

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**



**TESIS**

**“RESPUESTA OVÁRICA Y RECUPERACIÓN DE  
EMBRIONES POR EFECTO DE DOSIS DE  
GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN  
ALPACAS”**

**PRESENTADA POR EL BACHILLER:**

**JENNER EMERSON QUISPE MAMANI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2015**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**RESPUESTA OVÁRICA Y RECUPERACIÓN DE EMBRIONES  
POR EFECTO DE DOSIS DE GONADOTROPINA  
CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN ALPACAS**

**TESIS**

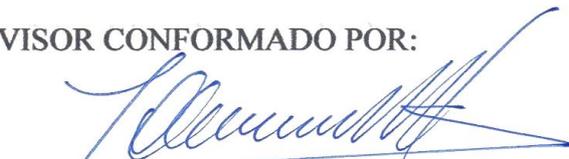
PRESENTADA POR EL BACHILLER:  
**JENNER EMERSON QUISPE MAMANI**

PARA REALIZAR EL INFORME DE INVESTIGACIÓN Y OPTAR EL TÍTULO DE:  
**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:



Dr. LUIS VICENTE OLIVERA MAROCHO

PRIMER MIEMBRO

:



MVZ. JUAN GUIDO MEDINA SUCA

SEGUNDO MIEMBRO

:



Dr. ZACARIAS CONDEMAYTA CONDEMAYTA

DIRECTOR DE TESIS

:



Dr. MANUEL GUIDO PEREZ DURAND

ASESOR DE TESIS

:



Dr. JULIO MÁLAGA APAZA

ASESOR DE TESIS

:



MVZ. BRUNO MORALES CCAMA

Área: Reproducción animal  
Tema: Producción de embriones

## *Dedicatoria*

*A mis Padres Eustaquio y Vicentina; Hnos. Félix, Ruder, Yolanda, Raúl, Josué, Bartolomé, Julio, Víctor, Alejandra, mis Hermanos(as) por su infinito Ejemplo, Fortaleza, Comprensión, Responsabilidad, Apoyo incondicional a quienes debo mi formación profesional, **Misión cumplida...***

*A Dayse, mi esposa y madre de mis hijos(as), Patricia, Katherine, Winny, Sandy Mafé y Jenner Fernando Mathius, por su Amor, Paciencia, Comprensión y Apoyo.*

## AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano Puno, Alma Mater.
- A todos los docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por transmitir sus conocimientos y experiencias e inculcaron mi formación profesional.
- Mi especial reconocimiento y gratitud al Dr. Manuel Guido Pérez Durand, por su apoyo y asesoramiento durante la ejecución de tesis e incluso graduación.
- Al Dr. Julio Málaga Apaza, MVZ Bruno Morales Ccama por su tiempo y asesoramiento permanente.
- Mi especial reconocimiento al Dr. Luis Vicente Olivera Marocho, MVZ Juan Guido Medina Suca, Dr. Zacarías Condemayta Condemayta, por sus consejos, apoyo incondicional y orientaciones en la dirección de la presente tesis.
- Al Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla–Puno, por las facilidades brindadas en la ejecución de la tesis.
- A mis amigos(as), por sus alientos a seguir adelante a pesar de las dificultades.
- A mis amigos(as) y compañeros(as) de estudio, con quienes compartimos momentos gratos.

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	v
RESÚMEN .....	vi
SUMMARY.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Anatomía del Tracto Reproductivo de la Alpaca Hembra .....	3
2.2. Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos.....	4
2.3. Sincronización de la Onda folicular en Camélidos Sudamericanos .....	6
2.4. Hormona Gonadotropina Coriónica Equina (eCG).....	8
2.5. Dispositivo intravaginal de regulación del Ciclo Estral (CIDR).....	9
2.6. Estradiol (E2 ó 17 $\beta$ -estradiol) .....	11
2.7. Ecografía en Camélidos Sudamericanos .....	13
2.7.1. Fundamentos de la Ecografía .....	13
2.7.2. Aplicaciones de la Ecografía .....	13
2.8. Super estimulación de la actividad del Ovario .....	14
2.9. Colección y Evaluación de embriones .....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. Material Experimental .....	25
3.1.1. Lugar de Estudio .....	25
3.1.2. Animales .....	25
3.1.3. Materiales y equipos .....	25
3.2. Métodos .....	27
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1. Número de folículos Post Super estimulación, según Ecografía al día 11 .....	30
4.2. Número de Cuerpos Lúteos, según Ecografía al Día 18 .....	33
4.3. Recuperación de Embriones .....	36
V. CONCLUSIONES.....	38
VI. RECOMENDACIONES .....	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
ANEXO .....	51
PANEL FOTOGRÁFICO.....	60

## RESÚMEN

Uno de los principales problemas en la crianza de alpacas son los bajos índices reproductivos; los camélidos sudamericanos tienen importantes diferencias fisiológicas que se deben de considerar al aplicar procedimientos de súper estimulación ovárica, ya que existen grandes variaciones en la respuesta ovárica y bajas tasas de recuperación embrionaria. La gonadotropina coriónica equina (eCG) fue empleada en diferentes protocolos de estimulación del desarrollo folicular, tanto en tiempo como en dosis, obteniéndose respuestas variables. Los objetivos del presente estudio fueron: evaluar el efecto de dos dosis de eCG en la respuesta ovárica: desarrollo folicular, cuerpos lúteos obtenidos y tasa de recuperación de embriones. Se utilizaron 15 alpacas hembras adultas mayores a 4 años de edad; los tratamientos aplicados fueron: T1) n = 5, día 0: CIDR (0.33 g de P4)+1.0 mg de BE, día 7: 250 UI de eCG, día 11: 50 ug de GnRH+monta natural; T2) n = 5, día 0: CIDR (0.33 g de P4)+1.0 mg de BE, día 7: 500 UI de eCG, día 11: 50 ug de GnRH+monta natural y T3) n = 5, grupo control, día 11 monta natural. El registro del desarrollo de folículos, cuerpos lúteos, se realizó a través de ecografía y la colección de embriones se realizó mediante lavado uterino 7 días posterior a la monta natural. Los resultados obtenidos fueron: número promedio de folículos preovulatorios ( $\geq 7\text{mm}$ ): T1=1.0 $\pm$ 0.0; T2=1.8 $\pm$ 1.0 y T3=1.5 $\pm$ 0.7, no habiendo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $P>0.05$ ). El número promedio de cuerpos lúteos obtenidos fueron: T1=1.0 $\pm$ 1.4, T2=1.2 $\pm$ 2.7 y T3 (grupo control)=0.4 $\pm$ 0.5, sometidos a un análisis de varianza, hay diferencia estadística significativa entre los grupos de tratamiento ( $P\leq 0.05$ ) y a la prueba de Tukey hay diferencia significativa, donde el número de cuerpos lúteos fue mayor en T2 con respecto a T3 ( $P\leq 0.05$ ). A pesar de que se encontraron cuerpos lúteos presentes y la técnica de colección fue lo mismo para los tres tratamientos, en los grupos T3 (grupo control) y T2 (500 UI eCG) no se logró recuperar embriones; en el grupo T1 (250 UI eCG) se logró recuperar 01 embrión de buena calidad (grado 2), siendo la tasa de recuperación embrionaria del 20 %. Se concluye que el protocolo de estimulación ovárica con dosis de 250 UI y 500 UI de eCG no son suficientes como para que la función FSH y LH de la eCG actúe desencadenando efectos fisiológicos capaces de producir mayor número de folículos preovulatorios y una ovulación múltiple.

*Palabras Clave:* CIDR, eCG, GnRH, folículos preovulatorios, cuerpos lúteos, embriones, alpacas.

## SUMMARY

One of the main problems in the breeding of alpacas is the low reproductive indexes; The South American camelids have important physiological differences that must be considered when applying ovarian super stimulation procedures, since there are large variations in the ovarian response and low rates of embryo recovery. Equine chorionic gonadotropin (eCG) was used in different protocols for stimulation of follicular development, both in time and in doses, obtaining variable responses. The objectives of the present study were: to evaluate the effect of two doses of eCG on the ovarian response: follicular development, luteal bodies obtained and embryo recovery rate. Fifteen female alpacas older than 4 years of age were used; The treatments applied were: T1) n = 5, day 0: CIDR (0.33 g of P4) +1.0 mg of BE, day 7: 250 IU of eCG, day 11: 50 ug of GnRH + natural mating; Day 2: n = 5, day 0: CIDR (0.33 g of P4) +1.0 mg of BE, day 7: 500 IU of eCG, day 11: 50 ug of GnRH + Day 11 natural mounts. Registration of the development of follicles, corpora lutea, was performed through ultrasound and the collection of embryos was performed by uterine lavage 7 days after the natural mating. The results were: mean number of preovulatory follicles ( $\geq 7$  mm): T1 =  $1.0 \pm 0.0$ ; T2 =  $1.8 \pm 1.0$  and T3 =  $1.5 \pm 0.7$ , with no significant statistical difference between treatments ( $P > 0.05$ ). The mean number of luteal bodies obtained were: T1 =  $1.0 \pm 1.4$ , T2 =  $1.2 \pm 2.7$  and T3 (control group) =  $0.4 \pm 0.5$ , subjected to a variance analysis, there was a statistically significant difference between the treatment groups ( $P \leq 0.05$ ) and Tukey's test there was a significant difference, where the number of corpora lutea was higher in T2 than in T3 ( $P \leq 0.05$ ). Although luteal bodies were present and the collection technique was the same for the three treatments, in the T3 (control group) and T2 (500 IU eCG) groups it was not possible to recover embryos; In the T1 group (250 IU eCG) it was possible to recover 01 embryo of good quality (grade 2), with the embryo recovery rate of 20%. It is concluded that the protocol of ovarian stimulation with doses of 250 IU and 500 IU of eCG are not enough for the FSH and LH function of the eCG to act triggering physiological effects capable of producing a greater number of preovulatory follicles and a multiple ovulation.

