIONES RECOLECTADOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

NÚMERO DE ANIMALES	PROTOCOLO "A"	PROTOCOLO "B"	PROTOCOLO "C"	
1	1	1	1	
2	4	2	2	
3	2	1	3	
4	2	2	2	
5	3	1	1	
6	5	1	1	
7	4	3	3	
8	1	2	1	
9	5	1	3	
10	2	2	1	
11	1	1	1	
12	2	1	3	TOTAL
TOTAL	32	18	22	72
PROMEDIO	2.67 ^a	1.50 ^b	1.83 ^{ab}	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	1.50	0.67	0.94	
S.E.M.	0.45	0.20	0.28	

Letras con superíndice diferente en filas (a, b), indica diferencias significativas ($P < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 04: EVALUACIÓN DE EMBRIONES RECOLECTADOS COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 04 y gráfico N° 04 muestra el número de embriones de acuerdo a los datos obtenidos y al manejo hormonal en cada protocolo hemos podido desarrollar las secuencias fisiológicas y endocrinológicas normal pero con la consecuente superestimulación ovárica la cual nos dió como resultado la superovulación y consecuente fertilización de la mayor parte de óvulos para la obtención de embriones los cuales varían en cuanto a su cantidad donde obtuvimos promedios diferentes, para el protocolo "A" (2.67 ± 0.45), para el protocolo "B" (1.5 ± 0.20) y para el protocolo "C" (1.83 ± 0.28).; haciéndonos llegar a resultados más adecuados en el protocolo "A" el cual desde el punto de vista de manejo, estimulación ovárica, desarrollo ovárico, adecuada formación de ondas foliculares, ovulación, menor número de quistes foliculares fue el mejor en comparación con los otros dos tratamientos, lo cual podemos evidenciar con la recuperación del mayor número de embriones lo que finalmente da lugar a que la combinación hormonal y el tiempo de administración de los mismo fue mucho mejor comparado con los otros dos tratamientos.

El análisis estadístico del cuadro N°04 nos muestra que existen diferencias significativas entre los promedios de los 3 protocolos para el número de embriones ($p < 0.05$)

Huanca (2008) en un trabajo de superovulación en alpacas no lactantes utilizando una dosis de 750 UI eCG recuperó 3.75 ± 0.62 embriones, este resultado es superior al número promedio de embriones recuperados en nuestro estudio.

Ancco y Olivera (2013) reportan el uso de 400 y 500 UI eCG obteniendo 2.4 ± 1.14 y 1 ± 0.00 en promedio de embriones recuperados respectivamente, se encontraron diferencias significativas siendo superior el T1 ($P < 0.05$)

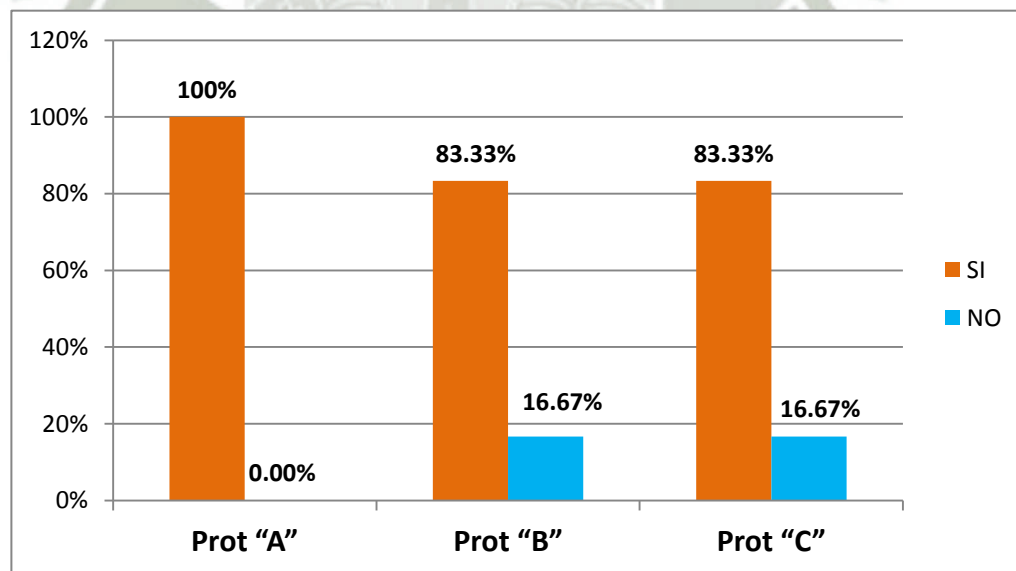


CUADRO N° 05: NÚMERO Y PORCENTAJE DE HEMBRAS QUE RESPONDEN AL TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

RESPUESTA AL TRATAMIENTO	SI		NO	
	Número de animales	%	Número de animales	%
PROTOCOLO "A" (n=12)	12	100%	0	0.00%
PROTOCOLO "B" (n=12)	10	83.33%	2	16.67%
PROTOCOLO "C" (n=12)	10	83.33%	2	16.67%

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 05: PORCENTAJE DE HEMBRAS QUE RESPONDEN AL TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 05 y gráfico N° 05 muestra la respuesta a los tres tratamientos superovulatorios, la estimulación ovárica con la consecuente formación de un gran número de folículos fue manejada fisiológica y endocrinológicamente mejor en el protocolo "A" donde se puede observar que de 12 alpacas que se sometieron al protocolo de superovulación las 12 alpacas respondieron al tratamiento representando el 100%; en comparación con los protocolos "B" y "C" se observa que de 12 alpacas que se sometieron a los protocolos de superovulación solo 10 alpacas respondieron al tratamiento representando el 83,33% y 2 alpacas no respondieron al tratamiento representado el 16.67%; lo que a futuro está totalmente casi correlacionado con el proceso multiovulatorio el cual lo podemos probar con la formación de los cuerpos lúteos en los distintos protocolos lo que nos hace suponer que el ciclo ovárico manejado hormonalmente se asemeja al de tipo natural con la diferencia del número de folículos, cuerpos lúteos y óvulos resultantes de este proceso. Se consideró como superovulación a la obtención de más de un cuerpo lúteo por hembra.

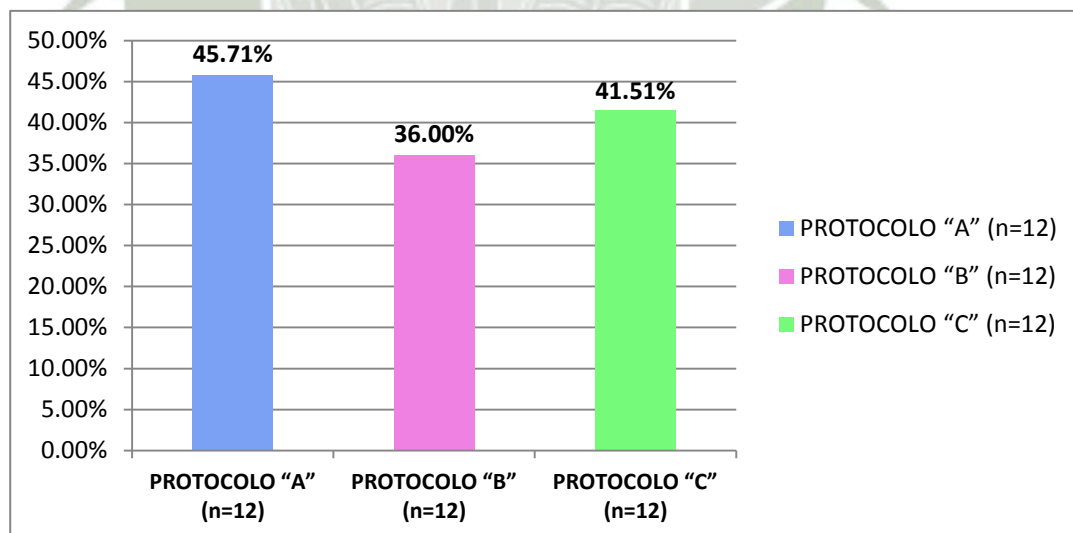
CUADRO N° 06: TASA DE RECUPERACIÓN EMBRIONARIA COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.

	PROTOCOLO "A" (n=12)	PROTOCOLO "B" (n=12)	PROTOCOLO "C" (n=12)
N° Cuerpos lúteos total	70	50	53
N° Embriones total	32	18	22
Tasa de recuperación embrionaria(1)	45.71%	36.00%	41.51%

(1) $(N^{\circ} \text{ embriones} / N^{\circ} \text{ cuerpos lúteos}) \times 100$

Fuente: Elaboración propia.

GRÁFICO N° 06: TASA DE RECUPERACIÓN EMBRIONARIA COMPARADA EN LOS TRES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, DISTRITO DE SIBAYO, PROVINCIA DE CAYLLOMA, AREQUIPA, 2015.



Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 06 y gráfico N° 06 muestra la tasa de recuperación embrionaria mostrando distintos porcentajes, los resultados obtenidos son: para el protocolo “A” (45.71%), para el protocolo “B” (36.00%) y para el protocolo “C” (41.51%). La tasa de recuperación embrionaria cuando se aplica en procesos de biotecnología reproductiva va estrechamente relacionada desde el punto de vista fisiológico y endocrinológicamente con la superestimulación ovárica, superovulación y la recuperación embrionaria. Es así que al existir una correlación entre ellas se obtendrá un mayor número de embriones cuanto mejor sea el protocolo de superestimulación ovárica empleado.

Huanca (2008) en un trabajo de superovulación en alpacas no lactantes utilizando 750 UI eCG a través de lavado uterino obtuvo una tasa de recuperación baja (41,1%).

Ancco y Olivera (2013) reportan el uso de 400 y 500 UI eCG a través de lavado uterino obtuvieron 60% y 20.71% en recuperación embrionaria, respectivamente.

