



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



**“EFECTO DE LA COPULACIÓN EN EL PROCESO DE
OVULACIÓN EN ALPACAS”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. RUBEN MAMANI NAVARRO

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PUNO – PERÚ

2021



DEDICATORIA

A Dios por su inmensa bondad y sublime gracia.

A mis padres Higidio Mamani Quispe y Dominga Navarro de Mamani; que supieron sacarme adelante, por brindarme su apoyo incondicional durante toda mi formación académica, por sus consejos y los valores inculcados en mí, que lograron formarme como una persona de bien.

A mis hermanos(a) Wile, Fernando, Javier y Reyna por sus enseñanzas vitales fortalezas, comprensión, Responsabilidad, apoyo a quienes debo mi formación profesional.

*A mi mejor amiga Sharon Yareli por su apoyo incondicional que nunca me fallo y estuvo en los momentos más difíciles de mi vida las tengo presentes en mi corazón,
Muchas gracias por todo.*



AGRADECIMIENTOS

A La Universidad Nacional del Altiplano - Puno, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y docentes por la formación académica brindada.

Al Centro Experimental La Raya, por permitir la ejecución de la tesis y brindar las facilidades necesarias.

Al Director de Tesis Mg. Jesús Martín Urviola Sánchez, por su infatigable apoyo para culminar la presente Tesis, por el entusiasmo puesto y su confianza.

Al PhD. Víctor Leyva Vallejos, por su constante asesoramiento

Al M.Sc. Uri Harold Pérez Guerra, por su asesoramiento en la redacción de la tesis.

Al Dr. Halley Rodríguez Huanca, por el asesoramiento en la parte estadística.

A la Dra. Adriana Pilar Urviola García, por su apoyo en la ecografía.

A los Docentes miembros del jurado: M.Sc. Alberto Soto Quispe, MVZ. Gerardo Godofredo Mamani Choque y M.Sc. Iván Quiñones García por las sugerencias y paciencia para el desarrollo de la tesis.

Mis amigos y compañeros: Noemi Céspedes Carcausto, Julio César Mamani Quispe, Carla Fabiola Ramos Rivas, Madeley Hilasaca Mamani y Néstor Condori Quispe por la colaboración brindada en la ejecución del trabajo de investigación.

Rubén Mamani Navarro



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 9

ABSTRACT..... 10

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Objetivo general 12

1.2 Objetivo específico..... 12

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anatomía del tracto reproductivo de la alpaca hembra..... 13

2.2 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra..... 15

2.2.1 Desarrollo Folicular..... 15

2.2.2 Ondas Foliculares 15

2.2.3 Endocrinología del Desarrollo Folicular..... 17

2.2.4 Ovulación..... 18

2.2.5 Factor Inductor de Ovulación (FIO) 23

2.2.6 Cuerpo lúteo..... 27

2.2.7 Luteólisis..... 28

2.3 Anatomía del aparato reproductor de la alpaca macho 29

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ámbito experimental..... 32

3.2 Material experimental 32

3.2.1 Animales 32

3.3 Instalaciones materiales y equipos 33

3.3.1 Instalaciones: 33

3.3.2 Materiales y equipos 33

3.4 Metodología experimental. 34

3.4.1 Diseño experimental 34



3.4.2	Obtención del plasma seminal	35
3.4.3	Prueba de receptividad y evaluación ecográfica para detectar celo.....	36
3.4.4	Copulación ó Infusión de plasma seminal (Inseminación Artificial)	36
3.4.5	Diagnóstico de ovulación y presencia de cuerpo lúteo.....	36
3.5	Análisis estadístico.....	36
CAPÍTULO IV		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
4.1	Evaluación del efecto de la copulación <i>per se</i> en la ovulación en alpacas.	38
a.	A los 4 días poscópula.	38
b.	A los 7 días poscópula.	40
c.	A los 11 días poscópula.	45
V.	CONCLUSIONES.....	48
VI.	RECOMENDACIONES.....	49
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ANEXOS.....		61

Área: Reproducción Animal.

Tema: Efecto de la cópula en la ovulación de alpacas.

FECHA DE SUSTENTACION: 19 de marzo de 2021.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diseño experimental	35
Figura 2. Porcentaje de receptividad al macho al 4 día poscópula.....	39
Figura 3. Porcentaje de receptividad al macho – presencia de cuerpo lúteo el 7 día poscópula	42
Figura 4. Porcentaje de receptividad al macho – presencia de cuerpo lúteo el 11 día poscópula.	47



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de alpacas hembras según grupo experimental	34
Tabla 2. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2 sobre la ovulación, mediante receptividad al macho el día 4 post cópula.....	38
Tabla 3. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho el día 4 post cópula.....	38
Tabla 4. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2, sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 7 poscópula	40
Tabla 5. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 7 poscópula	41
Tabla 6. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2 sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 11 poscópula	45
Tabla 7. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 11 poscópula.....	46



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

cc	: centímetros cúbicos
C.E.	: Centro Experimental
CL	: cuerpo lúteo
cm	: centímetros
CSA	: Camélidos Sudamericanos
E2	: Estradiol
FIO	: Factor Inductor de la Ovulación
g	: gramos
GnRH	: Hormona Liberadora de las Gonadotropina
h	: horas
hCG	: Gonadotropina Coriónica Humana
kDa	: Kilodalton
LH	: Hormona Luteinizante
mg	: miligramos
min	: minutos
mL	: mililitros
mm	: milímetros
m.s.n.m.	: metros sobre el nivel del mar
ng	: nanogramos
nmol/L	: nanomoles por litro
PGF2 α	: Prostaglandina F2 α
UI	: Unidades Internacionales
β -NGF	: Factor de Crecimiento Nervioso β
μ g	: microgramos



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto de la copulación *per se* en la ovulación en alpacas, para ello se utilizaron machos castrados (G1), machos vasectomizados (G2) e infusión de plasma seminal en el útero (G3). El estudio se realizó en época reproductiva (enero a abril) en el Centro Experimental “La Raya” de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, ubicado en el distrito de Santa Rosa, provincia de Melgar, región de Puno a una altitud entre 4136 a 5470 m s.n.m. (Chimboya) en sus dos zonas (alta y baja). Se utilizaron 45 alpacas hembras adultas de la raza Suri, con antecedentes de partos previos, sin cría (vacías), en celo y con presencia de un folículo preovulatorio ≥ 7 mm de diámetro, verificado mediante ecografía transrectal. Las 45 alpacas hembras fueron distribuidas aleatoriamente en tres grupos de forma equitativa, G1 (n = 15) fueron las hembras que recibieron cópula con macho castrado, G2 (n = 15) las que recibieron cópula con macho vasectomizado y G3 (n = 15) recibieron infusión intrauterina de plasma seminal. Para el empadre en G1 y G2, se utilizaron seis machos adultos con experiencia y libido sexual manifiesto (3 castrados y 3 vasectomizados respectivamente), la cópula efectiva fue por 15 minutos como mínimo, y en G3 (no recibieron cópula) se les depositó 3 cc de plasma seminal en el cuerpo del útero vía inseminación artificial. La ocurrencia de la ovulación fue evaluada al cuarto día poscópula mediante la receptividad al macho y el séptimo y onceavo día poscópula mediante la observación del cuerpo lúteo a través de la ecografía transrectal de los ovarios, corroborado con la prueba de la receptividad al macho. Los resultados del experimento se expresan en porcentaje y se comparan G1 vs G2 y G2 vs G3 mediante la prueba estadística del chi cuadrado. A los cuatro días poscópula se evidenció una ovulación de 6.7% solamente G1 (castrado) y 0% en el resto ($P > 0.05$; en G1 vs G2 y G2 vs G3). A los 7 días poscópula la ovulación encontrada fue G1 = 26.7%, G2 = 93.3% y G3 = 20% donde G1 vs G2 y G2 vs G3 son estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Y al día 11 poscópula el 100% de los animales en los tres grupos retornan al celo (receptivas). Se concluye que el efecto físico de la copulación con macho castrado, como el efecto químico (β -NFG) de la infusión de plasma seminal al útero mostró una tasa de ovulación baja, mientras que ambos efectos (físico y químico) en vasectomizados, mejoraron grandemente la ovulación.

Palabras clave: alpacas, macho castrado, macho vasectomizado, plasma seminal y ovulación.



ABSTRACT

The objective of this research work was to evaluate the effect of *per se* copulation on ovulation in alpacas, for this purpose, castrated males (G1), vasectomized males (G2) and seminal plasma infusion in the uterus (G3) were used. The study was carried out in the reproductive season (January to April) at the Experimental Center "La Raya" of the National University of the Altiplano - Puno, located in the district of Santa Rosa, Melgar province, Puno region at an altitude between 4136 a 5470 m asl (Chimboya) in its two zones (high and low). 45 adult female alpacas of the Suri breed were used, with a history of previous calving, without calves (empty), in heat and with the presence of a preovulatory follicle ≥ 7 mm in diameter, verified by transrectal ultrasound. The 45 female alpacas were randomly distributed into three groups equally, G1 (n = 15) were the females that received intercourse with a neutered male, G2 (n = 15) those that received intercourse with a vasectomized male, and G3 (n = 15) received intrauterine infusion of seminal plasma. For mating in G1 and G2, six adult males with experience and manifest sexual libido were used (3 castrated and 3 vasectomized respectively), the effective copulation was for at least 15 minutes, and in G3 (they did not receive copulation) 3 cc of seminal plasma in the body of the uterus via artificial insemination. The occurrence of ovulation was evaluated on the fourth post-copula day by means of receptivity to the male and on the seventh and eleventh post-copula days by observing the corpus luteum through transrectal ultrasound of the ovaries, corroborated with the male receptivity test. The results of the experiment are expressed as a percentage and G1 vs G2 and G2 vs G3 are compared using the chi-square test. Four days after copulation, ovulation of 6.7% was evidenced only in G1 (castrated) and 0% in the rest ($P > 0.05$; in G1 vs G2 and G2 vs G3). At 7 days post-copulation the ovulation found was G1 = 26.7%, G2 = 93.3% and G3 = 20% where G1 vs G2 and G2 vs G3 are statistically significant ($p < 0.05$). And on day 11 post-copulation, 100% of the animals in the three groups return to heat (receptive). It is concluded that the physical effect of copulation with a castrated male, as well as the chemical effect (β -NFG) of the infusion of seminal plasma to the uterus showed a low ovulation rate, while both effects (physical and chemical) in vasectomized patients improved. greatly ovulation.

Key words: alpacas, castrated male, vasectomized male, seminal plasma and ovulation.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de camélidos sudamericanos CSA de las comunidades andinas se ubican sobre los 4000 m s.n.m. y la crianza de alpacas representa la actividad ganadera de mayor importancia económica. Dentro de las áreas productivas de esta especie, la reproducción está ligada a la producción de vellón y de carne, sobre todo si se desea implementar mejoras en rendimiento productivo y de calidad (Fernández Baca, 2005).

En La fisiología reproductiva la alpaca, como los otros CSA, son de ovulación inducida por la cópula (San Martín *et al.*, 1968) y su proceso reproductivo puede ser entendido por su hábito en su comportamiento sexual y parte del efecto fisiológico, sobre todo intrínseco, que aún se desconoce.

En el proceso de empadre se observan diferentes manifestaciones del comportamiento sexual del macho como, el sonido gutural, el movimiento semicircular del pene alrededor de la vulva para detectar la entrada de la vagina, iniciar la penetración, llegar a la cervix, hasta alcanzar los cuernos uterinos (Novoa y Leyva, 1996; Franco, *et al.*, 1981), y en el empadre a campo se observa con cierta frecuencia que machos en cópula efectiva son interrumpidos por otros machos a los pocos segundos o minutos (Novoa y Leyva 1996; Fernández-Baca y Novoa 1968).

Estudios en ovulación inducida por la cópula en alpacas demostró, que la penetración es intrauterina (Franco *et al.*, 1981) y en camellos (Cheng *et al.*, 1985) se reporta la existencia de un “Factor Inductor de la Ovulación” en el plasma seminal al ser aplicado en el útero de la camella, el cual fue replicado en alpacas (Ríos *et al.*, 1985;



1989) con similares resultados. Últimos estudios químicos en el plasma seminal de alpacas reportan la presencia de un factor de Crecimiento neurotrópico β , como el factor responsable de la ovulación (Ratto *et al.*, 2016); sin embargo, esto no explica la ovulación espontánea reportada entre 5 a 20% en algunos estudios (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Sumar, 1985), de 40% encontrados en hembras expuesto solo al chequeo de celo con machos cada semana (Leyva, citado por Sumar y García 1986) y el 18% de ovulación con la penetración de 1 a 2 minutos (información personal Urviola, JM, trabajo por publicar).