Key words: CIDR, eCG, GnRH, preovulatory follicles, corpora lutea, embryos, alpacas.

## I. INTRODUCCIÓN

Una de las actividades de mayor importancia socio económica para el poblador alto andino es la crianza de alpacas, ya que suministran productos como la fibra y carne (Fernández Baca, 1993). En la actualidad, la población nacional de alpacas es de 3' 685 516 cabezas, los principales departamentos de mayor población son: Puno con 1'427,816 alpacas, Cusco con 517,965 alpacas y Arequipa con 477,851 alpacas (INEI, 2013). El Perú es el principal productor de fibra de alpaca, generando el 80% de la oferta mundial, seguido por Bolivia, con un 15%; el resto producen tan solo el 5% de producción de fibra; sin embargo, en los últimos años comienza a observarse una notable expansión de la crianza y la producción de fibra de alpacas en países como Australia y Estados Unidos (Palomino, 2000). Uno de los principales problemas que limitan el desarrollo de la crianza de alpacas son los bajos índices reproductivos: la tasa de gestación baja, alta mortalidad embrionaria durante los primeros 35 días de gestación; prolongado periodo de gestación ( $345 \pm 3$  días); por efecto del manejo, la actividad sexual es estacional; las primerizas recién alcanzan su primer parto a los 3 años y que solo el 50% de las hembras en edad reproductiva dan 1 cría al año, situación que se agrava por la alta mortalidad neonatal que fluctúa entre 12 a 35%; además, en la actualidad, una alpaca hembra en promedio puede producir durante toda su vida reproductiva solamente de 4 a 5 crías, los sistemas de manejos reproductivos que se aplican en las comunidades, se basan en esquemas tradicionales (Huanca, 2008; Palomino, 2000; Sumar, 2000).

Los ovarios de la alpaca contienen un elevado número de folículos que se encuentran en diferentes estados de desarrollo (primordiales, en crecimiento, maduros, atrésicos) de los cuales, solamente una pequeña proporción van a ser utilizadas durante la vida reproductiva del animal; esta limitante se podría superar utilizando biotecnologías

reproductivas como: técnica de ovulación múltiple (OM), transferencia de embriones (TE) que harían posible que una hembra selecta pueda tener una descendencia numerosa (Velásquez y Novoa, 1999), sin embargo los estudios mencionados en alpacas y llamas tienen resultados variables e inconsistentes. Es así que para estimular el desarrollo folicular se han utilizado eCG, FSH; para inducir la ovulación múltiple se han empleado hCG, GnRH y monta natural, tratamientos que han sido aplicados en la fase folicular (Novoa y Sumar, 1968; Bravo *et al.* 1995) como en la fase luteal inducida (Bourke *et al.*, 1992a; 1995a; Correa y col., 1994). Teniendo como resultados en una respuesta ovulatoria variable, llegando a desarrollar de 2 a 11 cuerpos lúteos y recuperar solamente el 50 % de embriones, estos resultados son inferiores comparados a otras especies (Del campo *et al.*, 1995).

Velásquez y Novoa (1999), probaron el uso de 1000 UI de eCG seguida de 1000 UI de hCG, tanto en fase folicular, como luteal inducida, obteniendo  $8,2 \pm 2,6$  y  $17,8 \pm 8,3$  ovulaciones, respectivamente; sin embargo la respuesta ovárica fue excesiva, con formación de quistes foliculares; por lo que, consideran apropiadas las dosis de eCG entre 500 y 750 UI y de hCG de 750 UI. En todos estos estudios mencionados, se tuvo una respuesta ovulatoria individual variable, además a dosis de 500 UI de eCG obtuvo 0% de tasa de recuperación embrionaria (Velásquez y Novoa, 1999; Bravo *et al.*, 1995). Para reducir la variabilidad de respuestas del desarrollo folicular y ovulación múltiple, se planteó el presente estudio, empleando dosis menores (250 y 500 UI) de gonadotropina coriónica equina (eCG) y 50 ug de GnRH, teniendo como objetivos: evaluar el efecto sobre la respuesta al desarrollo folicular, cuerpos lúteos y la tasa de recuperación de embriones.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Anatomía del Tracto Reproductivo de la Alpaca Hembra

Los ovarios de la alpaca son órganos pares envueltos por la bolsa ovárica, localizados en el borde anterior de la cavidad pelviana, desplazándose únicamente durante la gestación a la cavidad abdominal (Zirena, 1978; Mamani, 2004), situados cerca del centro del borde lateral de la línea perpendicular a la séptima vértebra lumbar a unos 17 cm. de la hendidura vulvar, dispuestos dorso lateralmente a los cuernos uterinos (Sato, 1982). Están fijados por los ligamentos útero-ovárico y ancho; el ovario derecho, se encuentra a la altura de la eminencia iliopectínea, mientras que el ovario izquierdo está ligeramente algo más caudal a la altura de la rama acetabular del pubis y en un plano ligeramente superior al derecho (Zirena, 1978).

El tamaño y la forma de los ovarios varían con la edad y su contenido en folículos y cuerpos lúteos, cuyas medidas son: largo  $1.6 \pm 0.3$  cm, profundidad  $1.1 \pm 0.2$ , ancho  $1.1 \pm 0.2$  cm y peso entre los 1.9 y 2.9 g (Sato y Montoya, 1990; Sumar, 1985). Cada ovario está rodeado completamente por un largo pliegue del mesosalpinx con forma cónica denominado *bursa ovarii*, cuya porción apical forma un amplio orificio que comunica con la fimbria del oviducto (Bravo, 2002). En hembras pre púberes, la superficie ovárica es lisa; en cambio en hembras adultas o en estado reproductivo es irregular (perilobular), similar a los de la cerda, debido a la presencia de folículos múltiples en varios estadios de desarrollo (Sato, 1982; García y col., 2005).

El útero de la alpaca es bicorneo y ambos oviductos son grandes y están arrollados que terminan a manera de bolsa que circundan por completo el ovario. Las puntas de los cuernos uterinos son romas y redondeadas; el oviducto se abre en el cuerno uterino mediante una pequeña paila elevada, que actúa como un esfínter. La cérvix, tiene 2 ó 3

pliegues con forma anular o espiral irregular (Hafez y Hafez, 2002). La vagina en las alpacas mide  $13,4 \pm 2,0$  cm de largo. La hendidura vulvar tiene dirección ventrodorsal y mide 3-4 cm de longitud. La comisura dorsal de la vulva es ligeramente redondeada y se encuentra a 2 cm ó 3 cm del orificio anal; la comisura ventral es aguda y termina en una corta dirección cónica (García y col., 2005).

## 2.2. Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos

Se define como dinámica folicular al proceso de crecimiento y regresión de folículos antrales que conducen al desarrollo de un folículo preovulatorio (Adams *et al.*, 1990; Bravo, 1990), la dinámica folicular de la alpaca y llama sigue el patrón clásico de ondas descrito en la hembra bovino: Folículos en crecimiento, maduración y regresión (Ferrer y col., 2002).

En los camélidos sudamericanos se observa el desarrollo de ondas foliculares cíclicas, relacionado con el crecimiento, maduración y atresia del folículo dominante (Bravo y Sumar, 1989). Las tres fases descritas son crecimiento, maduración y regresión; en la fase de maduración o estático el folículo dominante inhibe el desarrollo de los folículos más pequeños (Bravo *et al.*, 1990b), reportándose una relación inversa entre el diámetro del folículo dominante y el número de folículos pequeños (Adams *et al.*, 1990). El folículo dominante parece controlar su duración (Adams, 2001), puesto que si no hay ovulación se atresia, reconociéndose un nuevo folículo 2 a 3 días después de la primera disminución de tamaño del folículo dominante (Bravo *et al.*, 1990b).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia del folículo dominante en ambos ovarios en un 85% (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 (Bravo *et al.*, 1990b; Fernández Baca, 1993; Brown, 2000), explicándose los largos periodos de aceptación de la hembra frente al macho. La receptividad se observa cuando el folículo tiene diámetros  $\geq 6$  mm (Bravo y Sumar, 1989). El crecimiento del folículo dominante ( $\geq 6$  mm) está relacionado con la regresión de los folículos subordinados, estando la inhibina relacionada con la inhibición de los folículos pequeños (Adams *et al.*, 1990; Bravo *et al.*, 1990b).