V. CONCLUSIONES.

- De los tres protocolos ensayados para el proceso de superovulación con la consecuente recuperación de embriones, el protocolo "A" es el que nos dio mejores resultados obteniendo el mayor número de embriones colectados ("A"=32, "B"=18 y "C"=22); correspondiendo esto, con el mayor desarrollo folicular a comparación de los otros dos tratamientos ("A"=91,"B"=84 y "C"=70); asimismo en este tratamiento se obtuvo el mayor número de cuerpos lúteos ("A"=70, "B"=50 y "C"=53); sin embargo la formación de quistes foliculares fue menor al "C"=17 y mayor al "B"=34.
- Al aplicar el protocolo "A" (500UI eCG con 500 UI hCG) se obtuvo una cronología fisiológica reproductiva, que correspondía a un mayor desarrollo folicular ("A"=91), seguido de un alto grado de ovulación con la consecuente alta formación de cuerpos lúteos ("A"=70), con una moderada formación de quistes foliculares ("A"=21") lo que nos produjo una muy buena cantidad de embriones recolectados ("A"=32).
- En la aplicación del protocolo "B" (1000UI eCG con 2,5mlGnRH) se obtuvo una cronología fisiológica reproductiva, que correspondía a un moderado desarrollo folicular ("B"=84), seguido de un bajo grado de ovulación con la menor formación de cuerpos lúteos ("B"=50), sin embargo fue el que presentó mayor formación de quistes foliculares ("B"=34) lo que por consecuencia nos produjo la menor cantidad de embriones recolectados ("B"=18).
- Con la aplicación del protocolo "C" (200 UI eCG con 1000UI hCG) se obtuvo una cronología fisiológica reproductiva, que correspondía a un bajo desarrollo folicular ("C"=70), seguido de un moderado grado de ovulación con la consecuente formación de cuerpos lúteos ("C"=53), con una baja formación de quistes foliculares ("C"=17) lo que nos produjo una moderada cantidad de embriones recolectados ("C"=22).

- Con la aplicación los protocolos de superovulación la mejor respuesta ovulatoria se consiguió en el protocolo “A” (100%) lo que coincide con los mejores resultados en número de cuerpos lúteos, y obtención embrionaria en comparación con los tratamientos “B” y “C” en los que obtuvimos el 83,33% (10/12) de hembras que ovularon.
- A la colección de embriones a los 7.5 días post tratamiento se pudo obtener una tasa de recuperación embrionaria mayor en el Protocolo “A” (45.71%) siendo el protocolo de mayor colección, seguida del protocolo “C” en el que se obtuvo un 41.51% y por último en el protocolo “B” se obtuvo 36%.



VI. RECOMENDACIONES.

- Continuar evaluando protocolos de superovulación en alpacas y recuperación de embriones mediante lavado uterino para perfeccionar los existentes e identificar un protocolo de superovulación que produzca sistemáticamente un número aceptable de embriones de buena calidad, con un riesgo mínimo de la infertilidad de la hembra donante.
- Utilizar tratamientos superovulatorios que no produzcan una respuesta exagerada en la formación de CL's, así como evitar la formación de quistes foliculares, ya que estas estructuras en el ovario pueden tener un impacto negativo en la conservación del tejido ovárico, especialmente en hembras de alto valor genético.
- Se recomienda que el personal encargado del lavado y recuperación de embriones debe estar perfectamente capacitado para evitar el daño y optimizar la cantidad de embriones recuperados evitando problemas a futuro con las donadoras.

VII. BIBLIOGRAFIA.

1. Aba, M.A., Bravo, P.W., Forsberg, M., Kindahl, H. (1997), Endocrine changes during early pregnancy in the alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* 47:273-9.
2. Adams, G.P., Griffin, P.G., Ginther, O.J. (1989) In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol. Reprod.* 41:551-8.
3. Adams, G.P., Sumar, J., Ginther, O.J., (1990). Effects of lactational status and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 90: 535-45.
4. Ancco E. y Olivera L.V. (2013). Respuesta superovulatoria a dos dosis de eCG en alpacas suri en época de empadre. *Spermova* 2013; 3(1): 99-100.
5. Apichela, S, Jiménez-Díaz, M.A., Roldan-Olarte, M., Valz-Gianinet, J.N., Miceli, D.C. (2009). In vivo and in Vitro sperm interaction with oviductal epithelial cells of llama. *Reprod. Domest. Anim.* 44(6): 943–51.
6. Apichela, S.A., Valz-Gianinet, J.N., Schuster, S., Jiménez-Díaz, M.A., Roldán-Olarte, E.M., Miceli, D.C. (2010). Lectin binding patterns and carbohydrate mediation of sperm binding to llama oviductal cells in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 118 (2-4):344-53.
7. Apichela, S. (2011). Reservorios espermáticos en el oviducto de llama y avances en el estudio de los sistemas proteolíticos involucrados. *Asoc. Latinoamericana Produc. Ani.* Vol.19: (3-4): 55-57.
8. Bourke, D., Adam, C., Kyle, C., Young, P., Mc Evoy, T.G. (1992). Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: *Proceedings 12th International Congress on Animal Reproduction*, vol. 1, The Hague, Netherlands, pp. 193-5.
9. Bourke, D.A., Kyle, C.E., McEvoy, T.G., Young, P., Adam, C.L., (1995). Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology* 44 (2):255-68.
10. Bravo, P.W., Sumar, J. (1989). Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Ani. Reprod. Sci.* Vol. 21, (3-4): 271-81
11. Bravo, P.W., Moscoso, J., Ordoñez, C., Alarcon, V. (1996). Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* Vol. 43:173-9.
12. Bravo, P.W., Mayta, M.M., Ordoñez, C.A. (2000). Growth of the conceptus in alpacas; *American Journal of Veterinary Research.* Vol. 61 (12):1508-11.
13. Calzada, J. (1984). *Métodos Estadísticos para la investigación.* Lima. Perú.

14. Cárdenas, H., (1997). Desarrollo morfológico, transporte y supervivencia embrionaria en Alpacas. XX Reunión Científica Anual, Asociación Peruana de Producción Animal, Univ Nac Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.
15. Cosio, R. (2000). Morfología de los embriones de alpaca de la raza huacaya del tercer al décimo día de gestación temprana, Universidad Católica Santa María.
16. Fernández-Baca, S., Hansel, W., Novoa, C. (1970). Embryonic mortality in the alpaca. Biol. Reprod. 3: 243-51.
17. Hafez ESE y Hafez B (2002), Llamas y alpacas. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México. 519, 224-42.
18. Huanca W., Cárdenas, O., Olazábal, C., Ratto, M., Adams, G. (2001). Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev. Inve. Vet. Perú (Supl1):462-3.
19. Huanca, T. (2008). Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (FSH y eCG) en la respuesta ovárica y en la producción de embriones en alpacas (Vicugna pacos), (PhD Thesis). Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, España, 78.
20. Olivera, L., Zago, D., Jones, C., Bevilacqua, E. (2003). Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, Lamos pacos. Anat. Embryol.207(4-5):317-31.
21. Picha, Y., Sumar, J., Arellano, P., Torres, R., Rodríguez, C., Tibary, A. (2010). Effect of corpus luteum on pregnancy rate and location following embryo transfer in alpacas. Clinical Theriogenology, Vol. 2: 365.
22. Picha, Y., Sumar, J., Memon, M. (2013a). Fate of the Unfertilized Oocytes in Alpaca. Clini. Therioge.
23. Picha, Y y Sumar, J. (2013b). "Embryo Transfer in South American Camelids" In alpaca and Llama Medicine, Reproduction and Surgery Cebra, Tibary, Anderson, Van Saun and Johnson (Eds). Elsevier, Book chapter in press
24. Picha, Y, Tibary, A, Memon, M, Kasimanickam, R, Sumar, J. (2013c). Chronology of Early Embryonic Development and Uterine Migration in Alpacas. Theriogenology: 702-9.
25. Ratto, M.H., Silva, M.E., Huanca, W., Huanca, T., Adams, G.P., (2013). Induction of superovulation in South American camelids. Anim. Reprod. Sci. 136, 164-9.
26. San-Martín, M., Copaira, M., Zuñiga, R., Rodríguez, G., Bustinza, L., Acosta, L. (1968). Aspects of Reproduction in the Alpaca J. Reprod. Fert. 16: 395-9.

27. Sato A., Montoya L., Aparato reproductor de la alpaca (Lama pacos). Anatomía Macroscópica. Rev. De Camélidos Sudamericanos 7.univ. Nac. M. de San Marcos, Lima Perú, 1990
28. Skidmore, J.A., Adams, G.P., Billah, M. (2009). Synchronisation of ovarian follicular waves in dromedary camel (*Camelus dromedarius*) Anim. Reprod. Sci. 114 (1-3), 249-55.
29. Sumar, J. (1993). Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. Journal of Arid Environments. Volume 26 Issue 1: 39-45.
30. Sumar, J., Picha, Y., Tibary, A. (2010). Effect of the recipient lactation status on pregnancy rate following embryo transfer in alpacas. Official Journal of The Society for Theriogenology Vol. 2: 399.
31. Sumar, J. (2013). Embryo transfer in domestic South American camelids. Ani.Reprod.Sci.136:170-7.
32. Taylor, S., Taylor, P.J., James, A.N., Godke, R.A. (2000). Successful commercial embryo transfer in the llama (*Lama glama*). Theriogenology 53, 344.
33. Tibary, A. y Anouassi, A. (1996). Ultrasonographic changes of the reproductive tract in the female camel (*Camelus-Dromedarius*) during the follicular cycle and pregnancy. Journal of Camel Practice and Research 3 (2):71-90.
34. Tibary, A. (2001a). Semen preservation in camelids. Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, September 12-1, Vancouver, BC, Canada, pp 369-78.
35. Tibary, A. (2001b). Fertilization, embryo and fetal development in camelids. Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, September 12-15, Vancouver, BC, Canada, pp 387-96.
36. Trasorras, V.L., Chaves, M.G., Miragaya, M.H., Pinto, M., Rutter, B., Flores, M., Agüero, A., (2009). Effect of eCG superstimulation and busserelin in cumulus–oocyte complexes recovery and maturation in llamas (*Lama glama*). Reprod. Domest. Anim. 44 (3), 359–64.
37. Trasorras, V.L., Chaves, M.G., Carretero, M.I., Miragaya, M.H. (2012). Ovarian superovulation in South American Camelids. The ICAR Satellite Meeting on Camelid Reproduction page 95-9.