Se hipotetiza que la cópula intrauterina involucra un proceso de estímulo con la penetración de la cérvix y la acción de frote continuo de la capa endometrial, sin embargo se desconoce si estos estímulos son parte del proceso ovulatorio y/o tienen la capacidad de inducir la ovulación; siendo este el propósito del estudio.

Por consiguiente, se ha planteado los siguientes objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la copulación *per se* en la ovulación en alpacas.

1.2 Objetivo específico

Evaluar el efecto de la copulación con macho castrado, macho vasectomizado e infusión de plasma seminal en el útero sobre la ovulación en alpacas.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anatomía del tracto reproductivo de la alpaca hembra

El tamaño y la forma de *los ovarios* varían con la edad y con su contenido en folículos y cuerpos lúteos. Así, su longitud oscila entre los 5 y 12 mm y su peso entre los 1.9 y 2.4 g. (Sato y Montoya, 1990; Sumar, 1985). En las hembras multíparas los ovarios son ovalados o circulares y aplanados lateralmente, y presentan una superficie irregular debida a la presencia de numerosos folículos cuyo diámetro está comprendido entre los 3 y 5 mm (El-Wishy, 1992). La presencia de folículos maduros y sobre todo de cuerpos lúteos le confiere al ovario un aspecto lobulado. Cada ovario está rodeado completamente por un largo pliegue del mesosalpinx con forma cónica denominado bursaovarica, cuya porción apical forma un amplio orificio circular que comunica con la fimbria del oviducto (Bravo *et al.*, 2000). En hembras adultas, numerosos folículos de 2 a 5 mm pueden ser observados en la superficie ovárica. En animales jóvenes no es fácil su detección por palpación rectal, pero por ultrasonografía son detectados una vez que alcanzan 3 mm. Los folículos preovulatorio y cuerpo lúteo pueden ser detectados por las 2 vías anteriormente mencionadas (Adams *et al.*, 1989; Vaughan y Tibary, 2006).

Los *oviductos* son dos conductos delgados y tortuosos, de 15 a 20 cm de longitud, que comunican la superficie del ovario con el útero. Cada oviducto se une a un cuerno uterino a través de un estrecho orificio que forma una papila protuberante. Esta estructura denominada istmo, actúa como un esfínter para evitar movimientos retrógrados de los fluidos contenidos en el útero (Sumar, 1985). 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 (Sato y Montoya, 1990).

El *útero* de la alpaca es bicorne, con forma de Y, presentando dos cuernos uterinos con una longitud media de 7.5 cm y un cuerpo muy corto, en las hembras no gestantes el órgano se localiza en el interior de la pelvis (Sato y Montoya, 1990). El aparato genital está suspendido de las paredes abdominales y pélvicas por amplios ligamentos (Fowler, 1998). El cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho desde la etapa fetal y prepuberal (Tibary y Anouassi, 1997) y esta diferencia se acentúa en las hembras multíparas como consecuencia de que el 98% de las gestaciones tienen lugar en el cuerno izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973). Sin embargo se han reportado tasas de fertilización más altas para la ovulación del ovario izquierdo que del ovario derecho en las alpacas (Fernandez-Baca *et al.*, 1970).

La *vagina* es el canal desde el cérvix hasta la vulva. Tiene una longitud de 7 a 12 cm y un diámetro de 1 a 2.5 cm. La mucosa presenta ligeros pliegues longitudinales. El fórnix vaginal es de 0.5 a 1 cm de profundidad se proyecta hacia la porción vaginal del útero (Bustinza, 2001). El himen o sus restos, marcan la separación entre la vagina y la vulva. La longitud de la vulva es de unos 3 cm y el clítoris es muy pequeño (Bravo *et al.*, 2000).



2.2 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra

2.2.1 Desarrollo Folicular

Las hembras de las especies domesticas nacen con un número determinado de ovocitos, gran parte de los cuales sufrirán atresia y nunca serán ovulados. A lo largo de la vida de la hembra, los folículos primordiales permanecen en un estado de reposo y cada cierto tiempo algunos son seleccionados para desarrollarse. La onda folicular es un proceso continuo que culmina ya sea con la ovulación del folículo maduro o con la regresión del mismo (Galina y Valencia, 2008).

En el crecimiento folicular intervienen la proliferación y la diferenciación de células de la teca y de la granulosa, lo que finalmente causa un incremento en la capacidad de los folículos de producir estradiol y de reaccionar gonadotropinas. La producción de estradiol determina cual folículo adquirirá los receptores de la hormona luteinizante (LH) necesarios para la ovulación y luteinización. Las perturbaciones en la respuesta de la granulosa y teca a las señales gonadotropicas interrumpen el crecimiento folicular e inician la atresia (Hafez y Hafez, 2000).

2.2.2 Ondas Foliculares

Al igual que en las demás especies, los Camélidos Sudamericanos muestran oleadas de crecimiento folicular de manera continua, pero difieren en el hecho que en ausencia de cópula no se produce la ovulación ni la formación de un cuerpo lúteo, en su lugar al final de la oleada de crecimiento se produce la atresia del folículo dominante (Sumar, 2000).



El folículo dominante tiene tres fases o estadios de desarrollo: fase de crecimiento, fase de madurez, momento en el que se alcanza el diámetro de folículo preovulatorio (7 – 12 mm), y la fase de regresión, siendo la duración media de cada una de ellas de 4 días en la alpaca (Bravo y Sumar, 1989).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia de folículo dominante en ambos ovarios en un 85% de casos (Bravo y Sumar, 1989; Fernández-Baca, 1993), en donde uno de los ovarios presenta folículos de tamaño ovulatorio mientras que en el otro van creciendo otros folículos que rápidamente adquirirán el tamaño ovulatorio cuando en el anterior se vuelven atrésicos (Fernández-Baca, 1993; Bravo, 1990), explicándose los largos periodos de aceptación de la hembra frente al macho. La receptividad se observa cuando el folículo tiene diámetros ≥ 6 mm (Bravo & Sumar, 1989). Pero otros indican no siempre se produce alternancia entre ambos ovarios de una oleada a otra (Adams *et al.*, 1990; Vaughan *et al.*, 2004).

El intervalo entre la emergencia de dos oleadas de crecimiento folicular consecutivas difiere en las distintas especies de camélidos siendo de 12 a 16 días en alpacas (Vaughan *et al.*, 2004), 18 días en llamas (Adams *et al.*, 1990). Sin embargo, otros autores observaron que el intervalo entre la presencia de dos folículos dominantes sucesivos era de 11 - 12 días tanto en alpacas y llamas (Bravo y Sumar, 1989). La duración del intervalo entre dos oleadas podría variar con la localización geográfica, la estación del año, la situación fisiológica de la hembra, el método de examen y el número de animales incluidos en el diseño experimental (Adams *et al.*, 1990).



2.2.3 Endocrinología del Desarrollo Folicular

La actividad de los ovarios está regulada por la interacción de mecanismos endocrinos sistémicos y factores locales paracrino – autocrinas (Hafez y Hafez, 2000). El hipotálamo libera Hormona Gonadotropina (GnRH), que, de acuerdo al patrón de secreción, produce los mecanismos moleculares necesarios para la liberación de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y Hormona Luteinizante (LH) de la hipófisis, sin embargo, el crecimiento del folículo hasta la etapa de formación del antro no es estrictamente dependiente de la gonadotropina (Hafez y Hafez, 2000; Gigli *et al.*, 2006).

Luego de ser secretado la GnRH es acumulada en el hipotálamo basal medio, y proporciona un enlace humoral entre los sistemas neuronal y endocrino, hasta que se produzca la despolarización neural y se libera pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisiario para la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y LH de la hipófisis anterior (Hafez y Hafez, 2000; Gigli *et al.*, 2006).

La actividad folicular se divide en dos etapas diferentes, la primera se denomina activación inicial y la segunda activación de los folículos antrales. La inicial, abarca la diferenciación de los folículos primordiales hasta folículos primarios, tanto la activación inicial como el crecimiento hasta formación del antro es gonadotrófico independiente, es decir que no depende de las concentraciones séricas de FSH y LH (Gigli *et al.*, 2006). Aun no se ha podido determinar cuál o cuáles son los mecanismos que determinan el momento



preciso en que un grupo de folículos comienzan a diferenciarse y a crecer (Hafez y Hafez, 2000; Gigli *et al.*, 2006).

Los folículos pre-antrales pueden quedar retenidos en su crecimiento por largos periodos, hasta que ocurre la segunda activación denominada de activación de folículos terciarios o antrales, el proceso se divide en tres sucesos diferentes: reclutamiento (activación de un grupo de folículos terciarios), selección (un folículo se selecciona sobre otros) y dominancia (el folículo seleccionado dominante, continúa creciendo mientras los otros subordinados regresionan y se atresian). Es posible que la LH esté involucrada en el proceso de selección, ya que sucesos de desviación de tamaño un aumento de LH ocurra simultáneamente, además que el folículo dominante expresa un mayor número de receptores para LH que los subordinados (Gigli *et al.*, 2006).

Los camélidos no presentan ciclos cíclicos sino, son especies de ovulación inducida debido a que sus folículos ováricos no se rompen espontáneamente, permaneciendo intactos hasta recibir estímulo (San Martin *et al.*, 1968). La estimulación coital en estas especies provoca un reflejo neuroendocrino que activa el centro de la GnRH permitiendo la secreción pulsátil de LH y la ovulación (Arthur, 1991; Fernandez-Baca *et al.*, 1970b).

2.2.4 Ovulación

Este mecanismo endocrino se refiere a la ruptura o luteinización del folículo dominante y la salida del ovocito para que sea fecundado. En los rumiantes se debe al pico preovulatorio de LH formado por una retroalimentación positiva por parte del estradiol (E2) a nivel del hipotálamo,



que estimula a su vez una mayor liberación de la GnRH hacia la hipófisis, con lo cual genera mayor liberación de gonadotropinas. Antes de la ovulación la membrana basal del folículo dominante empieza a desintegrarse, por lo cual hay una separación física de la teca y granulosa. Finalmente estas células se reorganizan de tal manera que van a formar las células luteales pequeñas y las células luteales grandes respectivamente formando el cuerpo lúteo, encargado de la secreción de progesterona (Senger, 2005).

La cópula que usualmente tiene una duración entre 5 a 65 min y que está afectado por la edad, estación del año, frecuencia de montas, es responsable de la ovulación en los camélidos. Estudios concluyen que el estímulo de la cópula con machos vasectomizados inducen la ovulación a las 26 horas aproximadamente (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970b). El mecanismo de ovulación en los camélidos se inicia con la intromisión del pene durante la cópula que por vía refleja inicia la ovulación desencadenando la secreción endocrina, que se relaciona con los niveles de LH y la ovulación siguiente, donde picos de LH se incrementan a los 15 min, continúan estos picos hasta las 2 h y declinan 7 h después de la monta (Bravo, 1990).

La inducción de la ovulación en los camélidos sudamericanos ha sido estudiada a través de la aplicación de hormonas exógenas, que aplicando por vía parenteral de 1000 U.I. de Hormona Corionica Humana (hCG), determinaron que la ovulación se produce a las 24 horas pos aplicación (San Martín *et al.*, 1968), la aplicación de 8 ug de busarelina vía intramuscular (Bourke *et al.*, 1992) y de 2 a 5 mg de LH (Taylor *et al.*, 2000), inducen la ovulación aproximadamente 30 horas post aplicación.



Los diferentes estudios indican que la monta del macho vasectomizado, aplicación de GnRH o busarelina, LH producen el 80% de ovulaciones (San Martin *et al.*, 1968; Fernandez-Baca *et al.*, 1970b; Bourke *et al.*, 1992; Taylor *et al.*, 2000) y la aplicación de plasma seminal por vía intrauterina o parenteral producen la ovulación entre el 90 a 100% de ovulaciones (Ratto, 2005).