En caso de que la hembra no reciba el estímulo ovulatorio continuarán desarrollándose ondas foliculares anovulatorias en camélidos sudamericanos (Bravo *et al.*, 1990b; Adams *et al.*, 1990) y el folículo dominante se atresia y el nuevo folículo dominante puede ser observado 2 a 3 días después que se da el descenso de tamaño del folículo dominante presente inicialmente (Bravo *et al.*, 1990b). Sin embargo, después de la cópula, ovulación y de la formación del cuerpo lúteo se produce la emergencia de una nueva onda folicular con presencia de un folículo dominante que no llega a ovular y posteriormente regresa (Araínga y col, 2003). En el ovario de las llamas pueden encontrarse en cualquier momento más de un folículo, pero sólo uno desarrolla el mayor tamaño ( $> 7$  mm) y se vuelve dominante (Adams *et al.*, 1990; Bravo *et al.*, 1990b)

Las ondas foliculares tienen una duración en alpacas de 12 a 14 días (Bravo, 2002), en llamas de entre 20 a 25 días (Adams *et al.*, 1990),  $22.6 \pm 2.5$  (Chaves *et al.*, 2002) y en vicuñas  $7.25 \pm 0.46$  días en promedio (Miragaya *et al.*, 2004).

**Cuadro 1. Características de las ondas foliculares en Camélidos Sudamericanos**

Característica observada (días)	Alpaca Bravo, 2002	Llama Adams <i>et al.</i> , 1990(1) Chaves <i>et al.</i> , 2002 (2)	Vicuña Miragaya <i>et al.</i> , 2004
Duración	12-14 (7 a 19)	20-25 (1) 22.6±2.5 (2)	7.25 ± 0.46
Fase de crecimiento	4-5	9.2 ± 2.8 (2)	3.03 ± 0.18
Fase estática	4-5	5.2 ± 1.4 (2)	1.40 ± 0.21
Fase de regresión	3-4	8.2 ± 2.2 (2)	2.87 ± 0.28
Intervalo interonda	-----	20.9 ± 1.6 (1) 18.0 ± 1.0 (2)	4.22 ± 0.29

El conocimiento de la función del ovario en alpacas y llamas nos permite desarrollar técnicas reproductivas, es así que las hembras tienen una ovulación inducida, donde la ovulación ocurre 30 horas después de la cópula cuando la hembra posee un folículo dominante de tamaño mínimo de 6 mm (Adams *et al.*, 1989; Ciprian y Pérez, 2000). 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, las prostaglandinas son liberadas del útero e induce la regresión del cuerpo lúteo 10 a 12 días después de la monta (Adams *et al.*, 1989; Pérez, 1994).

### 2.3. Sincronización de la Onda folicular en Camélidos Sudamericanos

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, siendo necesario la cópula para que tenga lugar la descarga de LH desencadenante de la ovulación. Por ello, en ausencia del estímulo desencadenante de la ovulación, se producen sucesivas oleadas de crecimiento folicular, maduración y regresión (Vaughan y Tibary, 2006). La sincronización de la emergencia de una nueva onda folicular es el resultado de la sincronización del desarrollo folicular, que puede ser controlado mecánicamente por ablación folicular guiada por ultrasonido, también con tratamientos hormonales

utilizando GnRH, estradiol y estradiol combinada con progesterona (Ferrer *et al.*, 2002; Ratto *et al.*, 2003).

Se han empleado métodos de sincronización de la onda folicular en camélidos: aplicando dosis inyectables de progesterona y benzoato de estradiol en llamas para iniciar tratamientos superestimuladores en ausencia del folículo dominante (Carretero *et al.*, 2006). La progesterona exógena ejerce un efecto inhibitorio en el desarrollo de los folículos subordinados y en el folículo dominante, desapareciendo este efecto después de suspenderse el tratamiento (Santiani *et al.*, 2002; Bravo y col., 2003). Aba *et al.*, 2005, evaluaron el efecto de la progesterona exógena sobre la dinámica folicular en vicuñas para determinar su habilidad en la sincronización de la actividad ovárica. Por otro lado Ferrer y col. (2002), utilizando un análogo de GnRH (buserelina) en llamas, logran sincronizar la emergencia de la onda folicular, permitiendo iniciar los tratamientos superestimuladores entre los días 3 y 6 de la aplicación. Alberio y Aller (1996), administrando 50 mg por día de progesterona natural (P4) en 2.0 mL de aceite, durante 12 días lograron inhibir y controlar la onda folicular en el 100% de las llamas y siete días después de finalizado el mismo, la totalidad de las hembras presentaron un folículo con un tamaño mínimo susceptible de ovular ante el estímulo apropiado. Asimismo, los tratamientos para la sincronización de la onda folicular en llamas empleando estradiol, progesterona, LH y la ablación folicular permiten la inducción de la sincronización de la onda folicular (Ratto *et al.*, 2003).

Santiani *et al.* (2002), en 25 llamas, evaluó el efecto de la progesterona exógena (P4) sobre el desarrollo de la onda folicular, las cuales fueron distribuidas en 5 grupos: G0 (control); G1 (30 mg de P4/día por 2 días); G2 (30 mg P4/día por 4 días); G3 (50 mg P4/día por 2 días) y G4 (50 mg P4/día por 4 días); llegando a la conclusión de que la

progesterona exógena inhibe el desarrollo de los folículos dominantes y subordinados durante los días de tratamiento y que luego de finalizado aumenta el número de folículos subordinados, probablemente debido a la regresión del folículo dominante que permite la emergencia de una nueva onda folicular; por otro lado, la progesterona exógena, inhibe la receptividad sexual desde el día 2 de iniciado el tratamiento hasta los días 7 a 8.

Ratto (2005), comparó el efecto hormonal y mecánico al inducir ovulación en tres grupos de llamas mediante monta natural, administrando 5 mg de LH y 50 ug de GnRH, y al ecógrafo observaron folículos preovulatorios con diámetros de 11, 10.5, 11.8 mm, siendo el porcentaje de ovulación de 80, 91 y 80 % para cada grupo, donde el tiempo entre el tratamiento y la ovulación fue de 30, 29.3 y 29.3 horas respectivamente. Con la administración de 750 UI eCG en el momento en que se inicia una nueva onda folicular, obtuvo el crecimiento de 17 folículos de diámetro mayor a 6 mm.

#### **2.4. Hormona Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)**

La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similar a las de la LH y FSH, pero con un mayor contenido de carbohidratos, especialmente el ácido siálico que parece ser el responsable de una vida larga; por lo tanto, una sola inyección de eCG, tiene efectos biológicos en la glándula blanco por más de una semana. Las copas endometriales del útero equino es la fuente de origen de la eCG. Las principales ventajas de la utilización de eCG en los tratamientos superovulatorios son su bajo costo y que una única administración permite obtener buena respuesta ovárica (Hafez y Hafez, 2002). Sin embargo, esta prolongada vida media provoca también algunos inconvenientes ya que continúa estimulando el crecimiento folicular después de

producirse la ovulación lo que provoca la existencia de elevadas concentraciones de estradiol durante la fase luteal, alterando la migración y el desarrollo embrionario y modificando el ambiente uterino (Roche e Ireland, 1984).

## 2.5. Dispositivo intravaginal de regulación del Ciclo Estral (CIDR)

El dispositivo intravaginal de regulación del ciclo estral (CIDR), es un dispositivo de aplicación intravaginal a base de progesterona, indicado para la sincronización de servicios y tratamiento del anestro en ovinos, vacas y vaquillonas de carne o leche; actúa como un depósito de progesterona natural, la cual es liberada y absorbida por la mucosa vaginal, en cantidades suficientes para inhibir la liberación de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) por la hipófisis, frenando la ovulación y consecuente aparición del celo (<http://www.veterinarioipe.com.mx/producto/detalle?idp=13307>).

El CIDR, fue diseñado en Nueva Zelanda en la década de los 80. Recientemente, la Administración de Drogas y Alimentos de los EE.UU. y de la Dirección de Medicamentos Veterinarios de Canadá han aprobado el CIDR (matriz sólida de progesterona) para inducir el estro en ovejas durante el anestro estacional (Abecia *et al.*, 2011).

### **Procedimiento de aplicación del dispositivo intravaginal de regulación del ciclo estral (CIDR)**

- ✓ Sumergir el aplicador de CIDR en una solución antiséptica a base de amonios cuaternarios o yodo povidona.
- ✓ Colocar el dispositivo en el aplicador.
- ✓ Lubricar el extremo del aplicador a introducir en la vagina, desplazar la cola e higienizar los labios vulvares con toalla descartable.

- ✓ Introducir suavemente el aplicador hasta llegar a la porción anterior de la vagina.
- ✓ Liberar el dispositivo, accionado y manteniendo presionado la parte circular del aplicador.
- ✓ Para retirarlo, tirar suave pero firmemente del cordón que sobresale de la vulva.

Diversos autores han investigado la posibilidad de inducir y sincronizar el inicio de una oleada de crecimiento folicular utilizando progesterona o progestágenos, bien solos o combinados con estrógenos (Huanca, 2008). La progesterona secretada durante una fase luteal o durante la gestación altera la dinámica de crecimiento folicular, reduciendo el tamaño alcanzado por el folículo dominante y acortando la duración de la oleada en las llamas (Adams y col., 1990).