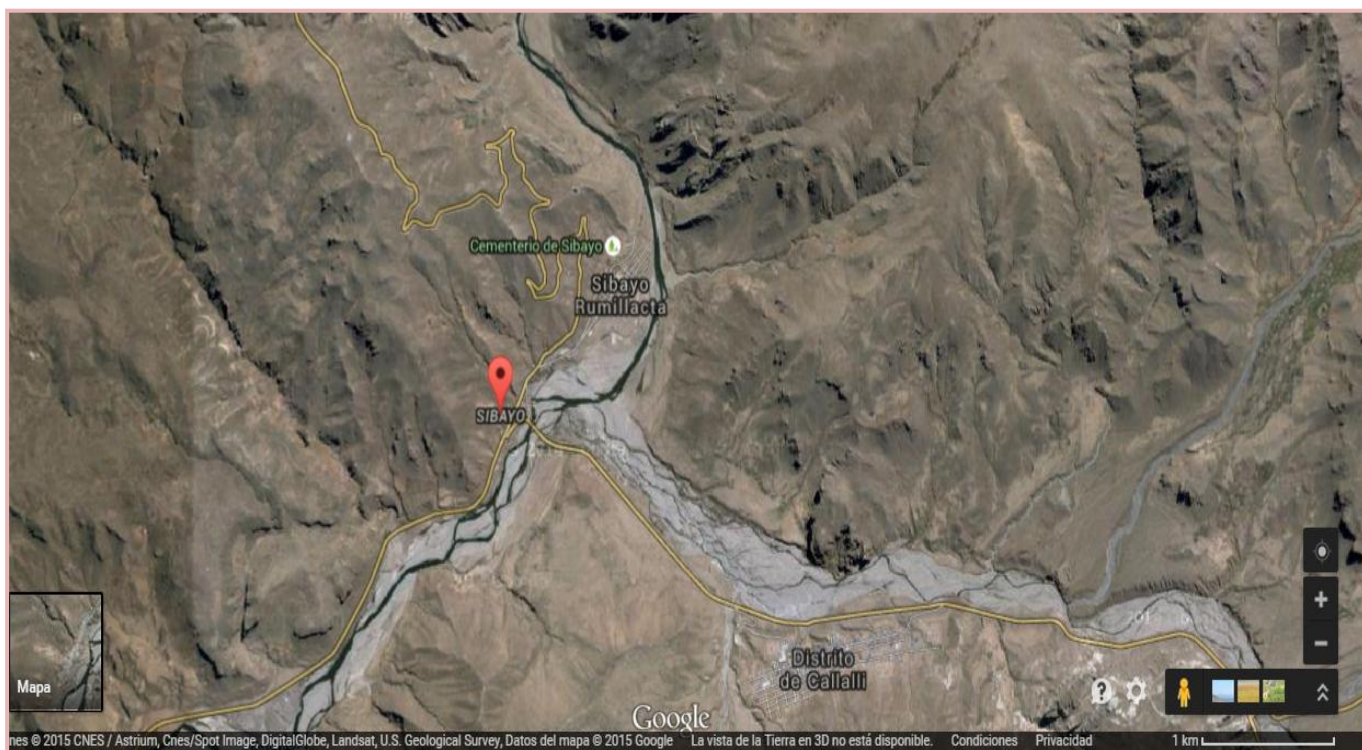
38. Van Niekerk, C.H., Gerneke, W.H. (1966). Persistence and parthenogenetic cleavage of tubal ova in the mare. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 33 (1):195-232.
39. Vaughan, J.L., D'Occhio, M.J., Macmillan, K.L. (2000). Ovarian follicular inter-wave intervals in alpacas. In: *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reprod*, Stockholm: P. 59.
40. Vaughan, J.L., Macmillan, K.L., Anderson, G.A., D'Occhio, M.J. (2003). Effects of mating behavior and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Australian Vet. Journal* 81:86-90.
41. Vaughan, J.L., Macmillan, K.L., D'Occhio, M.J. (2004). Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 80 (3-4): 353-61.
42. Vaughan, J. (2011). Ovarian function in South American camelids (alpacas, llamas, vicunas, guanacos) *Ani. Reprod. Sci.* 124:237-43.
43. Vaughan, J.L., Mihm, M., Wittek, T. (2013). Factors influencing embryo transfer success in alpacas – a retrospective study. *Anim. Reprod. Sci.*; 136(3):194-204.
44. Velásquez, C., Novoa, M.C. (1999). Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev. Invest. Vet. (Perú)* 10 (1), 234–238.
45. Von Baer, A., Von Baer, L., Donoso, M., Poblete, P., Miranda, H., Del Campo, M. (2000). Efecto de diferentes parámetros en llamas (*Lama glama*) y alpacas (*Lama pacos*) utilizadas en un programa de transferencia de embriones.



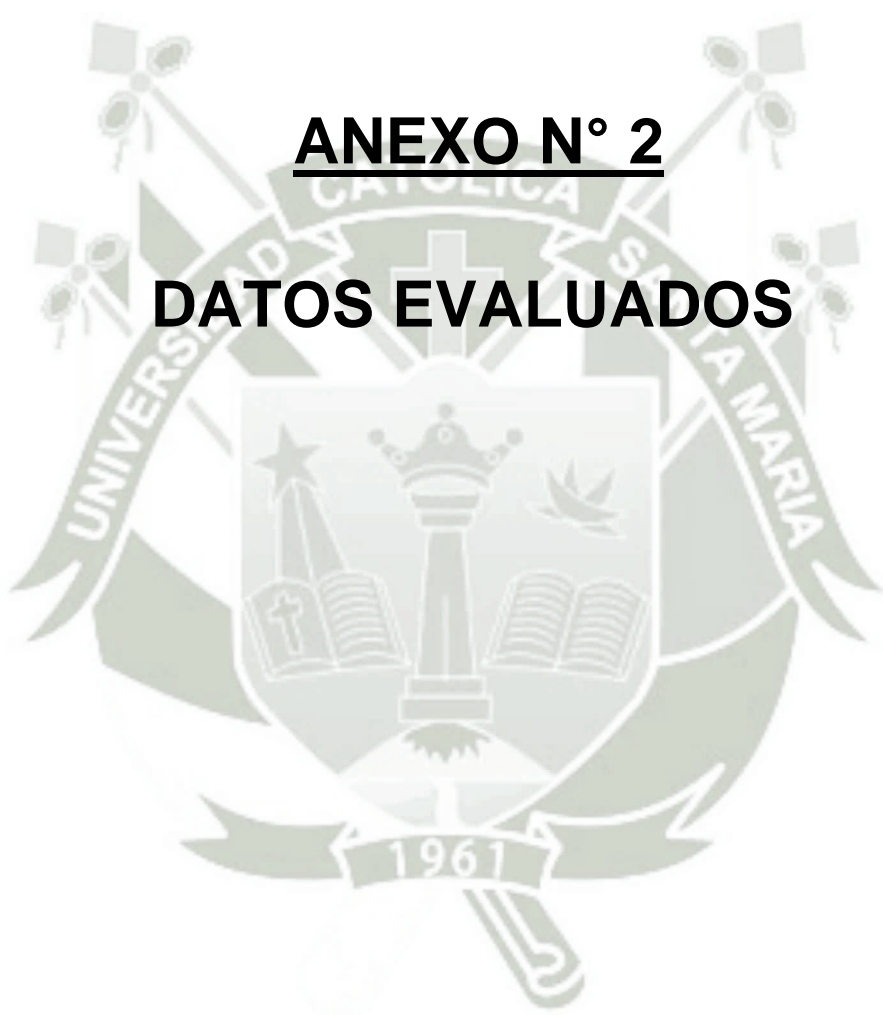
ANEXOS

ANEXO Nº 1

Mapa del Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma, Arequipa.



Fuente: google maps 2015



ANEXO N° 2
DATOS EVALUADOS

CUADRO N° 07

**PROTOCOLO A: EFECTO DE LA APLICACIÓN 500 UI eCG + 500 UI hCG EN LA
SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR (N° TOTAL DE FOLÍCULOS FORMADOS)**

N°	COLLAR	N° FOLÍCULOS (OVA. IZQ)	N° FOLÍCULOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	55	4	1	5
2	102	4	5	9
3	97	3	3	6
4	41	2	3	5
5	82	5	5	10
6	54	6	5	11
7	45	4	4	8
8	137	4	1	5
9	65	6	5	11
10	75	3	2	5
11	34	5	5	10
12	47	3	3	6
TOTAL		49	42	91
PROMEDIO		4.08	3.50	7.58

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 08

**PROTOCOLO B: EFECTO DE LA APLICACIÓN 1000 UI eCG + 2,5 ml GnRH EN LA
SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR (N° TOTAL DE FOLÍCULOS FORMADOS)**

N°	COLLAR	N° FOLÍCULOS (OVA. IZQ)	N° FOLÍCULOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	76	2	3	5
2	53	4	5	9
3	90	3	4	7
4	89	5	6	11
5	78	4	2	6
6	189	4	0	4
7	22	5	4	9
8	69	4	5	9
9	23	2	2	4
10	57	4	6	10
11	38	2	3	5
12	40	4	1	5
	TOTAL	43	41	84
	PROMEDIO	3.58	3.42	7.00

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 09

PROTOCOLO C: EFECTO DE LA APLICACIÓN 200 UI eCG + 1000 UI hCG EN LA SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR (N° TOTAL DE FOLÍCULOS FORMADOS)

N°	COLLAR	N° FOLÍCULOS (OVA. IZQ)	N° FOLÍCULOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	64	1	2	3
2	123	3	2	5
3	61	4	3	7
4	70	4	3	7
5	59	4	4	8
6	60	3	2	5
7	35	4	3	7
8	29	4	2	6
9	46	3	2	5
10	165	3	1	4
11	84	3	3	6
12	72	4	3	7
TOTAL		40	30	70
PROMEDIO		3.33	2.50	5.83