El cuerpo lúteo se desarrolla 3 a 4 días después de la inducción de la ovulación por la monta del macho, este cuerpo lúteo comienza secretar progesterona (Smith *et al.*, 1994). Si no ocurre la concepción, prostaglandinas son liberadas del útero e induce la regresión del cuerpo lúteo 10 a 12 días después de la monta (Adams *et al.*, 1990; Bravo, 1990).

Debido a que los camélidos sudamericanos son clasificados como ovuladores inducidos, las hembras requieren de un estímulo físico como la cópula (San Martin *et al.*, 1968) o la administración de hormonas con actividad semejante a la LH para la ovulación. Se evaluó el efecto de diferentes estímulos de monta para la inducción de ovulación en alpacas encontrando que la tasa de ovulación fue baja en las hembras que fueron montadas por otras hembras o aquellas montadas sin copulación y no hubo diferencia significativa de aquellas hembras que no recibieron ningún estímulo. Las hembras que fueron empadradas por un macho entero o vasectomizado ovularon en un 77 - 82%, indicando que la monta y la introducción del pene son necesarias para brindar una adecuada estimulación para la ovulación. (Fernandez-Baca, *et al.*, 1970b).

En alpacas y llamas se determinó que el folículo dominante ≥ 7 mm es el tamaño mínimo para que ocurra ovulación. Cuando se vio folículos pequeños (4 a 6 mm) hubo un incremento ligero en los niveles plasmáticos de LH (29.1



ng/mL/h) luego de la cópula, pero no ovularon. Los folículos en fase de crecimiento, estática y regresión (7 - 12 mm) tuvieron una mejor descarga de LH (62.4, 55.1, 63,7 ng/mL/h respectivamente). Además, se determinó que las llamas tengan mayor liberación de LH post-cópula comparado con la alpaca. Por el contrario, las concentraciones de FSH no fue afectado por la cópula que tuvo un promedio de 0.96 ng/mL en niveles plasmáticos. Otro dato de este experimento fue que los folículos que estaban en regresión llegaron a luteinizarse, mas no ovular. Esta estructura luteal formada tuvo una vida media de 5 días, por lo tanto, hubo un retraso del inicio de un nuevo folículo dominante de 5 a 7 días (Bravo *et al.*, 1991).

La elevación de los niveles de estradiol asociada al crecimiento folicular no es suficiente, como en los rumiantes, para provocar la descarga preovulatoria de LH. En camélidos sudamericanos, es la estimulación producida por el coito la que inicia el proceso de descarga de LH. Es así que las concentraciones de estradiol no varían durante las 18 horas posteriores a la cópula, tienden a declinar a las 22 horas y son significativamente menores alrededor de las 48 horas después de la cópula (Bravo *et al.*, 1990).

El intervalo entre la cópula y la ovulación es aproximadamente de 30 h (rango de 24 a 48 h) en la alpaca y la llama (Adams y Ratto, 2001; Huanca *et al.*, 2001; San Martín *et al.*, 1968). Adams *et al.*, (1990) observaron que el intervalo entre la cópula y la ovulación es bastante constante en las llamas, de tal forma que el 96% de los animales ovularon en el transcurso del segundo día posterior al coito y solamente un 4% lo hizo en el tercer día. No se ha observado ninguna influencia del tamaño del folículo dominante en el intervalo cópula-ovulación (Adams *et al.*, 1990; Sumar *et al.*, 1993). Sin embargo, se ha



comprobado que la velocidad de crecimiento del folículo dominante desde la monta hasta la ovulación depende del tamaño del mismo. Cuando su diámetro estaba comprendido entre 7 y 9 mm su crecimiento fue de 0,6 a 1 mm/día, mientras que los folículos con un diámetro entre 10 y 12 mm solamente crecían 0.2 mm/día (Adams *et al.*, 1990).

Durante los primeros días posteriores a la ovulación, las hembras pueden mostrar celo debido probablemente a que los niveles de progesterona secretados no son suficientes para ejercer un efecto inhibitorio en el eje hipotálamo – hipofisiario (Leyva y García, 1999).

Se han reportado ovulaciones espontáneas de 5%, siendo más frecuentes durante el postparto. No se conoce el mecanismo por el cual se producen, pero se mencionan como los estímulos físicos, auditivos, olfatorios o visuales causantes de dicho fenómeno (Fernandez-Baca, *et al.*, 1970b).

En la alpaca hembra, la tasa de ovulación depende de la dosis y el sitio de depósito del plasma seminal (Ratto *et al.*, 2005; Adams *et al.*, 2016). De hecho, la tasa de ovulación es del 0% después de una infusión de 1 mL en el cuerpo uterino (41% después de una infusión de 2 mL en las astas uterinas; 67% si se realiza un legrado endometrial antes del depósito intrauterino y 93% después de una inyección intramuscular). Estos hallazgos sugieren que la mucosa genital puede prevenir la absorción de β -NGF. En este sentido, la cópula en alpacas y llamas es un evento de 30 a 50 minutos de duración con una eyaculación intrauterina que sugiere que en el apareamiento natural, la absorción de β -NGF del plasma seminal probablemente se ve facilitada por la hiperemia del endometrio excoriado que resulta de la abrasión repetida del pene



(Ratto *et al.*, 2005; San-Martin *et al.*, 1968; Bravo *et al.*, 1990; Bravo *et al.*, 1996).

2.2.5 Factor Inductor de Ovulación (FIO)

Estudios recientes en llamas, alpacas (Ratto *et al.*, 2005; Adams *et al.*, 2005; Ratto *et al.*, 2010), y camellos bactrianos (Pan *et al.*, 2001) han documentado la presencia de un factor inductor de la ovulación (OIF) en el plasma seminal. El factor ha sido aislado y purificado del plasma seminal de llama y alpaca y ha sido identificado como Factor de Crecimiento Nervioso (β -NGF), y se ha demostrado que también tiene un efecto luteotrófico por infusión intrauterina o en llamas y alpacas (Silva *et al.*, 2015; Ratto *et al.*, 2005; Ratto *et al.*, 2016).

El plasma seminal es una secreción producida por los testículos y las glándulas accesorias, en el caso de la alpaca poseen próstata y bulbouretrales. Esta secreción se creía que solo era un simple vehículo de los espermatozoides. Sin embargo, se afirma que las proteínas, factores de crecimiento, hormonas y citocinas presentes en el plasma seminal pueden regular funciones importantes en los espermatozoides y en el sistema reproductor femenino (Juyena y Stelletta, 2012).

En china se realizó un estudio con camellos bactrianos en donde evidenciaron ovulación inducida en un 87% por el depósito de semen en la vagina en ausencia del macho, por lo tanto, concluyeron que existe un factor desconocido en el semen de los camellos bactrianos responsable de la ovulación y que no era necesario un estímulo mecánico como la monta (Chen *et al.*, 1985). Ríos *et al.*, (1989) inseminó intravaginalmente, depositando 2 mL



de semen de toro, 2 mL de semen de alpaca y 2 mL de plasma, induciendo la ovulación en un 53%, 66.7% y 7.6% respectivamente. También se encontró una tasa ovulatoria de 7.6% con plasma seminal de machos vasectomizados que sugirió la existencia de un factor inductor de la ovulación en el semen de alpaca y toro mas no en el plasma seminal de machos vasectomizados, pero si probablemente en el plasma seminal de machos enteros.

Paolicchi *et al* (1999) utilizaron el plasma seminal de alpaca para ver su efecto *in vitro* en células de la pituitaria de ratones y sugieren que algunos factores en el plasma seminal contribuyen a la liberación de LH. Además, mencionaron que dicho factor es una molécula diferente a la GnRH, porque al agregar anticuerpos anti - GnRH no modificó la secreción de LH. Bogle *et al* (2012) llegaron a similares conclusiones debido a que trabajaron con células de pituitaria de llama *in vitro* y afirmaron que el FIO ejerce un efecto directo en las gonadotrofas de la pituitaria. Sin embargo, otro trabajo *in vivo* en llamas buscó determinar si el efecto del FIO en la secreción de LH es mediada por la estimulación del hipotálamo o la hipófisis utilizando un antagonista de la GnRH (acetato de cetrorelix), resultando en una inhibición del pico preovulatorio de LH. Por lo tanto, se afirma que la acción del FIO es modulada de una manera directa o indirecta en las neuronas de la GnRH en el hipotálamo (Silva *et al.*, 2011).

El plasma seminal tiene una actividad biológica luteotrópica potente porque provoca una secreción plasmática de LH significativamente mayor comparado con animales inducidos a ovulación con GnRH (> 8h y 5.5h respectivamente), formando un cuerpo lúteo de mayor tamaño y duplicando la secreción de progesterona (Adams *et al.*, 2005). Estos resultados concuerdan



con Palián (2010) donde muestra el tamaño del cuerpo lúteo en el día 8 post-tratamiento, encontrando diferencias estadísticas entre los tratados con plasma seminal y GnRH ($15.2 \pm 1.1\text{mm}$ y $12.6 \pm 2.1\text{mm}$ respectivamente). Estos resultados sustentan porque se obtuvo mayor tasa de concepción en animales tratados con plasma seminal en comparación con GnRH, ya que una mayor secreción de progesterona podría contribuir a mejorar el ambiente uterino del embrión.

Ratto *et al* (2005) y Panez *et al* (2009) evaluaron si el FIO ejerce su efecto vía local o sistémica y si el sangrado a nivel uterino mejora la respuesta ovulatoria. Los resultados obtenidos fueron que su acción es vía sistémica, ya que se aplicó 2 ml de plasma seminal a nivel intramuscular y se comparó cuando se administra vía intrauterina, obteniendo tasas de ovulación de 93% y 41% respectivamente. Además, se realizó un curataje por 3 minutos de la mucosa uterina para simular el estímulo físico del macho al momento del empadre y se administró plasma seminal a nivel uterino, obteniendo tasas de ovulación superiores (67%) en comparación con la ausencia de curataje. Se entiende que la copulación por ser un estímulo físico lleva a un edema, hiperemia e inflamación del endometrio, con lo cual facilita la absorción del FIO (Bravo *et al.*, 1996).

Estudios realizados por Ratto *et al* (2010) determinaron que el FIO presente en el plasma seminal de llamas, tenía un componente proteico con una masa molecular de ≥ 30 kDa, con una gran capacidad de resistencia a la acción térmica y a la digestión enzimática con proteinasa K, además mencionaron que no era ni un esteroide, prostaglandina ni molécula similar a la GnRH. Una posterior investigación utilizó cromatografía líquida para aislar y purificar las



fracciones proteicas del plasma seminal de llamas, responsable del efecto ovulatorio en el eyaculado. Se encontró que el FIO es una molécula proteica de 14 kDa que provoca el pico preovulatorio de LH seguido de ovulación y formación del cuerpo lúteo en llamas (Ratto *et al.*, 2011).

Se realizó un estudio para determinar si la dosis del FIO purificado del plasma seminal de llama requerida para provocar una respuesta ovulatoria es fisiológicamente relevante en términos de la proporción presente en el eyaculado normal. Las llamas hembras fueron inyectadas intramuscularmente con dosis de 500 µg, 250 µg, 125 µg o 60 µg de FIO purificado (representativo de 1/25 a 1/200 de la cantidad presente del eyaculado normal) y se observó una alta incidencia de ovulación, cuerpos lúteos de mayor tamaño y altas concentraciones de progesterona en los animales tratados con dosis de 500 µg. La mínima dosis efectiva usada en el estudio fue de 125 µg de OIF purificado, equivalente a 1/100 de un eyaculado normal (Tanco *et al.*, 2011).

El factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal de los mamíferos se encuentra en diferentes concentraciones. Es por eso que estudios previos determinaron que en los toros (Ratto *et al.*, 2006), caballos y cerdos (Bogle *et al.*, 2011) y conejos (Silva *et al.*, 2011) inducen ovulación en 26%, 29%, 18% y 100% respectivamente, en llamas utilizadas en bioensayos. Por lo que se afirma que la concentración del FIO en animales de ovulación inducida, como los camélidos y conejos, es mucho mayor o ejerce una mayor potencia en comparación con animales de ovulación espontánea.