La estimulación ovárica durante una fase luteal artificial o al final de la misma, es provocada mediante el uso de un dispositivo intravaginal CIDR (Chaves y col., 1998; 2002; Velásquez y Novoa, 1999), en otro protocolo, utilizando CIDR, la respuesta ovárica fue de 2 embriones por llama con un rango de 1 a 3 (Bourke et al., 1992a). La utilización de este mismo protocolo sincronizando la onda folicular mediante la aplicación de dispositivos intravaginales CIDR durante 5 días y aplicando tratamientos con una única dosis de 500 UI de eCG y otra dosis de 500 UI de eCG más 50 mg de FSH en llamas, con 2 servicios cada 24 horas y aplicación de GnRH, el promedio de folículos obtenidos fueron  $5,25 \pm 2,5$  y  $5,94 \pm 1,71$  respectivamente, el número promedio de embriones obtenidos fue de  $2,12 \pm 2,90$  y  $1,94 \pm 2,74$  respectivamente (Agüero y col., 1999).

Aller *et al.* (2002a), en otro protocolo de tratamiento con administración de benzoato de estradiol, seguida de la aplicación de un CIDR durante 8 días, al final de este periodo se administraron 1200 UI de eCG obteniéndose respuesta ovárica en un 80%

de las llamas hembras tratadas. El número promedio de folículos, cuerpos lúteos y embriones recuperados fue de  $4,2 \pm 1,9$ ,  $2,1 \pm 1,4$  y  $1,8 \pm 2,0$ , respectivamente.

En vicuñas, se ha logrado la estimulación ovárica mediante la administración de 700 UI de eCG en ausencia de folículos dominantes o en animales tratados previamente durante 5 días con CIDR. La respuesta ovárica (número de folículos y de cuerpos lúteos) por hembra tratada fue de  $22,75 \pm 4,26$ . El número de folículos fue mayor en los animales tratados con CIDR (Aba *et al.*, 2005).

## 2.6. Estradiol (E2 ó $17\beta$ -estradiol)

El estradiol es el estrógeno (E2) primario biológicamente activo producido por el ovario. La estrona y estriol son producidos en cantidades pequeñas. Todos los E2 ováricos son sintetizados a partir de precursores androgénicos. Algunas de sus funciones fisiológicas son participar en el desarrollo de las características sexuales secundarias de la hembra, a nivel de SNC para inducir el comportamiento estral. Ejercen el control de retroalimentación positiva y negativa en la liberación de LH y FSH en el hipotálamo. En el útero actúan potencializando los efectos de la oxitocina y  $PGF2\alpha$  para aumentar la amplitud y frecuencia de las contracciones (Hafez y Hafez, 2002).

Durante el crecimiento folicular, se ha comprobado la existencia de una correlación positiva entre el tamaño del folículo dominante y las concentraciones plasmáticas de  $17\beta$ -estradiol y urinarias de sulfato de estrona, tanto en alpacas (Aba, 1995; Aba *et al.*, 1999; Bravo *et al.*, 1990c; Novoa y Leyva, 1996), como en llamas (Aba *et al.*, 1999; Bravo *et al.*, 1990c; Bravo *et al.*, 1994; Chaves *et al.*, 2002). La mayor concentración de estradiol se alcanza cuando el folículo adquiere su diámetro máximo, en las alpacas a los 8 días del inicio de la oleada de crecimiento (Vaughan, 2001) y en las llamas a

los 10-13 días (Chaves *et al.*, 2002). Los folículos mayores a 6 mm son responsables de la continua receptividad. El comportamiento de la hembra se asocia con las concentraciones plasmáticas de estradiol 17- $\beta$  (33- 700 pmol/L). Los valores permanecen elevados por 18-24 horas post empadre para caer significativamente durante el segundo día, permaneciendo bajo y estable hasta el día 10 (Bravo *et al.*, 1990b).

La administración conjunta de 25 mg de progesterona y 1 mg de 17  $\beta$ -estradiol provocan alteración de la dinámica de crecimiento folicular, apareciendo un nuevo folículo dominante a los  $7,7 \pm 0,5$  días de la conclusión del tratamiento (Ratto *et al.*, 2003). Otro protocolo de tratamiento fue administrando benzoato de estradiol, seguida de la aplicación de CIDR durante 8 días, al final de este periodo se administraron 1200 UI de eCG obteniéndose respuesta ovárica en un 80% de las llamas tratadas. El número medio de folículos, cuerpos lúteos y embriones recuperados fue de  $4,2 \pm 1,9$ ,  $2,1 \pm 1,4$  y  $1,8 \pm 2,0$ , respectivamente (Aller *et al.*, 2002a). En vicuñas, se ha utilizado también un tratamiento combinado de esponjas de acetato de medroxiprogesterona (60 mg), con una inyección de benzoato de estradiol, antes de la administración de 750 UI de eCG. La respuesta ovárica total (folículos y cuerpos lúteos) determinada a los 7 días de la ovulación fue de  $6,7 \pm 2,9$  (Aller *et al.*, 2002b).

Existe un estudio en el que se haya utilizado únicamente estradiol para el control de la dinámica de crecimiento folicular en alpacas (D'occhio *et al.*, 1997). La administración de una dosis de 0,5 ó 2 mg indujo regresión del folículo dominante y una nueva oleada de crecimiento folicular con el desarrollo de un nuevo folículo preovulatorio al cabo de 10 a 12 días del tratamiento.

## 2.7. Ecografía en Camélidos Sudamericanos

### 2.7.1. Fundamentos de la Ecografía

Esta técnica se basa en la propiedad de las ondas de ultrasonido de producir ecos (es decir ondas que rebotan) cuando el medio por donde se propagan cambia de densidad. Las ondas de ultrasonido se generan a partir de cristales que tienen la propiedad de transformar energía eléctrica en ondas mecánicas de ultrasonido y viceversa (Parraguez, 2007).

La magnitud de medida del ecógrafo es el megahertz (MHz),  $1 \text{ MHz} = 1'000\ 000$  de ondas de sonido por segundo, para producir imágenes de órganos internos y de tejidos blandos. El ecógrafo está integrado por la consola y el transductor. La consola está compuesta por el monitor, los mandos y el teclado, y en su interior posee los mecanismos que transforman las señales eléctricas provenientes del transductor en imágenes visualizables en la pantalla del monitor. El transductor posee una gran cantidad de pequeños cristales piezoeléctricos, cuya vibración por el paso de la corriente eléctrica produce la emisión de ondas que se transmiten a través de los tejidos en diferentes ángulos e intensidad (Tamayo, 2007).

### 2.7.2. Aplicaciones de la Ecografía

Evaluaciones ginecológicas, detección de estro y tiempo de ovulación, diagnóstico de gestación, determinación del sexo del feto, patologías uterinas y ováricas, recolección de óvulos por aspiración folicular (vía transvaginal). En las evaluaciones ginecológicas se pueden observar los diferentes órganos del tracto genital reproductivo como son la vagina, cérvix, cuernos uterinos y ovarios. Dentro de las patologías uterinas y ováricas, se considera la muerte embrionaria y

fetal, maceración fetal, piómetra, fallas de ovulación, quistes foliculares y tumores ováricos (Echevarría, 2001).

Se estudió la anatomía ultrasonográfica de 36 alpacas hembras adultas, 20 de las cuales sirvieron para el estudio del desarrollo folicular, ovulación, formación de cuerpo lúteo y regresión luteal y 16 sirvieron para el estudio de la gestación hasta los 45 días. El estroma ovárico se ve ecogénico y más brillante que el resto de las estructuras ováricas. Folículos de 14 mm producen imágenes no ecogénicas redondeadas y negras, fáciles de identificar; en el tamaño de los folículos de alpacas en celo era entre 8-16 mm; el cuerpo lúteo puede estar identificado como una estructura ecogénica con bordes diferenciados del estroma ovárico con una zona central más ecogénica, en forma ondulante y característica, observable entre 3-4 días post servicio (Sumar, 1989).

## **2.8. Súper estimulación de la actividad del Ovario**

La súper estimulación ovárica consiste en inducir el crecimiento, maduración y ovulación de un gran número de folículos de manera simultánea. Sin embargo, los camélidos presentan algunas diferencias fisiológicas respecto a otras especies domésticas que se debe tener en cuenta al momento de aplicar estos tratamientos: a) Estas especies no presentan fases luteales espontáneas, b) El folículo dominante permanece activo durante periodos prolongados en las hembras no gestantes (Huanca, 2008).

En las alpacas, el desarrollo folicular es continuo a través de todo el año, encontrándose folículos de tamaño mayores a 6 mm, observados en los meses de febrero a marzo y también en los meses de agosto y setiembre, de forma indirecta, se comprueba este hecho con el nacimiento de crías a lo largo del año (Bravo, 2002).

### **Súper estimulación ovárica en la fase luteal natural y artificial**

Los tratamientos de súper estimulación ovárica se fundamentan en la administración de gonadotropinas (eCG o FSH) luego de sincronizar el crecimiento folicular durante una fase luteal natural (inducción de la ovulación) o una fase luteal artificial (mediante la administración exógena de progesterona). Para que los tratamientos hormonales de estimulación ovárica cumplan con los objetivos previstos, es necesario iniciarlos durante una fase luteal y en ausencia de un folículo dominante (Bourke *et al.*, 1995b; Monniaux *et al.*, 1983). En un estudio realizado por Velásquez y Novoa (1999), han comparado la respuesta ovulatoria a la estimulación con PMSG aplicada en fase folicular versus fase luteal inducida. Se usaron 15 alpacas Huacaya vacías, 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 laparotomía y determinando los niveles de progesterona plasmática con la prueba de RIA. El número y tamaño de los cuerpos lúteos formados en T<sub>3</sub> (17,8±8,3 CL y 13,6±2,0 mm) fueron mayores (P<0,05) a los registrados en T<sub>2</sub> (8,2±2,3 CL y 10,5±0,8 mm). Con respecto a los niveles de progesterona plasmática (nmol/L), el día 0, fueron basales en T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> (0,96±0,76 y 1,17±1,03 nmol/L, respectivamente) y ligeramente elevadas en T<sub>3</sub> (3,51 ±0,97 nmol/L); mientras que en el día 16 mostraron un incremento marcado tanto en T<sub>2</sub> como en T<sub>3</sub> (44,27±30,17 y 46,98±22,91 nmol/L, respectivamente), en cambio T<sub>1</sub> continuó con niveles basales (1,09 ±0,39 nmol/L). La correlación entre el número de cuerpos lúteos formados y los

niveles de progesterona plasmática medida al finalizar el experimento (día 16) fue prácticamente inexistente ( $r=-0,78$ ;  $P>0,05$ ).