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 10

**PROTOCOLO A: CUERPOS LÚTEOS FORMADOS POR EFECTO DE LA APLICACIÓN
DE 500 UI eCG + 500 UI hCG EN LA SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. IZQ)	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	55	1	1	2
2	102	3	3	6
3	97	2	2	4
4	41	2	2	4
5	82	4	5	9
6	54	6	4	10
7	45	3	3	6
8	137	1	1	2
9	65	6	4	10
10	75	2	2	4
11	34	5	4	9
12	47	2	2	4
	TOTAL	37	33	70
	PROMEDIO	3.08	2.75	5.83

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 11

**PROTOCOLO B: CUERPOS LÚTEOS FORMADOS POR EFECTO DE LA APLICACIÓN
DE 1000 UI eCG + 2,5 ml GnRH EN LA SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. IZQ)	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	76	2	1	3
2	53	3	3	6
3	90	3	2	5
4	89	5	4	9
5	78	1	0	1
6	189	2	0	2
7	22	4	2	6
8	69	3	2	5
9	23	0	2	2
10	57	3	5	8
11	38	1	1	2
12	40	1	0	1
TOTAL		28	22	50
PROMEDIO		2.33	1.83	4.17

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 12

**PROTOCOLO C: CUERPOS LÚTEOS FORMADOS POR EFECTO DE LA APLICACIÓN
DE 200 UI eCG + 1000 UI hCG EN LA SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. IZQ)	N° CUERPOS LÚTEOS (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	64	1	0	1
2	123	3	1	4
3	61	3	3	6
4	70	3	2	5
5	59	4	3	7
6	60	3	1	4
7	35	3	3	6
8	29	4	1	5
9	46	3	1	4
10	165	1	0	1
11	84	3	2	5
12	72	3	2	5
TOTAL		34	19	53
PROMEDIO		2.83	1.58	4.42

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 13

**PROTOCOLO A: QUISTES FOLICULARES FORMADOS POR EFECTO DE LA
APLICACIÓN DE 500 UI eCG + 500 UI hCG EN LA SUPERESTIMULACIÓN FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. IZQ)	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	55	3	0	3
2	102	1	2	3
3	97	1	1	2
4	41	0	1	1
5	82	1	0	1
6	54	0	1	1
7	45	1	1	2
8	137	3	0	3
9	65	0	1	1
10	75	1	0	1
11	34	0	1	1
12	47	1	1	2
TOTAL		12	9	21
PROMEDIO		1.00	0.75	1.75

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 14

**PROTOCOLO B: QUISTES FOLICULARES FORMADOS POR EFECTO DE LA
APLICACIÓN DE 1000 UI eCG + 2,5 ml GnRH EN LA SUPERESTIMULACIÓN
FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. IZQ)	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	76	0	2	2
2	53	1	2	3
3	90	0	2	2
4	89	0	2	2
5	78	3	2	5
6	189	2	0	2
7	22	1	2	3
8	69	1	3	4
9	23	2	0	2
10	57	1	1	2
11	38	1	2	3
12	40	3	1	4
TOTAL		15	19	34
PROMEDIO		1.25	1.58	2.83

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 15

**PROTOCOLO C: QUISTES FOLICULARES FORMADOS POR EFECTO DE LA
APLICACIÓN DE 200 UI eCG + 1000 UI hCG EN LA SUPERESTIMULACIÓN
FOLICULAR**

N°	COLLAR	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. IZQ)	N° QUISTES FOLICULARES (OVA. DER.)	TOTAL / ALPACA
1	64	0	2	2
2	123	0	1	1
3	61	1	0	1
4	70	1	1	2
5	59	0	1	1
6	60	0	1	1
7	35	1	0	1
8	29	0	1	1
9	46	0	1	1
10	165	2	1	3
11	84	0	1	1
12	72	1	1	2
	TOTAL	6	11	17
	PROMEDIO	0.50	0.92	1.42

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 3

Análisis estadístico

- **Análisis de varianza (Total de folículos formados):**

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos (tto)	19.056	2	9.528	1.958	0.157 n.s	3.285
Dentro de los grupos (error experimental)	160.583	33	4.866			
Total	38	35				

Fuente: Elaboración propia.

- **Análisis de varianza (Cuerpos lúteos):**

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos (tto)	19.389	2	9.694	1.479	0.242 n.s.	3.285
Dentro de los grupos (error experimental)	216.250	33	6.553			
Total	235.639	35				

Fuente: Elaboración propia.

- Análisis de varianza (Quistes foliculares):**

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos (tto)	13.167	2	6.583	8.748	0.001* sig.	3.285
Dentro de los grupos (error experimental)	24.833	33	0.753			
Total	38	35				

Fuente: Elaboración propia.

Total de quistes foliculares - Prueba de Tuckey:

Tratamientos	Promedios	Significación
Protocolo B	2.83	a
Protocolo A	1.75	b
Protocolo C	1.42	b

ALST = 0.87

- Análisis de varianza (Embriones):**

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos (tto)	8.667	2	4.333	3.636	0.037* sig.	3.285
Dentro de los grupos (error experimental)	39.333	33	1.192			
Total	48	35				

Fuente: Elaboración propia.

Recuperación embrionaria - Prueba de Tuckey:

Tratamientos	Promedios	Significación
Protocolo A	2.67	a
Protocolo C	1.83	a b
Protocolo B	1.50	b

ALST = 1.1

ANEXO N° 4

DATOS TÉCNICOS DEL PRODUCTO FARMACÉUTICO

DORMI-XYL®

FORMULACIÓN:

Cada mL contiene:

Xilacina clorhidrato 20mg

Excipientes..c.s.p..... 1mL

GENERALIDADES:

Es un compuesto de acción tranquilizante, analgésica, sedativa y relajante en base a clorhidrato de xilazina. Su acción está relacionada con la depresión del sistema nervioso central.

FARMACODINAMIA - MODO DE ACCION:

Es un preparado para la tranquilización, analgesia, sedación y relajación muscular en varias especies animales. En el bovino se observan efectos que varían desde una tranquilización (dosis I) pasando por una sedación intensa con buena analgesia (dosis II), hasta un estado "similar a una narcosis" (dosis III y dosis IV). La diferencia en cuanto a la aplicación y efectos en el bovino y equino reside en que para el equino la dosis es más alta y el efecto analgésico es inferior que en el bovino. Información sobre su uso en animales menores puede ser encontrada más adelante.

FARMACOCINETICA:

Su efecto de relajante muscular se basa en la inhibición de la transmisión de impulsos nerviosos en el músculo, estimulando los receptores α_2 - adrenérgicos centrales.

- Tmax : 1.5 a 2.5 h.
- Distribución: Amplia. Se une a las proteínas plasmáticas en un 20%.
- Metabolismo: Vía hepática 50%.
- Excreción: Vía renal 40 - 60%; Vía fecal 20%. Se excreta también con la leche materna

La duración del efecto varía en la siguiente forma:

- Efecto sedante: 30 minutos hasta varias horas.
- Relajación muscular: 20 minutos hasta una hora y media.
- Efecto analgésico: 10 a 45 minutos.

A lo largo de la acción de Dormi-xyl, la frecuencia respiratoria disminuye, provocando un estado similar al sueño natural; en forma paralela disminuye también la actividad cardíaca, aumentando con frecuencia la temperatura durante un periodo breve. Después de su administración, Dormi-xyl provoca además un descenso moderado y transitorio de la presión arterial sistólica y diastólica, precedido por un leve ascenso de las mismas. Puede bloquear los reflejos vasomotores centrales, sin alterar los reflejos posturales. Disminuye levemente el gasto cardíaco, la actividad de renina plasmática y la liberación de catecolaminas. Dormi-xyl no influye sobre la coagulación sanguínea.

INDICACIONES:

Tranquilización y analgesia moderada: para intervenciones quirúrgicas menores, sobre todo en los pezones, manejo de animales indóciles. Con esta dosis no está asegurado que el animal se mantenga de pie, pero generalmente se puede levantar.

Sedación, analgesia, anestesia y relajación muscular intensa: para intervenciones muy dolorosas es conveniente además la anestesia por infiltración o regional; con esta dosis el animal casi nunca se puede mantener de pie. En el ganado bovino, ovino, caprino y camélidos sudamericanos se inyecta el medicamento por vía intramuscular solamente.

La acción se produce a los 5 minutos (vía intravenosa) y a los 5 - 15 minutos (vía intramuscular). Debido a que la acción del medicamento puede verse perjudicada por ruidos, hay que dejar a los animales tranquilos hasta que se manifieste plenamente la acción del medicamento.

Tanto en inyecciones subcutáneas como en aplicaciones dentro de tejido graso y conjuntivo, se retarda la absorción del medicamento, de tal manera que por su rápida eliminación, no siempre se alcanza a producir el efecto deseado cuando se aplica Dormi-xyl en estos tejidos.

ADVERTENCIAS:

Debido al efecto depresor sobre el sistema nervioso central, deben extremarse las precauciones en el caso de su utilización en animales con severa depresión respiratoria, insuficiencia cardíaca o estado de shock profundo. En animales mayores: no debe administrarse por vía intracarotídea y cuando se utilice la vía endovenosa extremar las precauciones para una aplicación por vía yugular.

Efectos depresivos adicionales pueden ocurrir con el uso de xilazina y barbitúricos; el uso de barbitúricos para anestésiar debe darse en dosis reducidas y ser administrado lentamente en la ruta intravenosa.

PRECAUCIONES:

- Precaución en afecciones pulmonares.
- Dejar al animal en ayuno antes de intervenciones prolongadas.
- Evitar ruidos y movimientos en el ambiente hasta la manifestación del efecto del medicamento.

EFFECTOS ADVERSOS:

A las dosis recomendadas pueden observarse ligeros temblores musculares, arritmia cardíaca, bradicardia con bloqueo parcial atrio-ventricular y disminución de la frecuencia respiratoria. Todos estos efectos se revierten espontáneamente luego de pasado el efecto de sedación. Se han observado además algunos casos leves de diarreas, desórdenes en la psicomotricidad y disminución de la producción láctea. De igual manera, en algunos casos, vómitos y poliuria en perros y gatos.