Kershaw-Young *et al* (2012) y Ratto *et al* (2012) trabajaron en alpacas y llamas, respectivamente y lograron identificar al factor inductor de ovulación



como una proteína de 13.2 KDa con 12-23 aminoácidos, lo cual es compatible con la neurotrofina conocida como Factor de Crecimiento Neural β (β -NGF). Este factor es la proteína más abundante en el plasma seminal de alpacas. El contenido proteico total en el plasma seminal de alpacas es de 40 mg/mL (Garnica *et al.*, 1993). En llamas cada eyaculado contiene aproximadamente 12 mg de FIO (Tanco *et al.*, 2011), por lo cual el NGF- β contribuye al 15 - 30% de la proteína total en el plasma de camélidos sudamericanos.

2.2.6 Cuerpo lúteo

Una vez producida la ovulación las células que formaban el folículo se transforman para formar el cuerpo lúteo y en lugar de estrógeno producirán progesterona. El pico de LH es responsable también del cambio celular: las células de la teca se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas y las células de la granulosa se hipertrofian dando lugar a las células luteales grandes (Hafez y Hafez, 2000). El cuerpo lúteo se puede apreciar 4 días después de la ovulación a través de ecografía tras rectal y se observará como una estructura de ecogenicidad media con una zona central muy ecogénica. Algunos cuerpos lúteos presentan una cavidad central (antro), no ecogénica, repleta de líquido cuyo diámetro oscila entre 3 a 8 mm (Adams *et al.*, 1991b). El cuerpo lúteo producirá progesterona cuyos niveles se incrementarán de 4 a 6 días después de la monta (Aba *et al.*, 1995; Sumar y García, 1986), y alcanzará su diámetro máximo (10 a 12 mm) 8 días después del coito, en ese tiempo también logrará su máxima producción de progesterona: 4,5 ng/ml aproximadamente (Aba *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 1991a). De no haber gestación el cuerpo lúteo empezará a regresar 8 ó 9 días después de la cópula, reduciéndose su tamaño a la mitad a los 12 días pos cópula, a su vez la



producción de progesterona va disminuyendo, alcanzando sus niveles más bajos 14 o 15 días después de la monta (Adams *et al.*, 1989; 1990; Fernandez-Baca *et al.*, 1970a; Sumar y Bravo, 1991), y en este caso, las hembras vuelven a mostrar receptividad sexual 12 a 14 días después de la última cópula. De haber preñez el cuerpo lúteo se mantiene durante toda la gestación.

La capacidad secretora del cuerpo lúteo es directamente proporcional a los niveles plasmáticos de progesterona o los niveles urinarios de glucoronato de pregnanodiol, ya que se ha comprobado que los cambios en las concentraciones de ambas sustancias son paralelos a las variaciones en el tamaño del cuerpo lúteo (England *et al.*, 1969; Fernandez-Baca *et al.*, 1970a). Niveles séricos de progesterona superiores a 0,32 ng/mL (1nmol/l) indican la existencia de un cuerpo lúteo funcional (Sumar *et al.*, 1988), sin embargo, Adams *et al.*,(1991b), propone que para poder afirmar esto, es necesario encontrar concentraciones séricas mayores a 2 ng/mL (6,4 nmol/l).

La presencia de un cuerpo lúteo funcional no interrumpe el crecimiento de un nuevo folículo dominante, pero el elevado nivel circulante de progesterona reduce el crecimiento folicular, así tenemos que, en presencia de cuerpo lúteo, el número de folículos en crecimiento y el diámetro máximo del folículo dominante se ve reducido, sin embargo, el intervalo entre oleadas no sufre ninguna modificación (Adams *et al.*, 1990).

2.2.7 Luteólisis

Se define al evento fisiológico por el cual desaparece el cuerpo lúteo, donde ocurre 2 eventos casi simultáneamente y son: la disminución en la producción de progesterona, considerado una luteólisis funcional, y la



involución del cuerpo lúteo, considerado una luteólisis estructural. Esta disminución en la producción de progesterona se debe a la disminución del flujo sanguíneo y disminución de la capacidad esteroidogénicas de las células luteales (Niswender *et al.*, 2000).

La prostaglandina F2 α (PGF2 α) es el principal agente luteolítico en los rumiantes causante de la regresión del cuerpo lúteo. Esta hormona es secretada de una manera pulsátil en alpacas no preñadas desde el endometrio hacia la circulación sistémica a través de las venas uterinas (Aba *et al.*, 2000). Además, se observó un hecho peculiar en los camélidos, en la cual la actividad luteolítica en el cuerno uterino derecho es local y afecta solamente al cuerpo lúteo ipsilateral, mientras que el cuerno uterino izquierdo tiene un efecto local y sistémico, afectado el cuerpo lúteo de ambos ovarios (Fernández-Baca *et al.*, 1979). Esta diferencia en la actividad luteolítica puede explicarse por una diferencia en la anatomía vascular del útero, ovarios y oviductos, donde se observó que en el 90% de las hembras la arteria uterina derecha es más gruesa y presenta ramificaciones que irrigan el cuerno izquierdo, mientras que la vena uterina izquierda presenta un diámetro superior. Ello ha llevado a sospechar de la existencia de conexiones arterio-venosas que permiten al cuerno izquierdo influir sobre la actividad funcional del ovario derecho (Del Campo *et al.*, 1996).

2.3 Anatomía del aparato reproductor de la alpaca macho

El pene es de tipo fibroelástico, mide de 35 a 40 cm de largo, es relativamente delgado y no se expande durante la erección. Presenta la forma de una “s” o flexura sigmoidea (Smith *et al.*, 1994). El glande del pene es largo (9 – 12 cm), y su punta presenta una proyección cartilaginosa, con una ligera rotación hacia la derecha. La desembocadura de la uretra se encuentra al costado de la estructura cartilaginosa. La



curvatura natural del proceso cartilaginoso del pene del camélido permite la penetración de los anillos cervicales (Johnson, 1989).

El forro prepucial es de forma triangular con el orificio dirigido hacia atrás, por lo cual, la micción se efectúa en dicha dirección, en posición similar a la de la hembra. El prepucio se adhiere al glande del pene hasta los 2 ó 3 años de edad haciendo imposible la protrusión del pene en animales jóvenes (Fowler, 1998). El prepucio tiene bien desarrollado el aparato muscular, conformado por los músculos craneal, lateral y caudal los cuales durante la erección, permiten proyectar el pene bajo el vientre, como ocurre en otros rumiantes (Tibary y Anouassi, 1997).

Los testículos son órganos pares, de forma ovoide. Se encuentran en las bolsas escrotales localizadas en la región perineal a nivel del arco isquiático y no son pendulantes (Sumar, 1985); ambos testículos por lo general tienen el mismo tamaño. En la alpaca adulta, el peso promedio es de 18 g y mide de 3,5 a 4,5 cm de largo por 2 a 3 cm de ancho (Novoa y Leyva, 1996).

Macroscópicamente, el epidídimo presenta tres porciones bien diferenciadas: la cabeza, relativamente voluminosa, que se inserta en la parte posterior del testículo; la porción intermedia o cuerpo, de forma aplanada, y la cola o porción terminal. La parte posterior, próxima a la uretra, muestra cierto engrosamiento. La longitud total del conducto es de 40 cm (Novoa y Leyva, 1996).

Los espermatozoides son producidos en los testículos, pero su maduración se realiza en la cabeza y el cuerpo del epidídimo, mientras que su almacenamiento se produce en la cola (Bearden y Fuquay, 1982).

Las alpacas y llamas presentan dos glándulas accesorias: la próstata y las glándulas bulbo uretrales. La próstata está ubicada dorsalmente al cuello de la vejiga



y es normalmente descrita como una pequeña glándula en forma de H (3 cm x 3cm x 2 cm). Consta de un cuerpo con dos lóbulos unidos entre sí, que están próximos al primer segmento de la uretra; presenta adicionalmente, una porción diseminada que penetra en el músculo uretral. Las glándulas bulbo uretrales son pares, de forma ovoide, y están ubicadas a 7 u 8 cm de la próstata y lateralmente a la uretra, en la salida pélvica. Cada glándula tiene un promedio de 2 cm de diámetro (Tibary y Anouassi, 1997).

Las glándulas sexuales accesorias de la llama están constituidas por la próstata y las glándulas bulbouretrales, en los camélidos no hay glándulas vesiculares o vesículas seminales (Bravo *et al.*, 2000)

El testículo está constituido básicamente por los túbulos seminíferos en los que se encuentran las células de Sertoli y las células de la línea germinal, y por el tejido intersticial donde se encuentran las células de Leydig productoras de testosterona. Su desarrollo está ligado tanto a la producción de espermatozoides y de testosterona por el mismo, como el desarrollo del mismo animal. La testosterona es una hormona esteroide producida por las células Leydig del testículo bajo el estímulo de la gonadotropina hipofisaria LH. Sus funciones son promover el crecimiento, desarrollo y actividad secretora de los órganos sexuales accesorios como: próstata, glándulas vesiculares, glándulas bulbouretrales, conducto deferente y genitales externos (pene y escroto), así como estimular las últimas etapas de la espermatogénesis y prolongar la vida de los espermatozoides en el epidídimo (Mortimer y Lincoln, 1982).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ámbito experimental

El presente estudio se realizó durante los meses de enero a abril del 2018, en el Centro Experimental (C.E.) “La Raya” de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, ubicado en el distrito de Santa Rosa, provincia de Melgar, región de Puno, ubicado en el kilómetro 202 de la carretera Puno – Cusco a una altitud entre 4 136 m s.n.m. (Araranca) y los 5 470 m s.n.m. (Chimboya) en sus dos zonas (alta y baja), entre las coordenadas geográficas de 14° 13'33'' latitud sur y a 70° 57'12'' longitud oeste. El clima que presenta esta zona es variado, registrándose temperaturas de 14.16 °C como máximo en los meses de octubre y noviembre, y una mínima de -14.88 °C esto en los meses de junio y julio, siendo la temperatura media de 6.20 °C y una precipitación pluvial de 525.7 mm con alta evaporación promedio anual (SENAMHI, 2012).

3.2 Material experimental

3.2.1 Animales

Del núcleo de reproductores del C.E. La Raya, se seleccionaron seis machos adultos que hayan participado en campañas de empadre anteriores (con experiencia y buena libido “dominantes”), con capacidad reproductiva comprobada a través de su registro. Un mes antes del empadre a todos se evaluó su comportamiento sexual y se les examinó clínicamente la sanidad de los órganos reproductores. De los seis machos, tres fueron castrados y tres vasectomizados y antes del inicio del experimento se comprobó en varias ocasiones su libido sexual y la ausencia de espermatozoides en el plasma seminal obtenido por electro eyaculación.



Se seleccionaron de manera aleatoria 45 hembras de la raza Suri adultas, con antecedentes de partos previos, sin cría (vacías) al pie y sin problemas reproductivos aparentes, y en celo con presencia de un folículo preovulatorio $\geq 7\text{mm}$ de diámetro verificado mediante ecografía transrectal.

3.3 Instalaciones materiales y equipos

3.3.1 Instalaciones:

Canchas de pastoreo: Se contó con potreros destinados tanto para machos como hembras, bajo pastoreo extensivo y su alimentación con pasturas naturales.

Box o cubiles de empadre: Se utilizó paneles metálicos, armando 8 boxes (6 x 3m cada uno) y un pasaje entre ellos para la circulación y movimiento de los animales durante el empadre. Se utilizaron los siguientes materiales: Paneles de metal, alambres, estacas de maderas, combo, alicates, etc.

Brete para ecografía: Para realizar las ecografías, se adecuó el brete de pesaje del galpón de esquila del Centro Experimental para este fin.

Laboratorio de Reproducción: Se adaptó el laboratorio de reproducción del C.E. La Raya para realizar la vasectomía y la castración, así como la obtención de plasma seminal por electro eyaculación de los machos y su evaluación. Todas las instalaciones estuvieron cercanas al caserío del Centro experimental.

3.3.2 Materiales y equipos

Para la castración y vasectomía, Se utilizó una mesa adaptada para la cirugía, equipo de cirugía, sogas para sujeción, anestésico y tranquilizante (Ketamina, Lidocaína al 2%, Xilacina), antibiótico (Estreptomicina-penicilina), solución para asepsia, algodón, catgut, guantes quirúrgicos, etc. **Para el empadre,** en la identificación de los animales se utilizó pintura esmalte de varios colores y

números metálicos (marcadores), y para el registro de los datos del empadre se usó libreta de campo, cronómetro.