**Cuadro 2. Cuerpos Lúteos formados en animales testigo (T<sub>1</sub>), en animales tratados con PMSG en fase folicular (T<sub>2</sub>) y en fase luteal inducida (T<sub>3</sub>)**

Tratamiento	Animales(n)	Total	Cuerpos lúteos Promedio	Rango
T <sub>1</sub> : Testigo	5	0	0 <sup>a</sup>	0
T <sub>2</sub> : fase folicular (1000 UI eCG+1000 UI hCG)	5	41	8.20±2.58 <sup>b</sup>	4-11
T <sub>3</sub> : fase luteal inducida (P <sub>4</sub> +1000 UI eCG+1000 UI hCG)	5	89	17.80±8.34 <sup>c</sup>	5-27
Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P<0,05$ ) Velásquez y Novoa (1999).				

La ovulación del folículo dominante y formación de un cuerpo lúteo se consigue mediante la administración de hCG o análogos de la GnRH (buserelina o deslorelina). Bourke et al., (1992b; 1995a) en llamas, a los 7 días de la inducción de la ovulación, administró 1000 UI de eCG y posteriormente se provocó la lisis del cuerpo lúteo, mediante la administración de un análogo de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  en el día 9. Cuando los folículos alcanzaron un diámetro de 9 mm se inyectó 750 IU de hCG para provocar la ovulación. El número de embriones obtenidos fue muy variable, en un rango de 0 y 6. La estimulación ovárica durante una fase luteal artificial o al final de la misma, es provocada mediante la administración diaria de progesterona durante 7 a 13 días (Alberio y Aller, 1996), el uso de un dispositivo intravaginal - CIDR (Chaves y col, 1998; 2002), la inserción intravaginal de esponjas impregnadas de acetato de medroxiprogesterona (Aba *et al.*, 1999; Evangelista y col., 2009) y un implante subcutáneo de progestágeno (3 mg de norgestomet) (Bourke et al., 1992a; 1995a); en

este último, los implantes subcutáneos durante un periodo de 7 días combinada con una dosis de 1 000 UI de eCG en una única aplicación administrada en el día 5 permitió obtener 6,1 folículos en promedio, con un rango de 0–13 (una buena respuesta ovárica). Sin embargo, el número de embriones recuperados fue bajo, 1,3 embriones por donante, con rango de 0–4 (Bourke et al., 1992a; 1995a). Cuando se aplicó este mismo protocolo utilizando un CIDR, la respuesta ovárica fue similar, pero mejoró el número de embriones recuperados (2 embriones por llama con un rango de 1 a 3) (Bourke et al., 1992a). La utilización de este mismo protocolo sincronizando la onda folicular mediante la aplicación de dispositivos intravaginales CIDR durante 5 días y aplicando tratamientos con una única dosis de 500 UI de eCG y otra dosis de 500 UI de eCG más 50 mg de FSH en llamas, con 2 servicios cada 24 horas y aplicación de GnRH, el promedio de folículos obtenidos fueron  $5,25 \pm 2,5$  y  $5,94 \pm 1,71$ , el número promedio de embriones obtenidos fue de  $2,12 \pm 2,90$  y  $1,94 \pm 2,74$  respectivamente (Agüero *et al.*, 1999).

Murillo (2012), utilizando T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 $\alpha$  (clorprostenol) en alpacas, obtuvo T1= 4.66, T2=5.0 folículos preovulatorios  $\geq$  a 7 mm; T1= 3.0, T2=3.0 cuerpos lúteos respectivamente; total de embriones T1= 5, T2=1, respectivamente.

Ancco (2013), evaluó la respuesta ovárica a dos dosis superovulatorias de eCG en alpacas Suri en fase luteal, en época de empadre: T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 $\alpha$  (clorprostenol), cuyos resultados para T1=  $5,83 \pm 2,04$ , T2= $4,33 \pm 1,51$  folículos preovulatorios  $\geq$  a 7 mm; T1=  $4,83 \pm 2,48$ , T2= $3,6 \pm 1,14$  cuerpos lúteos respectivamente; T1=  $2,4 \pm 1,14$ , T2=1.0 embriones respectivamente.

Aller *et al.* (2002a), en otro protocolo de tratamiento con administración de benzoato de estradiol, seguida de la aplicación de un CIDR durante 8 días, al final de este periodo se administraron 1200 UI de eCG obteniéndose respuesta ovárica en un 80% de las llamas tratadas. El número promedio de folículos, cuerpos lúteos y embriones recuperados fue de  $4,2 \pm 1,9$ ;  $2,1 \pm 1,4$  y  $1,8 \pm 2,0$ , respectivamente, considerando únicamente las hembras que respondieron al tratamiento.

En vicuñas, se ha logrado la estimulación ovárica mediante la administración de 700 UI de eCG en ausencia de folículos dominantes o en animales tratados previamente durante 5 días con CIDR (Aba *et al.*, 2005). La respuesta ovárica (número de folículos y de cuerpos lúteos) por hembra tratada fue de  $22,75 \pm 4,26$ . A pesar de que las diferencias observadas entre ambos grupos no fueron estadísticamente significativas, el número de folículos fue mayor en los animales tratados con CIDR. En esta misma especie se ha utilizado también un tratamiento combinado de esponjas de acetato de medroxiprogesterona (60 mg), con una inyección de benzoato de estradiol, antes de la administración de 750 UI de eCG. La respuesta ovárica total (folículos y cuerpos lúteos) determinada a los 7 días de la ovulación fue de  $6,7 \pm 2,9$  (Aller *et al.*, 2002b).

Los trabajos de investigación realizados demuestran que la inserción de un dispositivo intravaginal en cualquier etapa del ciclo inhibe el desarrollo folicular, lo que se pone de manifiesto por la ausencia de folículos con un diámetro superior a los 6 mm a los 5 días de la inserción del dispositivo (Chaves *et al.*, 2002).

### **Súper estimulación ovárica durante la fase folicular (receptividad sexual)**

Los tratamientos de súper estimulación ovárica se han llevado a cabo también en alpacas y llamas durante la fase folicular, iniciando la administración de hormonas

cuando las hembras presentaban comportamiento de celo durante varios días consecutivos (Correa *et al.*, 1997; Ratto *et al.*, 1997, Velásquez y Novoa, 1999; Huanca y col., 1999).

Correa *et al.* (1997), Han obtenido resultados al administrar pFSH (220 mg en dosis decrecientes), eCG (500 UI) o la combinación de eCG y pFSH (500 UI y 156 mg); los mayores porcentajes de ovulación se obtuvieron en los animales tratados con pFSH en dosis decrecientes ( $7,3 \pm 3,1$ ), mientras que en los animales tratados con eCG sola o combinada con pFSH se observaron numerosos folículos con un diámetro superior a los 10 mm en el momento del lavado del útero. Estos resultados demostraban que se puede lograr una respuesta ovárica satisfactoria administrando el tratamiento hormonal durante el estro conductual y que la FSH resulta más eficaz que la eCG para inducir la superovulación. Por su parte, Ratto *et al.* (1997), utilizaron múltiples dosis de pFSH (un total de 200 mg repartidos en 5 días), observando que retrasando la monta con respecto al final del tratamiento hasta las 36 horas se produce un incremento de la respuesta ovárica (número medio de cuerpos lúteos  $13,8 \pm 2,7$ ), pero el número de embriones recuperados no se veía incrementado. El incremento de la dosis de gonadotropinas produce mayor respuesta ovárica, pero no permite incrementar el número de embriones recuperados, lo que sugiere la existencia de interferencias en el transporte de los gametos.

Previa evaluación ecográfica de la dinámica folicular, en ausencia del cuerpo lúteo, se realizó superovulación en 7 alpacas, utilizando dosis de 1200 UI de eCG y 1000 UI de hCG, lograron obtener un total de 26 folículos mayores a 6 mm en promedio (Ratto *et al.*, 2007).

Estudios realizados por Novoa y col. (1999), registrando la ovulaciones y colección de embriones mediante laparotomía ventromedial se tiene, T1: 750 UI eCG y 750 UI hCG,  $6.8 \pm 2.6$ ; T2: 500 UI eCG y 750 UI hCG,  $6.0 \pm 2.8$  y T3: 750 UI eCG y 1000 UI hCG,  $12.0 \pm 1.8$  cuerpos lúteos y tan solo en el T3, obtuvieron 31 embriones en el estadio de 2 a 8 blastómeros; llegando a la conclusión de que los niveles de 500 y 750 UI de eCG y 750 UI de hCG, son las apropiadas para inducir la ovulación múltiple en alpacas (cuadro 3).