CONTRAINDICACIONES:

- Existen algunas menciones de que la xilazina puede inducir al parto prematuro o aborto. Por lo que no debería administrarse durante el último mes de preñez. En este período puede causar además la retención de membranas fetales.
- No administrar en forma conjunta con estimulantes adrenoceptores.
- No debe utilizarse en obstrucción mecánica del tracto gastrointestinal, torsiones estomacales, hernias y similares en perros y gatos.
- Tampoco debe usarse en caso de problemas cardíacos y pulmonares.
- La xilazina no debe ser usada en conjunción con neurolépticos.
- El uso de xilazina debe ser evitado en rumiantes con marcados signos de debilitamiento por enfermedad; más específicamente, no debe ser administrada a animales con hipovolemia o bloqueo del tracto urinario.

FOLLIGON®

DESCRIPCIÓN:

Es una gonadotropina sérica de yegua preñada (eCG) con actividad de la hormona folículo estimulante (FSH) en forma de polvo blanco cristalino liofilizado. En hembras aumenta la actividad ovárica, lo que permite mejorar la fertilidad estimular el crecimiento y maduración de los folículos

COMPOSICIÓN:

Cada frasco de liofilizado contiene: eCG 500 o 1 000 U.I.

INDICACIONES:

Ejerce una influencia estimulante sobre las gónadas de los animales de ambos sexos. En las hembras. Folligon controla problemas de fertilidad en los animales domésticos. Anestro (inducción del celo y aumento de la actividad ovárica, que ocasionan un aumento de la fertilidad) en la vaca, coneja y perra. Superovulación (necesaria para la transferencia de embriones) en la vaca y coneja. Mejora de la tasa de fertilidad tras un tratamiento con progestágenos (inducción y sincronización del celo, aumento de la actividad ovárica) en la vaca y cabra. En los machos estimula la espermatogénesis actuando sobre los túbulos seminíferos.

MECANISMO DE ACCION:

Tiene una vida media de aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea. La eCG administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular debido a que tiene la capacidad de unirse e incrementar el número de receptores de FSH y LH de los folículos, aumentando el tamaño del folículo preovulatorio, incrementando las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez.

VÍA DE ADMINISTRACIÓN:

Aplique por vía intramuscular o subcutánea.

FARMACODINAMICA:

Tiene principalmente un efecto foliculoestimulante y acciones luteinizantes menos marcadas.

Su actividad FSH apoya el crecimiento de los folículos entre 2 y 6 mm de diámetro. Su también induce la expresión de aromatasa, la enzima necesaria para la conversión de andrógenos a estrógenos

Su actividad LH tiene varios efectos

1. Es compatible con el crecimiento de los folículos de 6 a 8 mm de diámetro
2. Se maximiza la producción de andrógenos por los folículos grandes

CONTRAINDICACIONES Y PRECAUCIONES:

Una vez reconstituido, el producto debe ser aplicado en las 12 horas siguientes a su reconstitución. En casos aislados, al igual que con todos los preparados protéicos, se pueden presentar reacciones anafilácticas poco después de la inyección. En tal caso el tratamiento normal es aplicar una inyección de Adrenalina (1:1000), por vía intravenoso o intramuscular, cuando aparezcan los primeros síntomas. También está indicada la administración de corticoesteroides. Conservar en la oscuridad entre 2 y 15° C.

CHORULON®

DESCRIPCIÓN:

Contiene la hormona Gonodotrofina coriónica humana (hCG) en forma de polvo blanco cristalino liofilizado.

MODO DE ACCIÓN:

El principio activo de Chorulon® es hCG, una glicoproteína compleja con actividad de hormona luteinizante (LH). En la hembra, la hCG se puede utilizar para estimular la maduración del folículo en desarrollo e inducir la ovulación que desencadene la luteinización de las células de la granulosa, para mantener la vida funcional del cuerpo lúteo y aumentar la secreción de progesterona por las células luteinizadas. La hCG también aumenta la acción de FSH sobre el crecimiento ovárico. En el macho, la hCG estimula la producción de testosterona en influye en desarrollo y mantención de los caracteres sexuales masculinos primarios y secundarios.

FARMACODINAMICA:

Ejerce un primer efecto luteinizante, aunque también tiene acción foliculoestimulante. Estimula la producción de progesterona por el cuerpo amarillo e induce la ovulación. En perras induce la secreción de estrógenos. En machos estimula la diferenciación sexual y la producción de andrógenos por las células intersticiales y la producción de andrógenos por las células intersticiales, y favorece el descenso testicular cuando existe alguna anomalía.

INDICACIONES:

Chorulon puede ser usado para el control de problemas de fertilidad en animales domésticos:

- Mejorar la tasa de concepción en vacas
- Inducción de la ovulación en yeguas y perras.
- Quistes ováricos con ciclo estral irregular, ninfomanía, o ausencia de estro en vacas.
- Anestro persistente en yeguas y perras.
- Ovulación retardada / estro prolongado en perras.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO:

Almacenar a una temperatura entre 8°C y 15°C el producto liofilizado y entre 2° C a 8°C después de reconstituido. Proteger de la luz.

CONCEPTAL®

Es un análogo sintético de la GnRH, estimulante de la secreción de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) de la hipófisis

COMPOSICION:

Cada ml de contiene:

Acetato de buserelina 0.0042 mg (equivalente a 0.004 mg de buserelina)

Vehículo c.s.p. 1 ml

MODO DE ACCION:

El modo de acción de *Conceptal*, empleado terapéuticamente, corresponde al efecto endocrino fisiológico de la hormona desencadenante natural de las gonadotropinas. Este puede caracterizarse, resumiendo, como sigue: a partir del hipotálamo, órgano regulador neurosecretorio superior, la GnRH pasa por el sistema portal hipofisiario y llega al lóbulo anterior de la hipófisis. En éste, da lugar a la secreción de las gonadotropinas FSH y LH, que entran en el torrente circulatorio periférico. La acción fisiológica de estas hormonas consiste en estimular la maduración de los folículos, desencadenar la ovulación y luteinización en el ovario (formación del cuerpo lúteo). Este proceso funcional se realiza también tras la aplicación de *Conceptal* y explica su eficacia clínica en las diversas indicaciones.

COMPORTAMIENTO EN EL ORGANISMO:

• FARMACOCINÉTICA:

Las investigaciones farmacocinéticas, efectuadas con métodos biológicos y con buserrelina marcada, confirman la eficacia del producto, escasamente prolongada respecto a la GnRH. Esta prolongación puede explicarse por la degradación enzimática retardada del nonapéptido. Después de su aplicación intravenosa, la buserrelina se elimina rápidamente del plasma. La vida media inicial en rata es de 3-4,5 minutos y de 12 minutos en cobaya. Al medir la concentración plasmática con un ensayo especial de radioinmunización, al cabo de unos 30 minutos, los valores están por debajo del límite de comprobabilidad.

El péptido marcado se acumula en el hígado, riñón e hipófisis. Al cabo de unos 60 minutos, se halla una fuerte acumulación en el tejido hipofisiario. No existe ninguna correlación entre el nivel plasmático y la liberación de las gonadotropinas, ya que la eliminación a partir del plasma se produce con rapidez, en tanto que el efecto hormonal persiste durante varias

horas. La acción de la busserelina se mantiene por su enlace con receptores específicos de la hipófisis, mientras que el péptido se degrada rápidamente en el hígado y riñón. La actividad biológica de los productos degradados es inferior al 0,1% de la sustancia original. En el tubo digestivo la busserelina se degrada ampliamente por las enzimas ahí presentes; un efecto hormonal se comprueba solamente con dosis extremadamente elevadas.

• **ACCION FARMACOLOGICA:**

Las investigaciones farmacológicas generales con altas dosis no revelaron ninguna influencia sobre el sistema cardiovascular, el sistema nervioso central, el metabolismo ni la función renal. En órganos aislados, no se comprobó ningún efecto farmacológico, excepto la estimulación hormonal de la hipófisis. En la musculatura uterina, no hubo reacción espasmógena ni espasmolítica. La coagulación sanguínea no manifestó alteración alguna.

• **COMPORTAMIENTO DE LOS RESIDUOS Y PLAZO DE CARENCIA:**

Dada la brevedad de la vida media y la rápida inactivación de *Conceptal*, no resultan posibles, prácticamente, investigaciones de los residuos, al aplicar las reducidas dosis terapéuticas.

Para un cálculo teórico de los eventuales residuos en víveres procedentes de animales sacrificados a los 60 minutos de aplicarles *Conceptal*, ha de partirse de las acumulaciones de sustancia activa en los músculos (0,1% de la dosis aplicada), hígado (12,7%) y riñón (5,5%), conocidas por las investigaciones farmacocinéticas, así como de las cantidades usuales de consumo. De este modo, se obtuvieron valores múltiplemente inferiores a las dosis usuales de consumo. De este modo, se obtuvieron valores múltiplemente inferiores a las dosis de eficacia oral en humanos. Como después del tratamiento con *Conceptal*, no ha de contarse en ningún momento con residuos críticos desde el punto de vista sanitario, no se ha fijado ningún plazo de carencia en la República Federal Alemana.

TOXICIDAD:

• **TOXICIDAD EN LA ADMINISTRACION UNICA:**

Dado el enorme margen de seguridad de las hormonas desencadenantes, apenas resulta posible determinar la D.L. 50. Así, por ejemplo, el ratón tolera sin reaccionar, dosis intravenosas de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de sustancia activa por kg y, la rata 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Estas dosis son 12500 veces y 6250 veces mayores, respectivamente, que las administradas terapéuticamente a vacas o yeguas adultas de 500 kg de peso.