Para la evaluación del fluido del eyaculado (plasma seminal) y su conservación, se utilizó un electroeyaculador (Minitube), microscopio (LEICA DM 2000), platina con regulador de temperatura (LT), baño María en seco (South west Science), micropipeta de 10 a 100ul (BOECO), láminas porta y cubre objetos, refrigerador-congelador, tubos falcon, colorante eosina – nigrosina.

Para la inseminación artificial, se utilizó un proctoscopio de uso humano, adaptado con fuente de luz, como espéculo vaginal, pipetas de inseminación, jeringa, tubos falcon, guantes obstétricos.

Para la evaluación ecográfica de folículos pre ovulatorios y cuerpo lúteo, Se utilizó el Ecógrafo (Madison) con transductor de 5 MHz, guantes de palpación rectal u obstétricos, guantes exploración, gel para ecografía, papel toalla.

3.4 Metodología experimental.

3.4.1 Diseño experimental

Una vez evaluados los machos (vasectomizados y castrados), se obtuvo plasma seminal por electro eyaculación, verificado y detectado el celo en las hembras (con folículo preovulatorio \geq a 7mm) mediante receptividad al macho; las 45 hembras fueron distribuidas aleatoriamente en forma equitativa (n=15) de acuerdo al tipo de copulación en el siguiente diseño experimental.

Tabla 1. Distribución de alpacas hembras según grupo experimental

Grupo	Tratamiento	N° de Animales
G1	Cópula con Macho castrado	15
G2	Cópula con Macho vasectomizado	15
G3	Sin cópula + IA con Plasma seminal	15

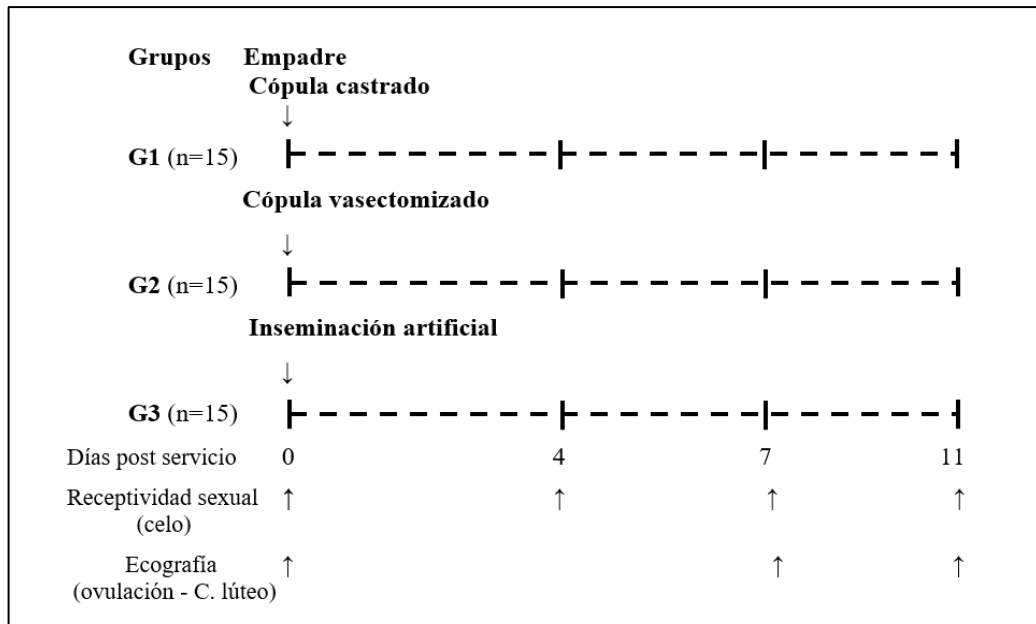


Figura 1. *Diseño experimental*

En los grupos G1 y G2 cada hembra recibió cópula efectiva por 15 minutos como mínimo de machos castrados y vasectomizados respectivamente. G2 fue el referente de comparación de G1. Las hembras de G3 no recibieron copula y a cada una se le depositó 3cc de plasma seminal en el cuerpo del útero vía infusión (inseminación artificial) y fue el referente de comparación de G2.

3.4.2 Obtención del plasma seminal

El plasma seminal fue obtenido a partir de los 3 machos vasectomizados mediante electro eyaculación (Giuliano *et al.*, 2008), la colección fue realizado dos o tres veces por semana durante un mes antes del inicio del experimento; obteniendo un volumen aproximado de 50 mL de eyaculado. El plasma seminal se almacenó en tubos Falcón de 15 y 30mL para luego ser llevado a congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso.



3.4.3 Prueba de receptividad y evaluación ecográfica para detectar celo

Las hembras seleccionadas en celo, con presencia de folículos $\geq 7\text{mm}$ verificado ecográficamente, fueron distribuidas equitativamente ($n=15$) a cada grupo experimental según corresponda.

3.4.4 Copulación ó Infusión de plasma seminal (Inseminación Artificial)

Copulación. - Comprobado el celo y la presencia del folículo preovulatorio, se expuso la hembra al macho (castrado o vasectomizado), para la cópula respectiva según el grupo experimental, verificándose la penetración del pene a la vagina (cópula efectiva), y el tiempo mínimo de cópula.

Infusión de plasma seminal (Inseminación Artificial). - Con la ayuda de un proctoscopio de uso humano, adaptado con fuente de luz, como espéculo, se ubicó el cérvix, (en Hanzen *et al.*, 2014) y con una pipeta de Inseminación artificial se depositó el plasma seminal (3cc) a nivel uterino.

3.4.5 Diagnóstico de ovulación y presencia de cuerpo lúteo

La ocurrencia de la ovulación se determinó: el día 4 poscópula mediante receptividad al macho (considerando que ovuló, si rechaza al macho), el séptimo día poscópula mediante ecografía transrectal de los ovarios al observar la presencia del cuerpo lúteo, verificándose con su comportamiento sexual frente al macho. Con la misma metodología se verificó la presencia o ausencia del Cuerpo lúteo al onceavo día post cópula.

3.5 Análisis estadístico

La tasa de ovulación, receptividad sexual y permanencia del cuerpo lúteo de los grupos experimentales fue expresada en porcentaje y analizada mediante la prueba estadística de Ji – cuadrada, cuya fórmula es la siguiente:



$$X_c^2 = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^r \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \sim X_{(k-1)(r-1)}^2$$

Dónde:

X_c^2 = Valor calculado de Ji cuadrado

o_{ij} = Valor observado

e_{ij} = Valor esperado

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del efecto de la copulación *per se* en la ovulación en alpacas.

a. A los 4 días poscópula.

La tabla 2 y 3 muestran la receptividad observada en alpacas que fueron sometidas a cópula con macho castrado vs machos vasectomizado y macho vasectomizado vs infusión de plasma seminal, el día 4 post cópula.

Tabla 2. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2 sobre la ovulación, mediante receptividad al macho el día 4 post cópula.

Receptividad	G1		G2		Total	
	n	%	n	%	n	%
Acepta	14	93.3	15	100.0	29	96.7
Rechaza	1	6.7	0	0.0	1	3.3
Total	15	100.0	15	100.0	30	100.0

($p > 0.05$)

Tabla 3. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho el día 4 post cópula.

Receptividad	G2		G3		Total	
	n	%	n	%	n	%
Acepta	15	100.0	15	100.0	30	100.0
Rechaza	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Total	15	100.0	15	100.0	30	100.0

En la tabla 2, se muestra los resultados a la evaluación de la receptividad al cuarto día poscópula, donde en G1 (castrado) se muestra una receptividad al macho de 93.3% frente a G2 (vasectomizado) que muestran receptividad al macho del

100%, mientras que en la tabla 3, tanto G2 como G3 (infusión con plasma seminal) presentan una receptividad al macho del 100%, resultados que sometidos a la prueba de Chi cuadrado, muestran ausencia de significancia entre tratamientos ($p > 0.05$) (Tabla 1, de Anexos). Esto debido a que en la mayoría de alpaca después de la cópula continúan presentando celo hasta alrededor del día 4 después de la ovulación (Leyva y García, 1999; Fernández-Baca y Novoa, 1968) sin embargo, en G1 se muestra un rechazo al macho del 6.7% (1/15) (figura 2), según Leyva y García (1999) relatan que después del día 3 en un porcentaje razonable de alpacas existe el establecimiento y desarrollo de un cuerpo lúteo completamente funcional y se sugiere que después del día 4 posovulación los niveles de progesterona son adecuados para ejercer el efecto inhibitorio en la presentación del celo y el comportamiento de rechazo de la alpaca hembra al macho, explicaría el efecto luteotrópico, algunos autores reportan niveles inferiores a 1ng/mL que aparentemente aun no tienen efecto supresor sobre el desarrollo folicular en camélidos sudamericanos (Ulloa-leal *et al.*, 2014). De igual forma Aba *et al.*, (1995) registró un aumento significativo de progesterona el día 4 después del apareamiento.

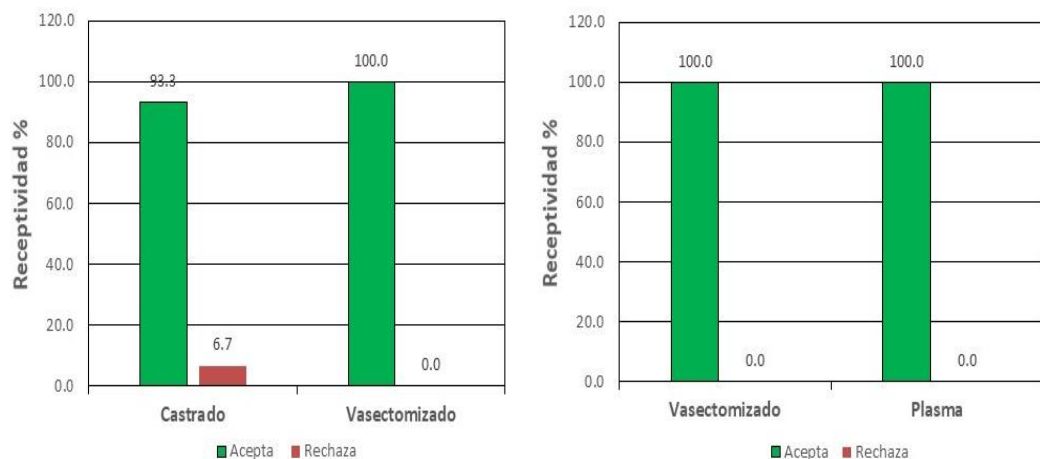


Figura 2. Porcentaje de receptividad al macho al 4 día poscópula

b. A los 7 días poscópula.

La tabla 4 muestra la receptividad al macho y la presencia o ausencia de cuerpo lúteo observada en alpacas que fueron sometidas a cópula con machos castrados vs machos vasectomizados evaluada el día 7 poscópula.

Tabla 4. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2, sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 7 poscópula

			Receptividad			Cuerpo lúteo		
			Acepta	Rechaza	Total	Si	No	Total
Copulación	G1	n	11	4	15	4	11	15
		%	73.3	26.7	100	26.7	73.3	100
	G2	n	1	14	15	14	1	15
		%	6.7	93.3	100	93.3	6.7	100
Total	n	12	18	30	18	12	30	
	%	40.0	60.0	100	60.0	40.0	100	

Los resultados muestran que el comportamiento de las hembras frente al macho (acepta o rechaza) son coherentes con la presencia o ausencia de cuerpo lúteo al 7mo día poscópula, confirmando que la receptividad al macho es un buen método y muy confiable para el diagnóstico de ovulación a este momento.

Se puede evidenciar en los resultados de la evaluación de la ovulación a través de la presencia de CL (observación a la ecografía), y respaldado mediante la prueba de receptividad al macho, donde el grupo castrado (G1) tuvo una tasa de ovulación de 26.7% (4/15), mientras que el grupo vasectomizado (G2) tuvo una tasa de ovulación de 93.3% (14/15) (figura 3). Estos resultados contrastados a la prueba estadística de Chi cuadrado reflejaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (tabla 2 del anexo). Estos resultados indican que cópulas con machos castrados vs vasectomizado aparte de ser grupos independientes, influyen en la tasa de

ovulación. Donde el grupo G1 si bien es cierto mostro un menor porcentaje de ovulación que G2, resultado que puede ser atribuido a la falta del FIO en el plasma de los machos castrados respecto a los machos vasectomizados, sin embargo ese bajo porcentaje de ovulación en G1 nos estaría indicando que existe otra causa no atribuible al FIO responsable de esa ovulación, que podríamos atribuirle a la fricción de la copulación *per se*, sobre la mucosa uterina, como un acto reflejo que influiría sobre el hipotálamo. Respecto al comportamiento sexual en los machos como es el deseo de copular o libido se manifestó en ambos casos castrados y vasectomizados, comportamiento atribuido a la testosterona hormona que probablemente existe en mayor cantidad en los machos vasectomizados en comparación a los castrados (Novoa y Leyva, 1996), en estos últimos la testosterona provendría de la corteza adrenal, y su comportamiento estaría asociado a la experiencia previa en campañas anteriores.