**Cuadro 3. Respuesta Ovulatoria (cuerpos lúteos) en alpacas tratadas con diferentes dosis de eCG y hCG.**

	Tratamientos	Hembras (n)	Cuerpos lúteos (n)				
			Ovario izquierdo	Ovario derecho	Total	X $\pm$ 5	Rango
T1:	Día 0; eCG, 750 UI, im; Día 5; hCG, 750 UI, im	6	20	21	41	$6.8 \pm 2.6$	1-18
T2:	Día 0; eCG, 500 UI, im Día 5; hCG, 750 UI, im	6	14	22	36	$6.0 \pm 2.8$	1-18
T3:	Día 0; eCG, 750 UI, im; Día 5; hCG, 1000 UI, im	6	62	64	126	$12.6 \pm 1.8$	5-21

(Novoa y col., 1999)

Huanca y col. (1999), en un estudio emplearon dos protocolos de tratamiento en alpacas, iniciando ambos durante la etapa de receptividad sexual. El primero de ellos (T1) consistió en administrar 750 UI de hCG el día 0, seguido de 300 UI de eCG durante tres días consecutivos (d8, d9, d10), en el día 11, para inducir la ovulación se inyectaron 750 UI de hCG. El segundo tratamiento (T2) consistió en administrar 300 UI eCG durante tres días consecutivos (d8, d9, d10). En ambos grupos se realizó dos montas con machos fértiles. A los 7 días se evaluó la respuesta ovárica, observándose que el número de cuerpos lúteos en los ovarios derecho e izquierdo era mayor en el grupo T1 ( $4.1 \pm 1.7$  y  $3.6 \pm 2.1$ ) que en el T2 ( $2.0 \pm 2.2$  y  $1.6 \pm 1.7$  respectivamente). Por el contrario, el número de folículos con un diámetro superior a 10 mm fue inferior en el

T1 ( $2,3 \pm 1,9$  y  $1,7 \pm 1,5$ ) que en el T2 ( $4,4 \pm 2,5$  y  $3,8 \pm 3,1$ ), por lo que en el primero de los tratamientos se tuvo mejor respuesta ovulatoria en las alpacas.

Otro protocolo aplicado en alpacas durante la época de receptividad sexual consistió en administrar 250 UI de eCG y una pequeña dosis de pFSH (dosis total 8,75 mg) en cantidades de decrecientes mediante inyección en la submucosa vulvar, obteniendo 4,75 embriones por hembra tratada (Palomino, 1986). La utilización de esta ruta de administración dificulta la comparación de estos resultados con los obtenidos en otros estudios.

Se evaluó el efecto del tratamiento superovulatorio en las dos fases del ciclo ovárico (T1= fase no luteal y T2= fase luteal) sobre la respuesta folicular y la calidad embrionaria en 45 llamas hembras adultas. Los animales de T1 y T2 recibieron 1 ml de LH (día 0) para sincronizar la onda folicular y 1000 UI de eCG (día 3) como tratamiento superovulatorio. Se utilizaron esponjas vaginales impregnadas con progesterona entre el día 3 y 7 para simular la fase luteal en el T2. La inducción de la ovulación se hizo mediante monta natural y aplicación de 1 ml de GnRH (día 8). La colección y evaluación de embriones se realizó 7 días post cópula (día 15) en T1 y T2. En el grupo Testigo (T0) se realizó monta natural y aplicación de GnRH y 7 días después se realizó la colección de embriones. El número de folículos preovulatorios fue mayor en T1 ( $11,07 \pm 7,53$ ) y T2 ( $6,13 \pm 7,11$ ) con respecto a T0 ( $1,07 \pm 0,26$ ). El número de cuerpos lúteos fue mayor en T1 ( $9,27 \pm 3,37$ ) con respecto a T0 ( $1,07 \pm 0,26$ ) y T2 ( $6,47 \pm 4,29$ ). Asimismo, el número de embriones recuperados fue mayor en T1 ( $3,47 \pm 4,26$ ) con respecto a T0 ( $0,33 \pm 0,48$ ) y T2 ( $1,33 \pm 2,53$ ). Los resultados permiten concluir que la aplicación del tratamiento superovulatorio durante una fase

no luteal permiten obtener una mejor respuesta ovárica y embrionaria en comparación con tratamientos superovulatorios aplicados en fase luteal (Evangelista y col., 2009).

La respuesta de las alpacas a un tratamiento superovulatorio aplicado durante el periodo del celo es mayor cuando los animales han desarrollado un cuerpo lúteo en el ciclo anterior. Este hecho podría indicar que la progesterona endógena aumenta la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario, favoreciendo la secreción de gonadotropinas (Leyva y García, 1999a; 1999b).

Diversos estudios indican que la utilización de dosis elevadas de eCG provoca un incremento de la incidencia de quistes foliculares (Bravo y col., 1995). También se ha comprobado que la combinación de eCG (500 IU) con pFSH (50 mg) provoca una disminución de la expresión del celo, situación que podría ser debida a la existencia de ovulaciones asincrónicas o a la luteinización prematura de algunos folículos en el transcurso del tratamiento (Agüero y col., 1999).

## 2.9. Colección y Evaluación de Embriones

La colección de embriones en camélidos sudamericanos se puede realizar mediante técnicas de laparoscopia y por procedimientos no quirúrgicos transcervical, en las modalidades de circuito cerrado y aspiración discontinua. La técnica no quirúrgica utilizada en camélidos para la recuperación de los embriones, es similar a la descrita en vacunos (Huanca *et al.*, 2004) que consiste en hacer pasar un catéter tipo Foley de humano a través de la cérvix hasta el útero, luego se introduce el medio PBS Dulbecco's a 37°C, en cantidades de 20 a 30 mL por vez mediante una jeringa que se conecta al extremo libre de la sonda. La suave turbulencia producida por la entrada del líquido “desprenderá” fácilmente a los embriones de los pliegues de la mucosa uterina, luego de un suave masaje a los cuernos uterinos, el líquido es aspirado con la jeringa,

para ser depositado en placas petri y llevados al laboratorio e incubarse. Esta maniobra se repite varias veces hasta completar unos 300 a 400 mL (Palomino, 2000).

Una vez finalizado el lavado y teniendo el líquido recuperado con los embriones ingresan a una incubadora de 37°C para sedimentar durante 30 minutos, donde los embriones por su peso se asientan en el fondo del recipiente; después se procede a la decantación, quedando en el fondo unos 50 a 100 mL de medio, luego vaciarlas en placas petri con cuadrícula en el fondo y observar en el microscopio estereoscópico. La evaluación y clasificación se realiza lo más estrictamente posible para llegar a tener embriones transplantables (Palomino, 2000).

Los resultados en cuanto a porcentajes de recuperación de embriones en base al número de cuerpos lúteos presentes en el ovario es de  $4,8 \pm 0,9$  (66,1%) en llamas y de  $1,6 \pm 0,3$  (23,6 %) en alpacas (Huanca y col., 2006). Algunos autores han obtenido una tasa de recuperación del 79 % realizando la recogida de embriones en hembras no superovuladas (Taylor *et al.*, 2001).

Existen altas variaciones en la respuesta a los tratamientos de inducción de ovulaciones múltiples, en la cantidad y calidad de los embriones recuperados (Del Campo *et al.*, 1995). La mayor parte de los embriones recuperados se encuentran en fase de blastocisto eclosionado y su diámetro medio en llamas es de  $527,1 \pm 168,0$   $\mu\text{m}$  y en alpacas de  $534 \pm 151,4$   $\mu\text{m}$ . El 35% de embriones recolectados en las llamas eran de tamaño pequeño (<450  $\mu\text{m}$  de diámetro), el 40% de tamaño mediano (451 a 650  $\mu\text{m}$ ) y un 24% de un tamaño grande (> 651  $\mu\text{m}$ ) esta distribución fue similar en las alpacas (Del Campo *et al.*, 2002)

Las principales características que deben de evaluarse son: estado de desarrollo acorde con la edad, tamaño normal (150 a 200  $\mu$ ), forma regular del embrión y del contenido, integridad de la zona pelúcida y compactación de las blastómeras, variación del tamaño celular, color ambarino, picnosis, vesiculación, presencia de detritus o blastómeras excluidas de la masa embrionaria. Los embriones transplantables recuperados en el día 6 deberán estar en el estadio de Mórula, ocasionalmente pueden aparecer un blastocisto, (Palomino, 2000). Hasta mediados de la década de los noventa, para la evaluación se utilizó principalmente una escala de 5 puntos, considerando a los embriones como excelentes, buenos, regulares, malos o degenerados (Skidmore, 2004; Palomino, 2000). Actualmente muchos autores consideran la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, que se agrupa según su calidad en 4 grados (cuadro 4):

**Cuadro 4. Clasificación de Embriones según IETS (1998).**

Grado de Embriones	Características
<b>Grado I</b>	<b>Excelente:</b> embrión ideal, esférico, simétrico, con células, color y textura uniforme. El desarrollo embrionario corresponde al día de la recolección, blastómeros claramente visibles y zona pelúcida intacta, no existen defectos visibles.
<b>Grado II</b>	<b>Buenos y regulares:</b> Existen algunas imperfecciones triviales, el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de vesículas. Su forma puede ser ligeramente irregular.
<b>Grado III</b>	<b>Malos:</b> el embrión posee defectos definidos: detritus celulares, forma irregular, color muy oscuro o claro y/o ligero agritamiento de la zona pelúcida. Pocas células degeneradas, vesículas y presencia de blastómeros desprendidos.
<b>Grado IV</b>	<b>Degenerados y Retardados:</b> Embriones con amplia degeneración celular y/o con un estado de desarrollo seriamente retardado, sin presentar una masa principal viable.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Material Experimental

##### 3.1.1. Lugar de Estudio

El trabajo de investigación fue ejecutado en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, ubicado en el distrito de Umachiri, provincia de Melgar, Región Puno; a 3974 m.s.n.m, 14°50'18" latitud Sur, 70°44'42" longitud Oeste, a 156 km de la ciudad de Puno.