• **TOXICIDAD EN LA ADMINISTRACION REPETIDA:**

Especie animal	Duración del ensayo	Dosis diaria	Aplicación
Rata	28 días 6 meses	50 - 200 µg/kg 0,5 - 125 µg/kg	Subcutánea Subcutánea
Perra	28 días 6 meses	50 - 200 µg/kg 0,5 - 125 µg/kg	Subcutánea Subcutánea

Por el comportamiento de los animales de ensayo, así como por los hallazgos clínicoquímicos, hematológicos, anátomo e histopatológicos, no se pueden deducir influencias negativas de ninguna clase. La acción endocrina de la busserelina se manifiesta como desviaciones morfológicas y funcionales reversibles de los órganos reproductores y en dosis elevadas también de la hipófisis. Lo mismo vale para los ensayos de embriotoxicidad en ratonas. Todos los hallazgos toxicológicos se refieren a dosis diarias, en parte extremadamente elevadas, sin relevancia alguna en la aplicación práctica de *Conceptal* (dosis terapéutica única y reducida).

• **TOLERANCIA:**

Tanto las investigaciones farmacológicas y toxicológicas como los extensos ensayos clínicos con vacas, vaquillas, yeguas y conejas han revelado una tolerancia general y local muy buena de *Conceptal*. El modo de aplicación, es decir, la inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea no influye sobre la tolerancia. No se conoce ninguna interacción con otros medicamentos y, según la experiencia reunida hasta la fecha, tampoco ha de esperarse.

INDICACIONES:

Conceptal está indicado para el tratamiento de quistes foliculares (trastornos de la fertilidad de origen ovárico), aciclia, retraso en la ovulación, inducción de la ovulación y mejora del porcentaje de preñez en vacas, yeguas y conejas.

APLICACIÓN:

En todas las especies, *Conceptal* se aplica, de preferencia por vía intramuscular; pero son posibles también las inyecciones intravenosa o subcutánea.

FLUNIDROG ®

COMPOSICION:

Flunixin meglumina 50 mg

Vehículo c.s.p..... 1 mL

PROPIEDADES:

Flunidrog es un potente agente analgésico no esteroide ni narcótico dotado de actividad antiinflamatoria y antipirética. No es abortivo. Actúa bloqueando la síntesis de prostaglandinas al inhibir la ciclooxigenasa. Tiene acción directa sobre el S.N.C., disminuyendo el dolor y la inflamación.

FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMIA:

Flunixina Meglumina:

El Flunixino Meglumina actúa como inhibidor no enzimático importante de la vía del ácido araquidónico que es responsable de la conservación del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos. En consecuencia, se inhibe la síntesis de los eicosanoides, mediadores importantes del proceso inflamatorio que intervienen en la piresis central, la percepción del dolor y la inflamación de los tejidos. A través de los efectos sobre la vía del ácido araquidónico. El Flunixino también inhibe la producción de tromboxano, un potente agregante plaquetario y vasoconstrictor que se libera durante la coagulación de la sangre. El Flunixino ejerce su efecto antipirético al inhibir la síntesis de la prostaglandina E2 en el hipotálamo. Aunque el Flunixino no tiene un efecto directo sobre las endotoxinas una vez han sido producidas, este reduce la producción de prostaglandinas que forman parte de los complejos procesos involucrados en el desarrollo del shock endotóxico. Cuando es administrado por vía intravenosa a équidos en dosis única de 1,1 mg/kg alcanza una c_{max} en torno a 12 mg/ml, una auc de 976 mg min/ml un mrt de 110 min, un cl de 1,14 ml/h/kg y un tiempo de eliminación de aproximadamente 2 horas. Cuando es administrado por vía intravenosa a bóvidos en dosis únicas de 2,2 mg/kg la concentración máxima plasmática observada es de 12,3 mg/ml y el tiempo de eliminación de aproximadamente 4 horas. Se distribuye bien a los tejidos en particular al exudado y trasudado aunque la penetración es lenta, alcanzando concentraciones en el exudado cuatro veces superiores al plasma. La eliminación desde el trasudado es más lenta que desde el plasma.

INDICACIONES:

Analgésico, antipirético, antiinflamatorio, para el tratamiento de desórdenes músculoesquelético, síndrome de vaca caída, cólicos en equinos y porcinos, como coadyuvante en procesos inflamatorios, síndrome de MMA.

EFFECTOS COLATERALES POSIBLES:

- Incluyen la posibilidad de hemorragias, irritación y lesiones gastrointestinales, particularmente en ponis, necrosis de las papilas renales y cambios en la analítica sanguínea.
- La inyección intraarterial puede causar reacciones adversas, las que son fugaces y desaparecen sin tratamiento.

INCOMPATIBILIDAD Y ANTAGONISMO

- No deben administrarse otros fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINEs) simultáneamente o con menos de 24 horas de intervalo. Algunos AINEs pueden unirse en gran medida a las proteínas plasmáticas y desplazar a otros fármacos con gran afinidad para unirse a las proteínas plasmáticas, lo que puede originar efectos tóxicos.
- Debe evitarse la administración simultánea de fármacos potencialmente nefrotóxicos.

INTOXICACION Y SOBREDOSIS:

- Estudios de toxicidad aguda y toxicidad crónica; tratamientos con dosis triples a las sugeridas no produjeron síntomas de toxicidad ni trastornos hematológicos ni urinarios.
- No debe administrarse el producto a animales gestantes. No se han realizado estudios de seguridad en animales gestantes.
- El flunixin meglumina es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo. La sobredosis se asocia con toxicidad gastrointestinal.

PRECAUCIONES DE USO:

- Evítase el uso en animales deshidratados, hipovolémicos o hipotensos.
- El producto se debe inyectar lentamente y debe estar a temperatura corporal. Si aparecen signos de intolerancia se debe parar inmediatamente la administración y, si es necesario, iniciar un tratamiento de shock.
- Durante el tratamiento se debe proporcionar un suministro de agua adecuado.

LUTAPROST®

COMPOSICIÓN:

Cada mL de solución acuosa estéril contiene:

Cloprostenol sódico.....	0.263 mg
	(equivalente a 0.25 mg +/- cloprostenol)
Excipientes.....c.s.p.....	1 mL

DESCRIPCION:

Lutaprost es una prostaglandina sintética análoga, estructuralmente relacionada a la prostaglandina F2. Es un potente agente luteolítico que induce la regresión funcional y morfológica del cuerpo lúteo (luteólisis) en bovinos, porcinos, equinos, ovinos, caprinos, camélidos, entre otras especies. Luego de 2-4 días, dicha luteólisis es seguida por retorno al estro con ovulación normal.

INDICACIONES:

Camélidos:

Inducción de receptividad:

En casos de cuerpo lúteo persistente (pseudopreñez) la hembra no será receptiva al macho. Esta condición puede ser diagnosticada por exámenes clínicos y/o de ultrasonido en el útero. Una inyección de causará regresión de dicho cuerpo lúteo lográndose la receptividad de la hembra al macho 12 a 15 días luego de la aplicación.

Inducción al aborto: La inducción al aborto se indica en casos de preñez no deseada. Los animales podrán ser tratados desde la semana 1 hasta los 7 meses del servicio; el aborto se producirá 3 - 4 días luego del tratamiento.

Inducción al parto: El parto se desarrollará aproximadamente 72 horas luego de la aplicación de Lutaprost en etapas finales de la preñez. Se recomienda su uso al de corticoides u oxitocina.

FARMACODINAMICA:

La PGF₂ α es la causa de la luteólisis en la mayoría de las especies. Se ha sugerido que el mecanismo de regresión del cuerpo amarillo por efecto de la PGF₂ α se debe a que disminuye el riego de dicho cuerpo, lo que interfiere en el aporte hormonal a éste; además, la PGF₂ α

parece tener efecto lítico directo sobre las células luteínicas. En el aparato reproductor femenino estimula la actividad del miometrio e induce relajación del cuello uterino (cérvix). Otras acciones de la PGF₂α son vasoconstricción y broncoconstricción.

FARMACOCINETICA:

No se mencionan datos específicos y solo se sabe que su vida media es de minutos.

ADMINISTRACION Y DOSIS:

Por vía inyección intramuscular (I.M.) o submucoso-intravulvar (S.M.I.V.) utilizando una jeringa tipo tuberculina con aguja 22-25 G x ¼- ½”

Camélidos: 1.0 mL (0.25 mg cloprostenol) solo I.M.

CONTRAINDICACIONES:

- No administre a animales preñados a menos que se desee inducir el parto o provocar un aborto.
- La inducción al parto en etapas muy tempranas de la preñez puede llevar al nacimiento de crías no viables.
- Evite aplicar vía intravenosa.
- No administrar simultáneamente con medicamentos antiinflamatorios o esteroides.
- No aplicar en animales preñados o con desórdenes espásticos del tracto gastrointestinal o del aparato respiratorio.

EFFECTOS SECUNDARIOS:

- No se ha observado ninguna reacción adversa a las dosis recomendadas.
- En dosis superiores a las recomendadas se han observado efectos secundarios leves, incluyendo inquietud, diarrea leve, ligera producción de espuma y secreción de leche.

PRECAUCIONES:

- Hembras gestantes, asmáticos, problemas bronquiales y otros problemas respiratorios deberán ser extremadamente cautos durante el manejo de este producto. En sus primeras etapas, las hembras gestantes pueden no ser conscientes de un embarazo. Lutaprost se absorbe rápidamente a través de la piel y puede causar aborto y/o espasmos bronquiales.
- El contacto directo con la piel deberá, por lo tanto, ser evitado. Las salpicaduras accidentales con la piel deberán ser lavadas rápidamente con agua y jabón

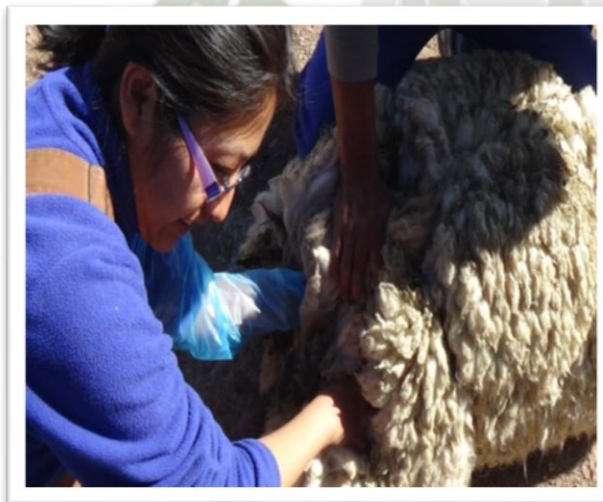
ANEXO N° 5

FOTOS

1. TRABAJO EN CAMPO:



Preparación y lubricación antes de la ecografía transrectal



Palpación rectal para evaluar la cronología fisiológica reproductiva.