Por otro lado, la tabla 5 muestra la receptividad al macho y la presencia o ausencia de cuerpo lúteo observada en alpacas que fueron sometidas a cópula con machos vasectomizados (G2) vs infusión de plasma seminal en el útero (G3), sobre la ovulación en alpacas evaluada el día 7 poscópula.

Tabla 5. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 7 poscópula

			Receptividad			Cuerpo lúteo		
			Acepta	Rechaza	Total	Si	No	Total
Copulación	G2	n	1	14	15	14	1	15
		%	6.7	93.3	100	93.3	6.7	100
	G3	n	12	3	15	3	12	15
		%	80.0	20.0	100	20.0	80.0	100
Total	n	13	17	30	17	13	30	
	%	43.3	56.7	100	56.7	43.3	100	

En esta tabla también se puede evidenciar la correspondencia entre la receptividad al macho y la presencia de cuerpo lúteo.

En los resultados se puede apreciar que el grupo vasectomizado (G2) tuvo una tasa de ovulación (93.3% ;14/15) superior a infusión de plasma seminal (G3) (20% ;3/15) evidenciado a través de la presencia de CL (observación a la ecografía), y respaldado mediante la prueba de receptividad al macho, (figura 3). Resultados que contrastados a la prueba estadística de Chi cuadrado reflejaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (tabla 3 del anexo).

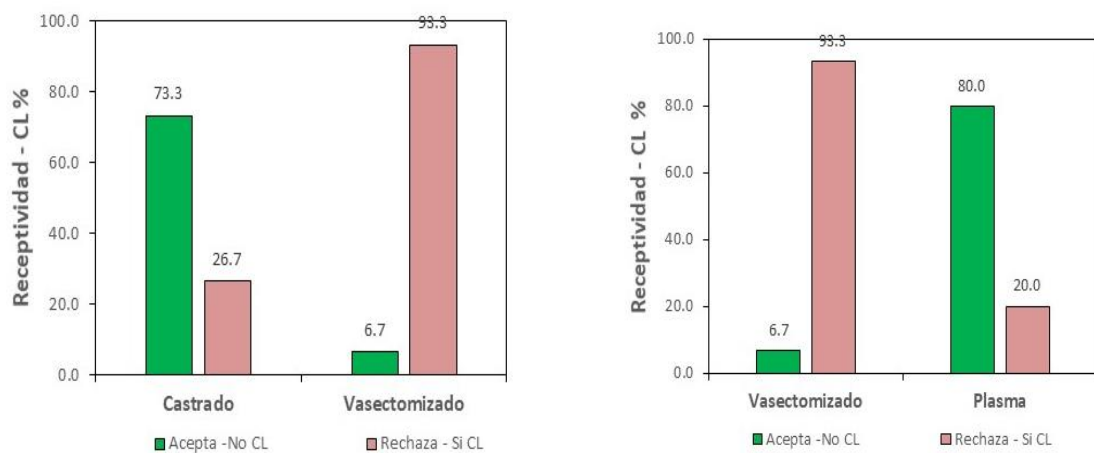


Figura 3. Porcentaje de receptividad al macho – presencia de cuerpo lúteo el 7 día poscópula

Estos resultados nos indicarían que en el grupo G3, la infusión del plasma seminal al útero por la técnica de inseminación artificial, si bien este plasma contendría el FIO necesario para la ovulación, sin embargo este FIO no habría atravesado el endometrio hacia el torrente sanguíneo en cantidad suficiente e influir en el hipotálamo y desencadenar el proceso de la ovulación, efecto que si se habría dado en el grupo G2 (vasectomizado), donde la fricción en el endometrio causando la inflamación de este (Bravo *et al.*, 1996), a causa de la copulación, por parte del



macho vasectomizado, habría facilitado el ingreso del FIO presente en su plasma seminal al torrente sanguíneo e influir en el hipotálamo desencadenando la ovulación.

Ratto *et al.*,(2005) reportaron una tasa de ovulación de 41% por infusión intrauterina de plasma seminal, superior al presente estudio, superioridad que podría deberse a que se administró el plasma seminal a nivel de cada cuerno uterino (1cc en cada uno), frente a la deposición del plasma seminal a nivel del cuerpo uterino (3cc). Por otro lado, resultados similares son reportados por Panéz *et al.*,(2009) en alpacas al administrar el plasma seminal intrauterinamente (n = 16) mediante la técnica recto-cervical, depositando en cada cuerno media dosis del plasma seminal (dosis =1.5 ml), para ello utilizó una pipeta para tratamientos uterinos en vacas, la que introdujo a uno de los cuernos uterinos, depositando la mitad de la dosis de plasma seminal, luego retrajo la pipeta y sin retirarla totalmente, se reintrodujo en el otro cuerno uterino para depositar la dosis restante donde obtuvo una tasa de ovulación de 37.5% (6/16). La variabilidad en estos reportes podrían explicarse como resultado del grado de manipulación y fricción de los cuernos uterinos como estímulos físicos favoreciendo el pasaje del FIO a la circulación sanguínea para desencadenar la ovulación, y que según Adams *et al.*, (2016) la tasa de ovulación depende de la dosis y el sitio de depósito del plasma seminal.

Asimismo, Silva *et al.*,(2015) reportaron resultados en llamas, después de la administración intrauterina de factor de crecimiento del nervio β (β -NGF) de plasma seminal SP-NGF (Factor neurotrópico Beta de plasma seminal purificado de llamas), en un primer experimento, administró 2 mg de SP-NGF en un volumen de 2 ml mediante infusión intrauterina (n = 7) donde la tasa de ovulación fue de 0%, realizaron un segundo experimento, para determinar si



una dosis más alta de SP-NGF, similar a una cópula natural, provocaría una respuesta ovulatoria, planteándose tres tratamientos vía infusión intrauterina: (1) 4 ml de plasma seminal crudo, (2) 4 ml de PBS conteniendo 20 mg de SP-NGF de llama purificada, y (3) un control 4ml de PBS, reportándose una tasa de ovulación del 100% para las llamas tratadas con plasma seminal crudo o SP-NFG de llama, concluyeron que el β -NGF del plasma seminal de llama provoca un pico de LH preovulatorio, seguido de ovulación y desarrollo de un CL funcional, independientemente de la vía de administración y que la dosis requerida es mayor para provocar respuestas hipofisarias y ováricas, cuando se administra por infusión intrauterina que por vía intramuscular o intravenosa. En un trabajo similar al primer experimento, Adams *et al.*, (2005) administraron 1 ml de plasma seminal de alpaca diluido por infusión intrauterina ($n = 14$), donde no se detectó ovulación ni desarrollo lúteo en ninguno de los grupos de tratamiento intrauterino. De estos reportes se desprende que la dosis administrada por infusión de plasma crudo (3ml) en el presente trabajo fue relativamente baja por lo que se generó una baja tasa de ovulación (20%) independientemente que se pudo haber mejorado si se realizaba un legrado del epitelio uterino que hubiera mejorado la absorción del β -NGF, como lo sucedido con el grupo de vasectomizados (93.3%).

Fernández-Baca *et al* (1970b), reportaron una tasa de ovulación de 77 a 82% en hembras que fueron empadradas con macho entero; Adams et al., (2005), reportaron que a la infusión intrauterina de 1ml de plasma no se logró ovulaciones; por otro lado Ratto *et al.*, (2005) reportaron 67% de ovulación cuando se administró plasma seminal por infusión intrauterina después de hacer un legrado del endometrio, indicando que la monta y la introducción del pene son necesarias para brindar una adecuada estimulación para la ovulación.

Estos reportes nos permiten explicar que en el presente estudio, al observar los resultados en el grupo G1 (castrado), donde ocurre laceración del endometrio pero sin presencia del β -NGF (efecto físico), se observó una baja ovulación, similar respuesta se observó en el G3 (infusión de plasma en el útero), donde hay presencia del β -NGF (efecto químico) pero no hubo lesión del endometrio que favorezca su absorción, y al combinar estos dos efectos como ocurre en G2 (vasectomizados) donde se tiene presente el β -NGF y ha ocurrido la lesión del endometrio se mejoró la ovulación grandemente, deduciendo que hay un efecto mínimo en G1 y G3 que ayudan a la ovulación.

c. A los 11 días poscópula.

Las tablas 6 y 7 muestran la receptividad y presencia de cuerpo lúteo observada en alpacas que fueron sometidas a cópula con macho castrado vs machos vasectomizado y macho vasectomizado vs infusión de plasma seminal, el día 11 poscópula.

Tabla 6. Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2 sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 11 poscópula

			Receptividad			Cuerpo Lúteo		
			Acepta	Rechaza	Total	Si	No	Total
Copulación	G1	n	15	0	15	0	15	15
		%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100
	G2	n	15	0	15	0	15	15
		%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100
Total	n	30	0	30	0	30	30	
	%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100	

Tabla 7. Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo el día 11 poscópula.

			Receptividad			Cuerpo lúteo		
			Acepta	Rechaza	Total	Si	No	Total
Copulación	G2	n	15	0	15	0	15	15
		%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100
	G3	n	15	0	15	0	15	15
		%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100
Total	n	30	0	30	0	30	30	
	%	100.0	0.0	100	0.0	100.0	100	

En los resultados de la evaluación se observa que el 100% de hembras de los tres grupos experimentales se muestran receptivas al macho (figura 4), comportamiento corroborado por la ausencia de cuerpo lúteo, esto explica que, si la cópula no fue fértil, la alpaca retornará en celo a los 13 – 14 días poscópula, considerando que las hembras con niveles inferiores a 0.9 nmol/L de progesterona aceptan macho (Sumar *et al.*, 1987). Efecto que se esperaría a este momento dado que los machos (castrado, vasectomizado) y el plasma utilizado en la infusión, no presenta espermatozoides responsables de la fecundación, por lo que no se da lugar el reconocimiento materno de la preñez, y se desencadena el proceso de la luteólisis, con la liberación de las prostaglandinas por parte del endometrio uterino que induce la regresión del cuerpo lúteo 10 a 12 días después de la monta (Adams *et al.*, 1990; Bravo, 1990). Por otro lado Adams *et al.*, (2005) reportaron en llamas que después de la administración intramuscular de plasma seminal, las concentraciones plasmáticas de progesterona se elevaron el día 6, fueron máximas el día 9 y estuvieron en el punto más bajo el día 12, por consiguiente el comportamiento de aceptación al macho, explicaría el efecto de la luteólisis.

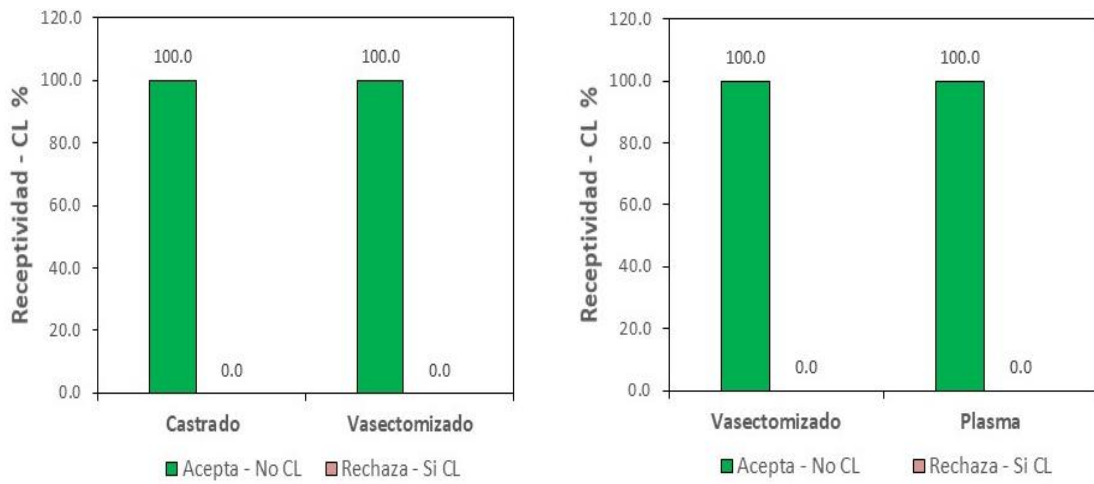


Figura 4. Porcentaje de receptividad al macho – presencia de cuerpo lúteo el 11 día poscópula.