##### 3.1.2. Animales

Se seleccionaron 15 alpacas hembras adultas mayores a 4 años de edad, con un peso promedio de 60 Kg, que han tenido parto en los últimos años, las que fueron divididas al azar en tres grupos (cuadro 1), con un manejo y alimentación en pasturas naturales.

**Cuadro 1. Distribución de animales según tratamiento**

Grupo/ Tratamiento	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (grupo control)
Nº de hembras	5	5	5
Aplicación	0.33g P4 (CIDR)+ 1.0 mg Benzoato de Estradiol + 250 UI eCG.+ 50 ug GnRH	0.33g P4(CIDR)+ 1.0mg Benzoato de Estradiol+500 UI eCG+50 ug GnRH	-----

##### 3.1.3. Materiales y Equipos

- Pintura
- Plumón indeleble
- Cuaderno de campo y bolígrafo
- Calculadora

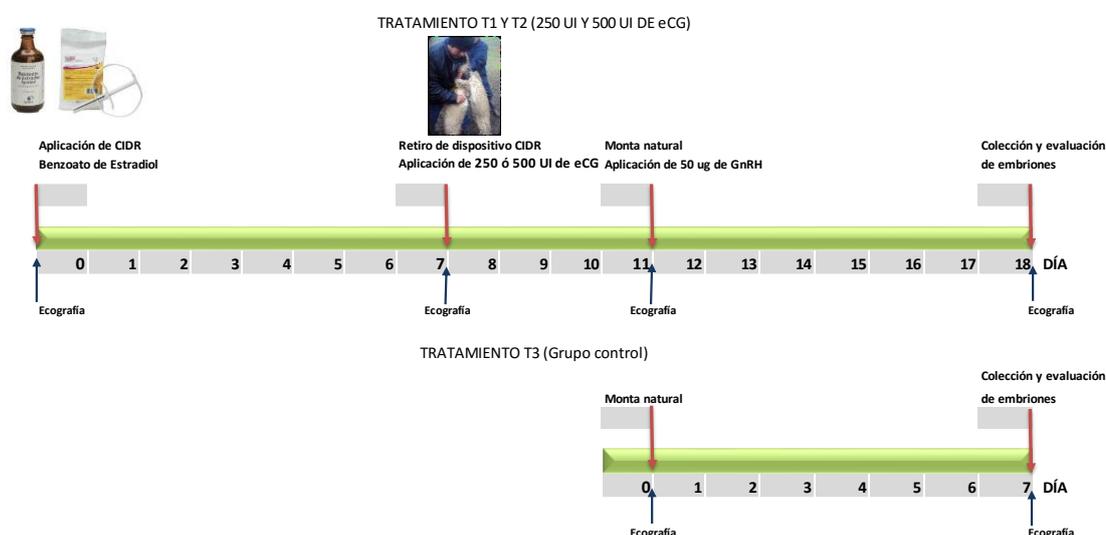
- Cámara fotográfica
- Reloj
- Alcohol yodado
- Jabón carbólico
- Papel toalla
- Torundas de algodón
- eCG
- GnRH
- CIDR – O
- Benzoato de estradiol
- Lidocaína
- Acepromacina
- PBS
- Agua bidestilada
- Suero fetal
- Sonda Foley de 2 vías
- Aplicador de cassou
- Aplicador de dispositivo CIDR
- Gel lubricante
- Jeringa tuberculina
- Jeringas descartables de 5, 10, 20 y 50 mL
- Guantes Quirúrgicos descartables
- Guantes obstétricos
- Papel aluminio
- Vaso colector con filtro
- Filtros Etkom
- Placas Petri
- Micropipetas
- Ecógrafo
- Estereoscopio
- Baño María
- Estufa
- Mesa con fijadores para sujeción

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Súper estimulación Ovárica

Las alpacas fueron seleccionadas, teniendo en consideración los últimos partos, en base a registros de parición, luego fueron sometidos a prueba de fertilidad, en la cual mostraron aceptación a la presencia del macho.

#### Esquema 1. Protocolo de tratamiento hormonal utilizado



**DÍA 0:** se realizó la evaluación ovárica mediante ecografía (MODE B, UNIVERSAL ULTRASOUND, SV-600, con dispositivo de transductor lineal de 5 a 7 MHz de frecuencia) y para la sincronización de la onda folicular, se aplicó el dispositivo vaginal CIDR ovino (0.33 g progesterona) más 1.0 mg de benzoato de estradiol, vía intramuscular.

**DÍA 7:** se retiró el dispositivo vaginal CIDR ovino, se evaluó la respuesta ovárica mediante ecografía, y luego se inyectó vía intramuscular dosis de 250 UI y 500 UI de eCG al T1 y T2 respectivamente como tratamiento para estimulación de desarrollo folicular.

**DÍA 11:** se evaluó la respuesta ovárica mediante ecografía; monta natural dirigida con repetición a las 24 horas y se aplicó 50 ug de GnRH intramuscular. El tamaño y número de folículos se examinaron a través de un equipo de ultrasonografía.

**DÍA 18:** se evaluó la repuesta ovárica mediante ecografía: número de los cuerpos lúteos formados, colección y evaluación de embriones.

### 3.2.2. Colección y Evaluación de Embriones

- ✓ Se sujetó al animal sobre una mesa con fijadores, se aplicó tranquilizantes y anestesia epidural, luego se procedió a la evacuación del contenido fecal e higienización de la zona vulvar (con agua y jabón carbólico, torundas de algodón y papel toalla desechable).
- ✓ El lavado de los embriones se realizó introduciendo vía vaginal una sonda de Foley de 2 vías 16 Fr, guiada por el embolo de un aplicador de cassou dirigiendo esta hacia el cuerno uterino.
- ✓ La sonda de Foley en la luz del cuerno uterino fue fijada por la insuflación del globo con aire, para la obstrucción del mismo, comprobándose con movimientos hacia la parte anterior y posterior de la sonda Foley con el aplicador.
- ✓ El lavado de los cuernos uterinos se realizó utilizando PBS al 1% más suero fetal al 10 %, con volúmenes de 30 a 50 mL de 3 a 4 repeticiones, usando aproximadamente 250 a 300 mL de volumen total, este medio fue introducido por la sonda Foley con una jeringa de 50 mL, hasta presentar turgencia a la palpación, luego de procedió a cerrar la sonda para evitar reflujo.
- ✓ Se realizó leves masajes en el cuerno uterino, seguido de la liberación del medio de lavado.

- ✓ Después del lavado el contenido se dejó por 10 minutos de sedimentación, el sobrenadante se xifoneó hasta dejar de 20 a 30 mL en el fondo del frasco, esta cantidad se vertió a una placa petri (Pérez, 1994).
- ✓ La evaluación de los embriones se realizó con un microscópico estereoscópico a 15X para su ubicación y 60X para su evaluación, considerando la escala propuesto por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (Stringfellow and Seidel, 1998).

### 3.2.3. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con 3 tratamientos y 5 repeticiones y analizados con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) 9.2, bajo el siguiente modelo aditivo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ = Variable respuesta (número de folículos y cuerpos lúteos).

$\mu$  = Media

$T_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento (T1=250 UI, T2=500 UI de eCG y T3= Testigo)

$E_{ij}$ = Efecto no controlable

La comparación de promedios entre tratamientos, se realizó a través de la prueba de Tukey, las variables a medir fueron: Número de folículos desarrollados, número de cuerpos lúteos obtenidos. En el caso de los embriones, se describió el número de embriones recuperados, estado de desarrollo y la tasa de colección o recuperación embrionaria (%):

$$TR = n/N \times 100$$

Donde:

$TR$ = Tasa de recuperación

$n$ = Número de embriones recuperados

$N$ = Número de cuerpos lúteos.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Número de Folículos Post Súper estimulación, según ecografía al día 11

###### 4.1.1 Número de Folículos Menores a 7 mm

En la tabla 1 se observa el número total de folículos menores a 7 mm, siendo: T1=25, T2=19, T3=17; cuyos promedios por tratamiento fue: T1=5.0±1.2, T2=3.8±1.9 y T3=4.3±0.5, sin diferencias estadísticas entre tratamientos ( $P>0.05$ ) a un análisis de varianza (anexo 4).