Ejecución de la ecografía transrectal para la evaluación.



Ejecución de la ecografía transrectal para la evaluación.



Inyección intramuscular de las hormonas



Empadre - revisión de la correcta penetración.

2. Evaluación Ecográfica:



Imagen ecográfica del ovario derecho de alpaca con identificación: collar N° 82 del protocolo "A"; a la evaluación ecográfica se muestran cinco imágenes hipocogénicas localizadas en el ovario las cuales representan folículos en crecimiento.



Imagen ecográfica del ovario izquierdo de alpaca con identificación: collar N° 57 del protocolo "B"; a la evaluación ecográfica se muestran seis imágenes hipocogénicas localizadas en el del ovario las cuales representan folículos en crecimiento.



Imagen ecográfica del ovario derecho de alpaca con identificación: collar N° 59 del protocolo "C"; a la evaluación ecográfica se muestran cuatro imágenes hipocogénicas localizadas en el ovario las cuales representan folículos en crecimiento.

- PROTOCOLO "A":



Imagen ecográfica del ovario izquierdo de alpaca con identificación: collar N° 102; a la evaluación ecográfica se muestra una imagen hipocogénica localizada en la zona craneal derecha del ovario lo cual representa un quiste folicular, también se muestran tres imágenes hiperecogénicas localizadas en la zona caudal izquierda del ovario los cuales representan cuerpos lúteos.

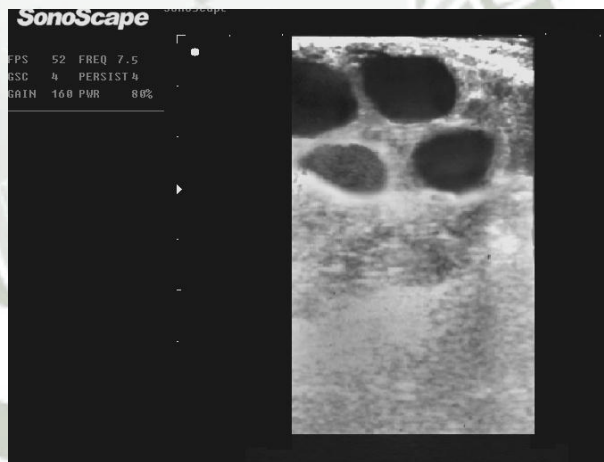


Imagen ecográfica del ovario izquierdo de alpaca con identificación: collar N° 137; a la evaluación ecográfica se muestran tres imágenes hipocogénicas localizadas en la zona craneal derecha del ovario los cuales representan quistes foliculares, también se muestra una imagen hiperecogénicas localizadas en la zona caudal izquierda del ovario el cual representa cuerpo lúteo.

- PROTOCOLO "B":



Imagen ecográfica del ovario izquierdo de alpaca con identificación: collar N° 90; a la evaluación ecográfica se muestran dos imágenes hipocogénicas localizadas en la zona craneal del ovario lo cuales representan quistes foliculares, también se muestran dos imágenes hiperecogénicas localizadas en la zona caudal del ovario los cuales representan cuerpos lúteos.



Imagen ecográfica del ovario derecho de alpaca con identificación: collar N° 189; a la evaluación ecográfica se muestran dos imágenes hipocogénicas localizadas en la zona craneal y caudal del ovario los cuales representan quistes foliculares, también se muestran dos imágenes hiperecogénicas localizadas al lado derecho e izquierdo del ovario los cuales representan cuerpos lúteos.

- PROTOCOLO "C":



Imagen ecográfica del ovario derecho de alpaca con identificación: collar N° 70 del protocolo "C"; a la evaluación ecográfica se muestra una imagen hipocogénica localizadas en la zona craneal derecha del ovario lo cual representa quiste folicular, también se muestran dos imágenes hiperecogénicas localizadas en la zona caudal izquierda del ovario los cuales representan cuerpos lúteos.



Imagen ecográfica del ovario derecho de alpaca con identificación: collar N° 72 del protocolo "C"; a la evaluación ecográfica se muestra una imagen hipocogénica localizada en la zona craneal derecha del ovario lo cual representa un quiste folicular, también se muestran dos imágenes hiperecogénicas localizadas en la zona craneal izquierda del ovario los cuales representan cuerpos lúteos.

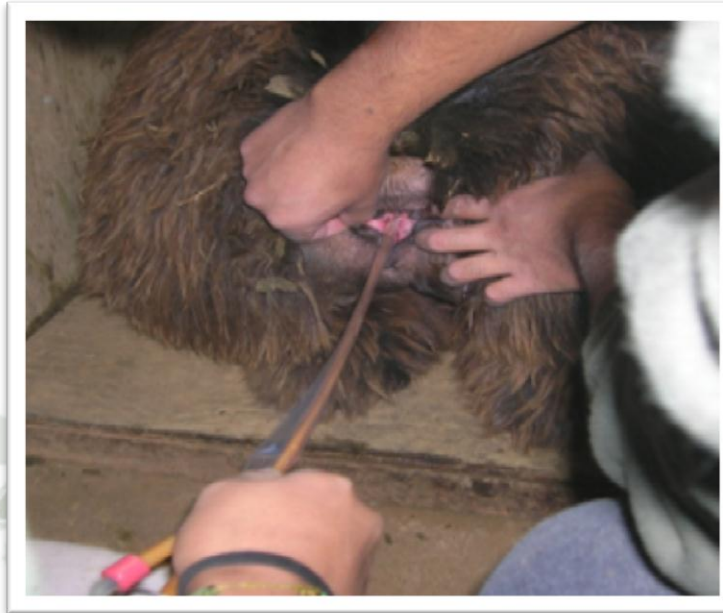
3. Técnica de lavado:



Ecografía transrectal momento antes de la colección embrionaria.



Preparación de sonda Foley con estilete para lavado uterino



Introducción de sonda Foley junto con estilete



Fijación de sonda Foley.

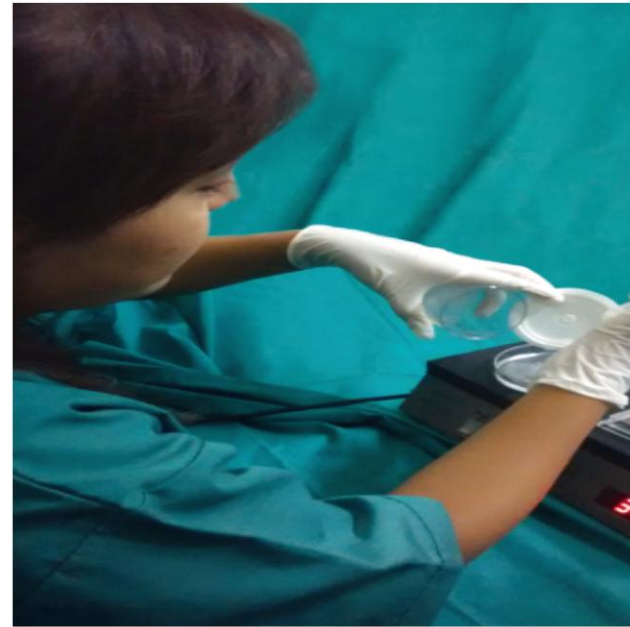


Proceso de lavado uterino y colecta de embriones.



Posición durante todo el proceso de lavado.

4. Proceso de recuperación embrionaria



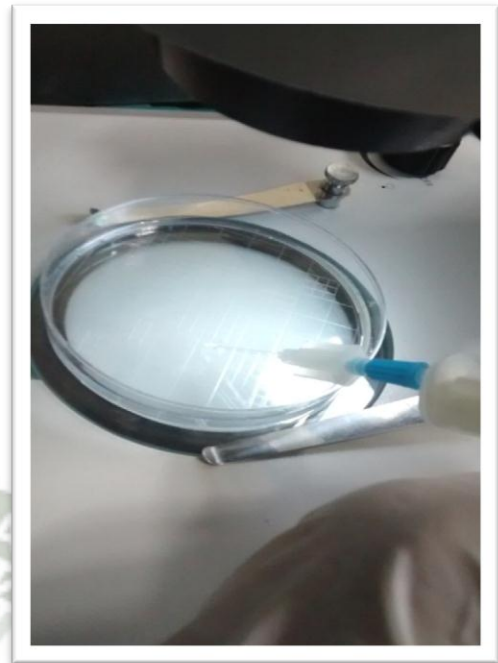
Enjuague del filtro



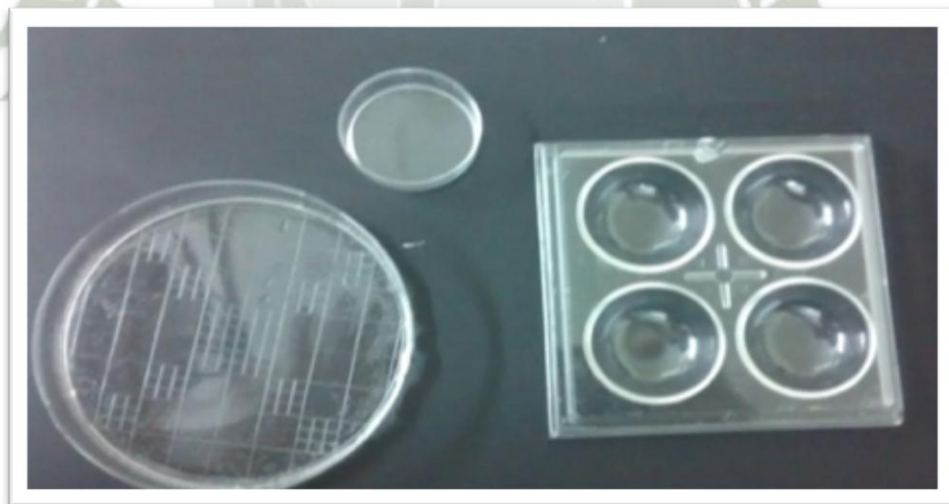
Enjuague del filtro sobre la termoplatina que se encuentra 37°C durante todo el proceso



Observación en estereoscopio
para conteo de embriones.