V. CONCLUSIONES

- El efecto de la copulación sobre la ovulación evaluado a los 4 días poscópula, solo por receptividad al macho, evidencio una ovulación de 6.7% (rechazo al macho) en el grupo castrado vs 0% en vasectomizado ($P>0.05$), no observándose ovulación en los otros grupos.
- El efecto de la copulación sobre la ovulación evaluado a los 7 días poscópula, por receptividad al macho y corroborado con la presencia de cuerpo lúteo, evidencio una ovulación de 93.3% en el grupo vasectomizado vs 26.7% en el grupo castrado ($P<0.05$), y de 93.3% vs 20% en los grupos vasectomizado e infusión de plasma seminal al útero ($P<0.05$).
- El efecto de la copulación sobre la ovulación evaluado a los 11 días poscópula, por receptividad al macho y presencia de cuerpo lúteo fue el esperado en todos los grupos 100% de aceptación al macho y 0% de presencia de cuerpo lúteo.
- El efecto físico de la copulación con macho castrado, como el efecto químico (β -NFG) de la infusión de plasma seminal al útero mostraron una tasa de ovulación baja, mientras que ambos efectos (físico y químico) en vasectomizados, mejoraron grandemente la ovulación.



VI. RECOMENDACIONES

- En trabajos similares usar machos con experiencia en varias campañas para evaluar el efecto de la castración.
- Experiencia y facilidad del operador en la técnica de la inseminación o infusión de plasma seminal en alpacas.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba, M. A., Forsberg, M., Kindahl, H., Sumar, J., & Edqvist, L. E. (1995). Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36(4), 489–498.
- Aba, M. A., Kindahl, H., Forsberg, M., Quiroga, M., & Auza, N. (2000). Levels of progesterone and changes in prostaglandin F(2 α) release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Animal Reproduction Science*, 59(1–2), 87–97. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00068-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00068-3)
- Adams, G. P., Griffin, P. G., & Ginther, O. J. (1989). In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biology of Reproduction*, 41(3), 551–558.
- Adams, G. P., Sumar, J., & Ginther, O. J. (1990). Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fertil., Volume 90:*, 535–545.
- Adams, Gregg p, Sumar, J., & Ginther, O. J. (1991). Form and function of the corpus luteum in llamas. *Animal Reproduction Science*, 24(1–2), 127–138. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(91\)90088-H](https://doi.org/10.1016/0378-4320(91)90088-H)
- Adams, Gregg P, Sumar, J., & Ginther, O. J. (1991). Hemorrhagic ovarian in llamas. *Theriogenology*, 35(3), 557–568.
- Adams, G., & Ratto, M. (2001). Reproductive biotechnology in South American camelids. *Rev Inv Vet, Perú Supl, 1*, 134–141.
- Adams, Gregg P., Ratto, M. H., Huanca, W., & Singh, J. (2005). Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biology of Reproduction*,



73(3), 452–457.

- Adams, G. P., Ratto, M. H., Silva, M. E., & Carrasco, R. A. (2016). Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) in seminal plasma: a review and update. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 4–17.
- Aller, J. F., Cancino, A., Rebuffi, G., & Alberio, R. (1999). Inducción de la ovulación en llamas. In *Libro de Resúmenes Del II Congreso Mundial Sobre Camélidos. Cusco. p (Vol. 91)*.
- Arthur, G. (1991). *Reproducción y obstetricia en veterinaria (Teriogenologia)*. 1° Edición. Editorial Interamericana. 1° Edición, 6–8.
- Bearden, H. J., & Fuquay, J. W. (1982). Reproducción animal aplicada. 1° Ed. México: *Manual Moderno*, 185.
- Bogle, O. A., Ratto, M. H., & Adams, G. P. (2011). Evidence for the conservation of biological activity of ovulation-inducing factor in seminal plasma. *Reproduction*, 142(2), 277–283.
- Bogle, O. A., Ratto, M. H., & Adams, G. P. (2012). Ovulation-inducing factor (OIF) induces LH secretion from pituitary cells. *Animal Reproduction Science*, 133(1–2), 117–122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.06.006>
- Bourke, D. A., Adam, C. L., Kyle, C. E., McEvoy, T. G., & Young, P. (1992). Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In *Proceedings 12th International Congress on Animal Reproduction*, 1, 193–195.
- Bravo, P. W., & Sumar, J. (1989). Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Animal Reproduction Science*, 21(3–4), 271–281.
- Bravo, P. W. (1990). Studies on ovarian dynamics and response to copulation in the South



- American camelids *Lama glama* and *Lama pacos*. *Thesis Ph. D University of California, Davis USA*.
- Bravo, P. W., Fowler, M. E., Stabenfeldt, G. H., & Lasley, B. (1990). Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology*, *33*, 891–899.
- Bravo, P. W., Stabenfeldt, G. H., Lasley, B. L., & Fowler, M. E. (1991). The Effect of Ovarian Follicle Size on Pituitary and Ovarian Responses to Copulation in Domesticated. *Biology of Reproduction*, *55*(9), 553–559.
- Bravo, P. W., Moscoso, J., Ordoñez, C., & Alarcon, V. (1996). Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. *Animal Reproduction Science*, *43*(2–3), 173–179.
- Bravo, P. W., Skidmore, J. A., & Zhao, X. X. (2000). Reproductive aspects and storage of semen in camelidae. *Animal Reproduction Science*, *62*(1–3), 173–193.
- Bustinza, V. (2001). La alpaca: conocimiento del gran potencial andino: Libro 1. *Puno: Oficina de Recursos Del Aprendizaje–Sección Publicaciones UNA*.
- Chen, B. X., Yuen, Z. X., & Pan, G. W. (1985). Semen-induced ovulation in the bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Reproduction*, *73*, 335–339.
- Del Campo, M. R., Del Campo, C. H., & Ginther, O. J. (1996). Vascular provisions for a local utero-ovarian cross-over pathway in new world camelids. *Theriogenology*, *46*(6), 983–991. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(96\)00262-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(96)00262-2)
- El-Wishy, A. B. (1992). Functional morphology of the ovaries of the dromedary camel. *Proc. 1st Camel Int. Conf. Dubai, UAE*, 149–1545.
- England, B. G., Foote, W. C., Matthews, D. H., Cardozo, A. G., & Riera, S. (1969). Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *The Journal of Endocrinology*, *45*(4), 505–513. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0450505>



- Fernández-Baca, S., & Novoa, C. (1968). Conducta sexual de la alpaca (*Lama pacos*) en empadre a campo. *Mem. Asoc. Lainoamer. Prod. Anim.*, 3, 7–20.
- Fernandez-Baca, S., Hansel, W., & Novoa, C. (1970). Embryonic Mortality in the Alpaca. *Biology of Reproduction*, 3, 243–251.
- Fernandez-Baca, S., Madden, D. H. L., & Novoa, C. (1970). Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *Journal of Reproduction and Fertility*, 22(2), 261–267.
- Fernández-Baca, S., Sumar, J., Novoa, C., & Leyva, V. (1973). Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 2, 131–135.
- Fernández-Baca, S., Hansel, W., Saatman, R., Sumar, J., & Novoa, C. (1979). Differential luteolytic uterine horns effects of right and left in the alpaca in for losses during extraction. *Biology Of Reproduction*, 20, 586–595.
- Fernández-Baca, Saul. (1993). Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Animal Reproduction Science*, 33(1–4), 307–323.
- Fernández Baca, S. (2005). Situación Actual De Los Camélidos Sudamericanos En Perú. *Proyecto de Cooperación Técnica En Apoyo a La Crianza y Aprovechamiento de Los Camélidos Sudamericanos En La Región Andina TCP/RLA/2914, Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación, FAO*, 1–62.
- Fowler, M. E. (1998). Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuna, guanaco (No. Ed. 2). *Iowa State University Press*.
- Franco, E., Sumar, J., Varela, M., 1981. Eyaculacion en la alpaca (*Lama paces*). Resumenes IV Convention Intemacional sobre Camelidos Sudamericanos. Punta



- Arenas, Chile.
- Galina, C., & Valencia, J. (2008). Reproducción de los Animales Domésticos. Tercera Edición. *Editorial Limusa. México*, Pag, 219-282.
- Garnica, J., Achata, R., & Bravo, P. W. (1993). Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Animal Reproduction Science*, 32(1–2), 85–90. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90059-Z](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90059-Z)
- Gigli, I., Russo, A., & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*, 8(1), 183–203.
- Giuliano, S., Director, A., Gambarotta, M., Trasorras, V., & Miragaya, M. (2008). Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*, 104(2–4), 359–369. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.016>
- Hafez, E. S. E., & Hafez, B. (2000). *Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima Edición. Editorial Mc Grawll interamericana. México.*
- Hanzen, C., Cucho, H., Ampuero, E., Ordóñez, C., & Sumar, J. (2014). *Principios de la reproducción de los camélidos sudamericanos. Ira Edición. Fundación Universitaria para La Investigación, Desarrollo, Ciencia y Cultura. San Antonio Abad Del Cusco (FUNSAAC).*
- Huanca, W., Cárdenas, O., Olazábal, C., Ratto, M., & Adams, G. (2001). Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev. Investing. Vet. Perú*, 1, 462–463.
- Johnson, L. W. (1989). Llama reproduction. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 5(1), 159–182. <https://doi.org/10.1016/S0749->



0720(15)31008-2

- Juyena, N. S., & Stelletta, C. (2012). Seminal plasma: An Essential Attribute to Spermatozoa. *Journal of Andrology*, 33(4), 536–551.
- Kershaw-Young, C. M., Druart, X., Vaughan, J., & Maxwell, W. M. C. (2012). β -Nerve growth factor is a major component of alpaca seminal plasma and induces ovulation in female alpacas. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(8), 1093–1097.
- Leyva, V., & García, W. (1999). Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. *Res. II Cong. Mund. Camélidos. Cusco*, 87.
- Mamani, C. V. (2014). Susceptibilidad del cuerpo Lúteo a la acción de la prostaglandina F2 α en alpacas inducidas a ovulación con plasma seminal. *Tesis Para Optar El Título Profesional de Medico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Peru.*
- Mortimer, D., & Lincoln, G. A. (1982). Ultrastructural study of regressed and reactivated testes from Soay rams. *J. Reprod. Fertil.*, 64, 437–442.
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*, 80(1), 1–29. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.1.1>
- Novoa, C., & Leyva, V. (1996). Reproducción en alpacas y llamas. *Publ. Cient. IVITA*, 26, 1–2.
- Palián, J. W. (2010). Inducción de ovulación con plasma seminal o análogo de GnRH (acetato de Buselerina) y su efecto sobre la tasa de concepción en alpacas (vicugna pacos), inseminadas con semen fresco. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 66. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/976>



- Pan, G., Chen, Z., Liu, X., Li, D., Xie, Q., Ling, F., & Fang, L. (2001). Aislamiento y purificación del factor inductor de la ovulación del plasma seminal del camello bactriano (*Camelus bactrianus*). *Theriogenology*, *01*, 1863–1879.
- Panez L., S., Huanca L., W., Huanca M., T., Ratto F., M., & Adams, G. (2009). Efecto Del Sitio De Deposición Del Plasma Seminal Sobre La Tasa De Ovulación Y Formación Del Cuerpo Lúteo En Alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *20*(1), 21–27. <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.526>
- Paolicchi, F., Urquieta, B., Del Valle, L., & Bustos-Obregón, E. (1999). Biological activity of the seminal plasma of alpacas: Stimulus for the production of LH by pituitary cells. *Animal Reproduction Science*, *54*(3), 203–210.
- Ratto, M. H. (2005). Ovarian Follicular Synchronization, Ovulation and Oocyte Development in Llamas and Alpacas. *Thesis of Doctor of Philosophy in the Department of Veterinary Biomedical Sciences University of Saskatchewan. Canada*, 168.
- Ratto, Marcelo H, Huanca, W., Singh, J., & Adams, G. P. (2005). Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *13*, 1–13.
- Ratto, Marcelo H., Huanca, W., Singh, J., & Adams, G. P. (2006). Comparison of the effect of ovulation-inducing factor (OIF) in the seminal plasma of llamas, alpacas, and bulls. *Theriogenology*, *66*(5), 1102–1106.
- Ratto, Marcelo H., Huanca, W., & Adams, G. P. (2010). Ovulation-inducing factor: A protein component of llama seminal plasma. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *8*, 2–8.