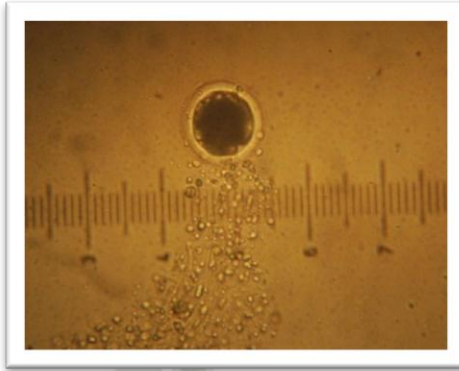
Utilización del catéter para
aspiración de embriones.



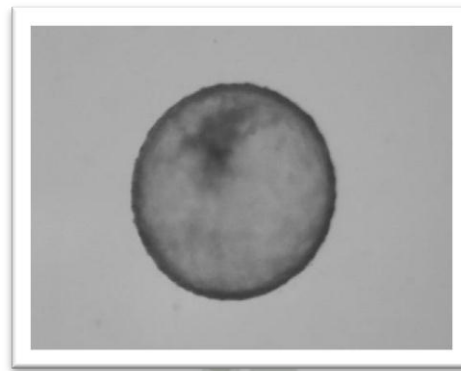
Material utilizado en búsqueda y conteo de embriones

5. Recuperación embrionaria

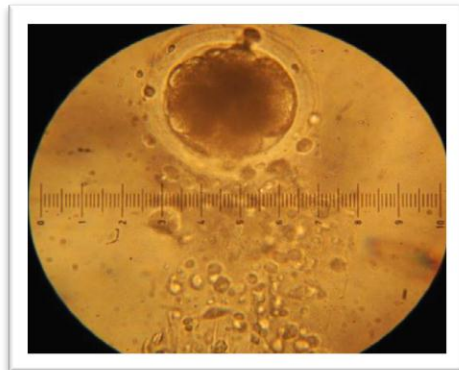
- Embriones recuperados (Protocolo "A"):



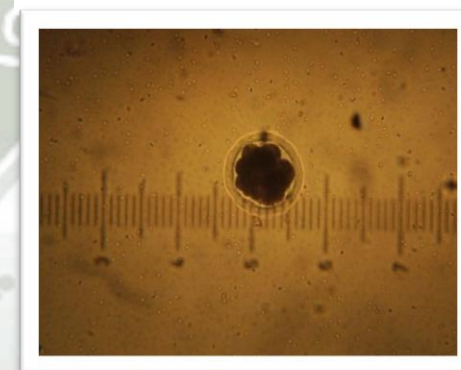
Embrión obtenido de alpaca
collar N°102



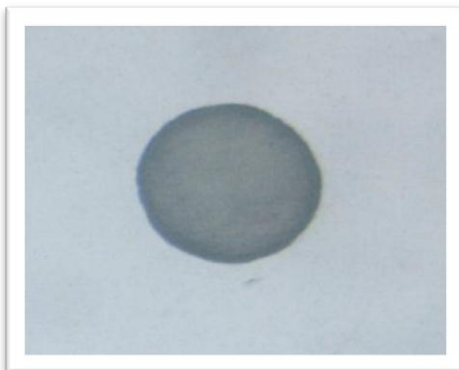
Embrión obtenido de alpaca
collar N°82



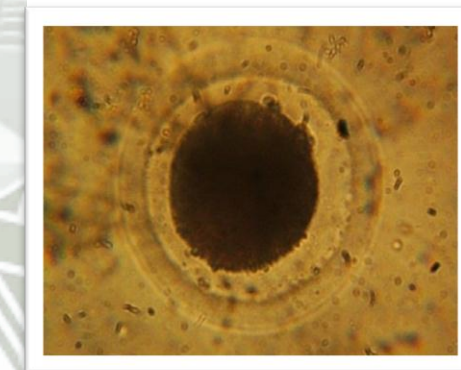
Embrión obtenido de alpaca
collar N°54



Embrión obtenido de alpaca
collar N°45



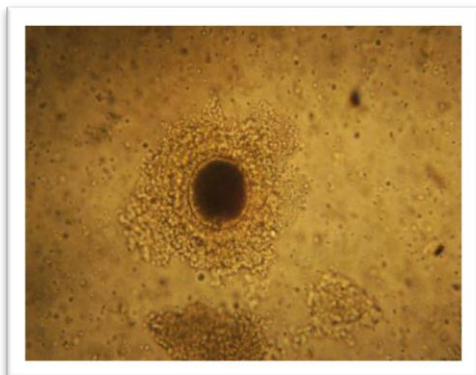
Embrión obtenido de alpaca
collar N°65



Embrión obtenido de alpaca
collar N°34

NOTA: No se procede a la evaluación ni clasificación de los embriones colectados ya que el trabajo de investigación solo tiene como fin el conteo de dichos embriones colectados.

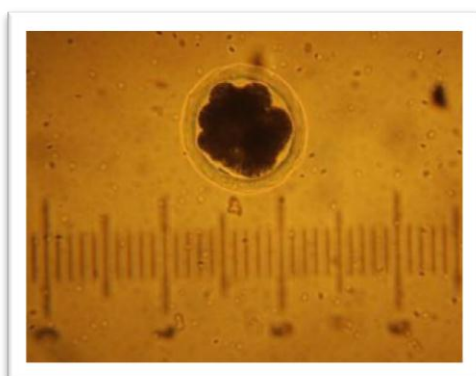
- Embriones recuperados (Protocolo "B"):



Embrión obtenido de alpaca
collar N°53



Embrión obtenido de alpaca
collar N°90



Embrión obtenido de alpaca
collar N°89



Embrión obtenido de alpaca
collar N°22



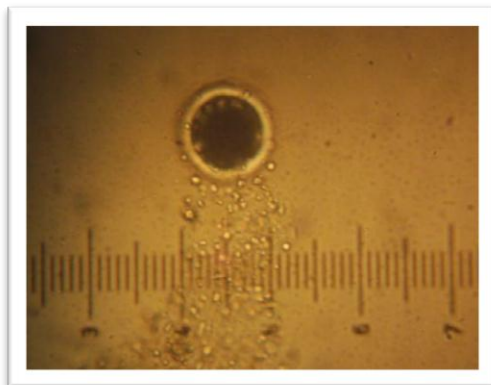
Embrión obtenido de alpaca
collar N°69



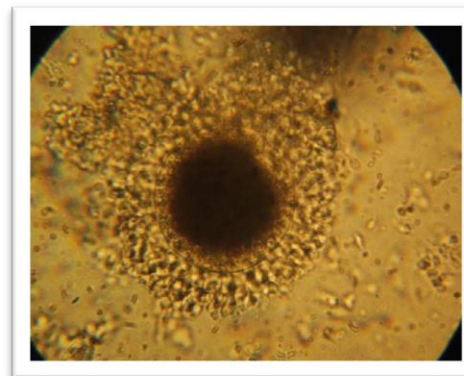
Embrión obtenido de alpaca
collar N°57

NOTA: No se procede a la evaluación ni clasificación de los embriones colectados ya que el trabajo de investigación solo tiene como fin el conteo de dichos embriones colectados.

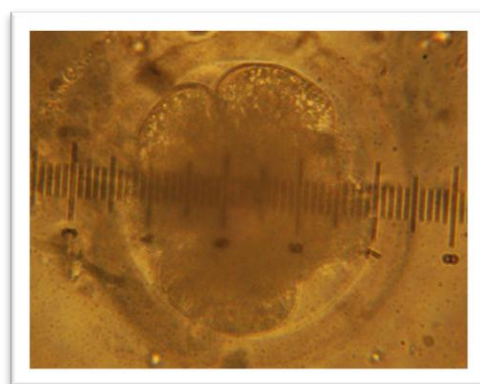
- Embriones recuperados (Protocolo "C"):



Embrión obtenido de alpaca
collar N°61



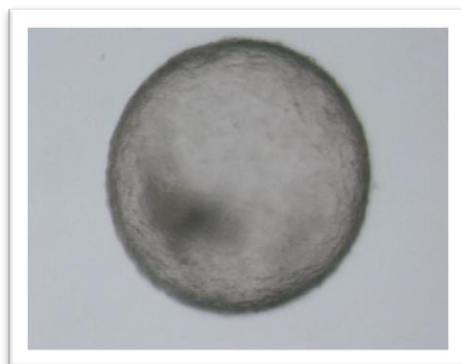
Embrión obtenido de alpaca
collar N°70



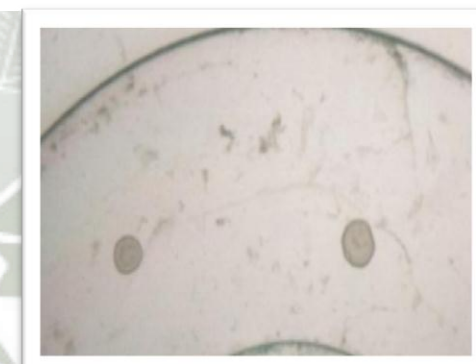
Embrión obtenido de alpaca
collar N°59



Embriones obtenidos de alpaca
collar N°35



Embrión obtenido de alpaca
collar N°29



Embriones obtenidos de alpaca
collar N°84

NOTA: No se procede a la evaluación ni clasificación de los embriones colectados ya que el trabajo de investigación solo tiene como fin el conteo de dichos embriones colectados.