- Ratto, Marcelo H., Delbaere, L. T. J., Leduc, Y. A., Pierson, R. A., & Adams, G. P. (2011). Biochemical isolation and purification of ovulation-inducing factor (OIF) in seminal plasma of llamas. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9, 1–8.
- Ratto, Marcelo H., Leduc, Y. A., Valderrama, X. P., Van Straaten, K. E., Delbaere, L. T. J., Pierson, R. A., & Adams, G. P. (2012). The nerve of ovulation-inducing factor in semen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(37), 15042–15047. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206273109>
- Ratto, M H, Ulloa-Leal, C., Silva, M., Fernandez, A., & Valderrama, X. P. (2016). Efecto luteotrófico de OIF / NGF en llamas. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 24(2), 101–106.
- Rios M, Sumar J, Alarcon V. 1985. Presencia de un factor de induccion de ovulacion en el semen de la alpaca y toro. In: Resumenes 8 Reunion Cientifica Annual Asociacion Peruana Produccion Animal. Huancayo, Peru. p40.
- Ríos, M., Sumar, J., & Alarcón, V. (1989). Presencia de un factor de inducción de la ovulación en el semen de alpaca y toro. *MV Thesis. Fac Med Vet UNMSM, Peru*.
- San-Martin, M., Copaira, M., Zuniga, J., Rodreguez, R., Bustinza, G., & Acosta, L. (1968). Aspects of reproduction in the alpaca. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3), 395–399. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0160395>
- San Martin, M., Copaira, M., Zuñiga, J., Rodreguez, R., Bustinza, G., & Acosta, L. (1968). Aspects of Reproduction In The Alpaca. *Reproduction*, 16, 395–399.
- Sato, A. S., & Montoya, L. (1990). Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*) Anatomía macroscópica. *Rev. Camélidos Sudamericanos UNMSM – IVITA – CICCIS*, 7, 13.



- SENAMHI. (2012). *Servicio Nacional de Meteorología e Hidrografía Puno - Perú*.
- Senger, P. L. (2005). *Pathways to pregnancy and parturition. 2° ed. EE.UU. Cadmus Professional Communications. 373.*
- Silva, M. E., Smulders, J. P., Guerra, M., Valderrama, X. P., Letelier, C., Adams, G. P., & Ratto, M. H. (2011). Cetrorelix suppresses the preovulatory LH surge and ovulation induced by ovulation-inducing factor (OIF) present in llama seminal plasma. *Reproductive Biology and Endocrinology, 9*, 1–9.
- Silva, M., Fernández, A., Ulloa-Leal, C., Adams, G. P., Berland, M. A., & Ratto, M. H. (2015). LH release and ovulatory response after intramuscular, intravenous, and intrauterine administration of B-nerve growth factor of seminal plasma origin in female llamas. *Theriogenology, 1096–1102.*
- Smith, C. L., Peter, A. T., & Pugh, D. G. (1994). Reproduction in llamas and alpacas: A review. *Theriogenology, 41(3)*, 573–592.
- Sumar, J., (1985a). Reproductive physiology in South American camelids. In: Land, R.B., Robinson, D.W. (Eds.), *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths, London, pp. 81–95 (Chapter 9).
- Sumar, Julio. (1985b). Algunos aspectos obstétricos de la alpaca. Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos. Convenio CIID-Canada-UNMSM-IVITA. bol. Técnico No 2. SAS versión 9.1 SAS institute, Inc., Cary, NC.USA. 16 p. 16 p.
- Sumar, J., & García, M. (1986). Fisiología de la reproducción de la alpaca. In: *Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health, IAEA, Viena*, 149–177.
- Sumar, J., García, M., Alarcón, V., & Echevarría, L. (1987). El celo en la alpaca y llama y los niveles de progesterona plasmática. *Proc. X Reunión Científica Anual de*



- APPA. *Univ. Nac. Del Altiplano Puno Perú*, 85.
- Sumar, J., Fredriksson, G., Alarcon, V., Kindahl, H., & Edqvist, L. E. (1988). Levels of 15-keto-13, 14-dihydro-PGF 2α , progesterone and oestradiol-17 β after induced ovulation in llamas and alpacas. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 29(3–4), 339–346.
- Sumar, J., & Bravo, P. W. (1991). In situ observation of the ovaries of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(9), 1159–1163.
- Sumar, J., Bravo, P. W., & Foote, W. C. (1993). Sexual receptivity and time of ovulation in alpacas. *Small Ruminant Research*, 11(2), 143–150.
- Sumar, J. (2000). Llamas and Alpacas. *Reproduction in Farm Animals. Seventh Edition. E.S.E. Hafez, B. Hafez*, 218–236. <https://doi.org/10.1017/cho19780521402149.061>
- Tanco, V. M., Ratto, M. H., Lazzarotto, M., & Adams, G. P. (2011). Dose-response of female llamas to ovulation-inducing factor from seminal plasma. *Biology of Reproduction*, 85(3), 452–456.
- Taylor, S., Taylor, P. J., James, A. N., & Godke, R. A. (2000). Successful Commercial Embryo Transfer in The Llama (*Lama glama*). *Theriogenology*, 53(1), 344–344.
- Tibary, A., & Anouassi, A. (1997). *Theriogenology in camelidae. Abu Dhabi Printing Press Mina UAE.*
- Turín, J. E. (2014). Efecto de la aplicación intramuscular del plasma seminal sobre la tasa de sobrevivencia embrionaria en alpacas post monta. *Tesis Para Optar El Titulo Profesional de Licenciada En Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Perú.*
- Ulloa-leal, C., Bogle, O. A., Adams, G. P., & Ratto, M. H. (2014). *Theriogenology*



- Luteotrophic effect of ovulation-inducing factor / nerve growth factor present in the seminal plasma of llamas. *Theriogenology*, 81(8), 1101-1107.e1.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.038>
- Vaughan, J. L., Macmillan, K. L., & D'Occhio, M. J. (2004). Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Animal Reproduction Science*, 80(3–4), 353–361.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.08.002>
- Vaughan, J. L., & Tibary, A. (2006). Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research*, 61(2-3 SPEC. ISS.), 259–281.

ANEXOS

Tabla 1: Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs vasectomizado G2 sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho el día 4 post cópula, a través de la prueba de Chi cuadrado (X^2)

		COPULACIÓN				Total
		G1		G2		
		O	E	O	E	
Receptividad	Acepta	14	14.50	15	14.5	29
		$x^2 = 0.017$		$x^2 = 0.017$		
	Rechaza	1	0.50	0	0.50	1
		$x^2 = 0.500$		$x^2 = 0.500$		
Total		15	15.00	15	15.00	30
$X^2_c = 1.03$				$X^2_{t \alpha 0.05 (1)} = 3.84$		

Tabla 2: Evaluación del efecto de la copulación con macho castrado G1 vs macho vasectomizado G2 sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de CL el día 7 poscópula, a través de la prueba de Chi cuadrado (X^2)

			COPULACIÓN				Total
			Castrado		Vasectomizado		
			O	E	O	E	
Receptividad - CL	Acepta	No CL	11	6.00	1	6	12
		$x^2 = 4.167$		$x^2 = 4.167$			
	Rechaza	Si CL	4	9.00	14	9.00	18
		$x^2 = 2.778$		$x^2 = 2.78$			
Total			15	15.00	15	15.00	30
$X^2_c = 13.89$				$X^2_{t \alpha 0.05 (1)} = 3.8415$			

Tabla 3: Evaluación del efecto de la copulación con macho vasectomizado G2 vs infusión de plasma seminal G3 en el útero sobre la ovulación en alpacas mediante receptividad al macho y presencia de CL el día 7 poscópula, a través de la prueba de Chi cuadrado (X^2)

		COPULACIÓN				Total
		Vasectomizado		Plasma		
		O	E	O	E	
Receptividad - CL	Acepta No CL	1	6.5	12	6.50	13
		$x^2 = 4.654$		$x^2 = 4.654$		
	Rechaza Si CL	14	8.50	3	8.50	17
		$x^2 = 3.56$		$x^2 = 3.559$		
Total		15	15.00	15	17.00	45
$X^2_c = 16.43$				$X^2_{t \alpha 0.05 (1)} = 3.8415$		

PANEL FOTOGRÁFICO

Figura A. Materiales y Equipos



Figura A.1 Medicamentos para la castración y vasetomización



Figura A.2 Protoscopio de uso humano

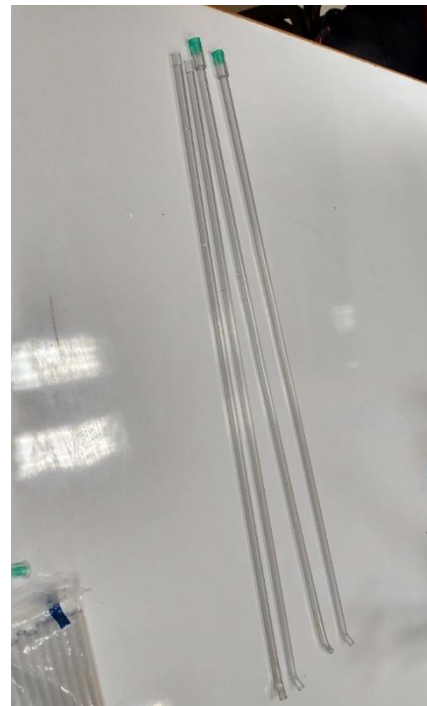


Figura A.3 pipetas de inseminación



Figura A.4 Ecógrafo



Figura A. 5 Microscopio Óptico



Figura A.6 Electroeyaculador (Minitube)

Figura B. Metodología Experimental



Figura B.1 Receptividad Sexual de la hembra frente al macho.



Figura B.2 Control de empadre



Figura B.3 Colección de plasma seminal

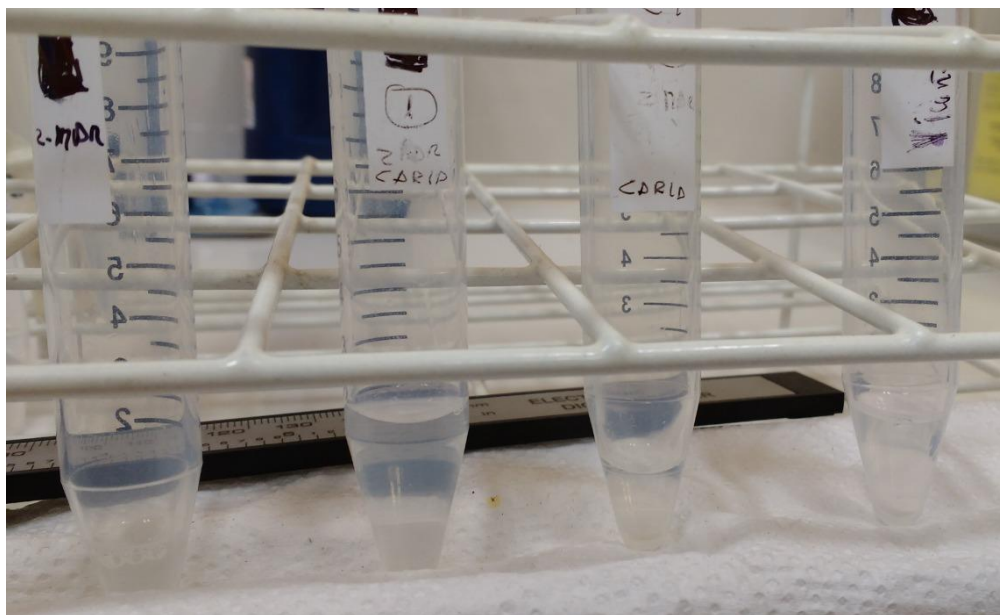


Figura B.4 Plasma seminal



Figura B.5 Infusión de plasma seminal al útero



Figura B.6 Ecografía de Cuerpo lúteo a los 7 días post cópula