**Tabla 1. Número de Folículos menores a 7 mm, según ecografía del día 11**

N° Alpacas	Tratamientos		
	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
3	4	7	0
3	4	3	4
3	5	2	4
3	5	3	4
3	7	4	5
<b>Total</b>	25	19	17
<b>Promedio ± DE</b>	5.0±1.2	3.8±1.9	4.3±0.5

Al momento del empadre, las alpacas del grupo control (**T3**) aceptaron al macho, sin embargo, en el grupo **T1** (250 UI eCG) 1 alpaca y en el grupo **T2** (500 UI eCG) 2 alpacas no presentaron conducta de receptividad al macho; este comportamiento de rechazo al macho (falta de receptividad) han sido reportados por Santiani *et al.* (2002) y que este tipo de comportamiento está influenciado por la aplicación de progesterona exógena, ya que provoca un efecto inhibitorio en el desarrollo del folículo dominante y subordinados (Adams *et al.*, 1990). El rechazo al macho por las alpacas se podría explicarse también por la escasa habilidad de

los folículos pequeños de secretar cantidades significativas de estrógenos (Gore y Armstrong, 1994).

#### 4.1.2 Número de Folículos Preovulatorios ( $\geq$ A 7 mm) Post Súper estimulación

**Tabla 2. Número y promedio de Folículos Preovulatorios por tratamiento, según evaluación ecográfica del día 11**

N° Alpacas	Tratamientos		
	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
3	0	0	2
3	0	2	0
3	1	1	0
3	1	3	0
3	0	1	1
<b>Total</b>	2	7	3
<b>Promedio <math>\pm</math> DE</b>	1.0 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 1.0	1.5 $\pm$ 0.7

En la tabla 2, se observa el número total de folículos preovulatorios ( $\geq$ 7 mm) desarrollados en los tratamientos con gonadotropina coriónica equina (eCG): T1=2, T2=7, T3=3 y el promedio fue: T1=1.0 $\pm$ 0, T2=1.8 $\pm$ 1.0, T3=1.5 $\pm$ 0.7, sin diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $P>0.05$ ), (anexos 5, 6 y 7); cabe resaltar que en el T1 (250 UI) tan solo 2 alpacas alcanzaron a desarrollar un folículo preovulatorio cada uno, mientras que en el T2 (500 UI) 4 alpacas desarrollaron folículos preovulatorios, 1 alpaca llegó a desarrollar un folículo luteinizado; esto nos demuestra que existe variabilidad en la respuesta individual, hecho que ha sido descrito previamente por numerosos autores (Bourke et al., 1992b; Correa, 1997; Del Campo y col., 1996; Ratto y col., 1997; Huanca, 2008).

En nuestro trabajo el número de alpacas que no respondieron al tratamiento fue mayor para el T1 (3 animales).

Los resultados del número de folículos preovulatorios desarrollados a dosis de 250 y 500 UI de eCG son menores comparados con otros estudios como: Correa y col., 1994, utilizando progesterona (P4) más 1500 y 2000 UI de eCG respectivamente, obtuvieron 22 folículos mayores a 10 mm en alpacas, y 21 folículos mayores a 10 mm en llamas, posiblemente se debe a la mayor dosis de eCG utilizados e influencia de especie.

Aller *et al.* (2002a), administrando benzoato de estradiol, CIDR durante 8 días, 1200 UI de eCG se obtuvo una respuesta ovárica en un 80% de las llamas tratadas. El número promedio de folículos recuperados fue de  $4,2\pm 1,9$ ; este resultado es superior al presente estudio, debido a la aplicación de mayor dosis de eCG, aplicación de CIDR por 8 días y la influencia de especie animal.

Agüero y col. (1999), sincronizando la onda folicular con CIDR durante 5 días y aplicando tratamientos con una dosis única de 500 UI de eCG y otra dosis de 500 UI de eCG más 50 mg de FSH en llamas, obtuvieron  $5,25\pm 2,5$  y  $5,94\pm 1,71$  folículos respectivamente; tales resultados son superiores al presente trabajo, probablemente se atribuye a la influencia de la especie animal.

Evangelista y col. (2009), en llamas utilizando dosis de 1000 UI de eCG para T1 (fase no luteal y T2 (fase luteal), donde a este último se le inserto una esponja vaginal impregnada de 60 mg de acetato de medroxiprogesterona para simular la fase luteal y 0.0042 mg de acetato de buserelina (GnRH) para inducir ovulación, obtuvieron, en fase no luteal un promedio de  $11,07\pm 7,53$  folículos preovulatorios y en la fase luteal un promedio de  $6,13\pm 7,11$  folículos preovulatorios ( $\geq 7$  mm);

estos resultados son superiores al presente trabajo, debido a la mayor dosis de eCG utilizada, influencia de especie y tipo de hormonas utilizadas en la sincronización de onda folicular e inducción de la ovulación.

Ancco (2013), aplicando T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 $\alpha$  (clorprostenol) en alpacas, obtuvo T1= 5.83 $\pm$ 2.04, T2=4.33 $\pm$ 1.51 folículos preovulatorios  $\geq$  a 7 mm; resultados mayores comparados a este trabajo, debido posiblemente a las dosis de eCG, GnRH y la prostaglandina F2 $\alpha$  (clorprostenol) utilizada para producir lisis del cuerpo lúteo de la fase luteal natural.

#### 4.2. Número de Cuerpos Lúteos, según ecografía al Día 18

**Tabla 3. Número promedio de Cuerpos Lúteos por tratamiento, según ecografía del día 18**

N° Alpacas	Tratamiento		
	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
3	0	6	1
3	0	0	0
3	0	0	0
3	2	0	0
3	3	0	1
<b>Total</b>	5	6	2
<b>Promedio<math>\pm</math>DE</b>	1.0 $\pm$ 1.4(a)	1.2 $\pm$ 2.7(b)	0.4 $\pm$ 0.5(a)

En la tabla 3, se observa los resultados del número total de cuerpos lúteos obtenidos posterior a la inducción de ovulación: T1= 5, T2= 6 y T3= 2 y promedios por tratamiento: T1=1.0 $\pm$ 1.4, T2=1.2 $\pm$ 2.7 y T3=0.4 $\pm$ 0.5; sometidos al análisis de varianza (anexos 8, 9) existe diferencia estadística significativa entre los grupos de tratamiento

( $P \leq 0.05$ ); al compararlos con la prueba de Tukey, existe diferencia estadística significativa (anexo 10), en donde el número de cuerpos lúteos fue mayor en T2 ( $1.2 \pm 2.7$ ) con respecto a T3 ( $0.4 \pm 0.5$ ) ( $P \leq 0.05$ ).

Velásquez y Novoa (1999), comparando la respuesta ovulatoria en la fase folicular (1000 UI eCG más 1000 UI hCG) y fase luteal inducida (dispositivo CIDR como progesterona exógena, 1000 UI eCG más 1000 UI de hCG) reportan  $8.20 \pm 2.58$  y  $17.80 \pm 8.34$  cuerpos lúteos desarrollados en alpacas respectivamente; dichos resultados son mayores al presente trabajo, probablemente se debe a la mayor dosis de eCG utilizadas, además de que 1000 UI de hCG tuvo mejor respuesta en la inducción de la ovulación, frente a los 50 ug de GnRH utilizados en nuestro estudio.

Aller *et al.* (2002a), en llamas, administrando benzoato de estradiol, CIDR durante 8 días, al final de este periodo se administraron 1200 UI de eCG se obtuvieron  $2,1 \pm 1,4$  cuerpos lúteos, considerando únicamente las hembras que respondieron al tratamiento; este resultado es superior al presente estudio, posiblemente a la mayor dosis de eCG, aplicación de CIDR por 8 días y la influencia de la especie animal.

Evangelista y col. (2009), utilizando 1000 UI de eCG, esponja vaginal impregnada de 60 mg de acetato de medroxiprogesterona y 0.0042 mg de acetato de buserelina (GnRH) para inducir ovulación en llamas, reportan  $9.27 \pm 3.37$  cuerpos lúteos en la fase no luteal y  $6.47 \pm 4.97$  cuerpos lúteos en la fase luteal. Dichos resultados son superiores al presente trabajo, debido probablemente a la mayor dosis de eCG utilizada, influencia de especie y tipo de hormonas utilizadas en la sincronización de onda folicular e inducción de la ovulación.

Aba *et al.* (2005), en vicuñas en ausencia de folículos dominantes o tratados previamente con CIDR durante 5 días y administración de 700 UI de eCG, obtuvieron una respuesta ovárica promedio de  $22,75 \pm 4,26$  cuerpos lúteos. En esta misma especie Aller *et al.*, 2002b, utilizando un tratamiento combinado de esponjas de acetato de medroxiprogesterona (60 mg), benzoato de estradiol y administración de 750 UI de eCG. La respuesta ovárica total (folículos y cuerpos lúteos) determinada a los 7 días de la ovulación fue de  $6,7 \pm 2,9$ . Dichos resultados son mayores al presente estudio, se atribuye la posibilidad a la mayor dosis de eCG utilizados e influencia de especie.

Correa *et al.* (1997), Reporta un total de  $1.5 \pm 0.5$  cuerpos lúteos luego de inducir la ovulación con 750 UI de hCG en llamas que fueron estimulados con 500 UI de eCG; este resultado es ligeramente superior al T2 del presente estudio, debido probablemente a la influencia de especie y a la hormona hCG que tiene actividad de LH, que provoca la inducción de la ovulación.

Ancco (2013), utilizando en T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 $\alpha$  (clorprostenol) en alpacas, obtuvo T1=  $4.83 \pm 2.48$ , T2= $3.6 \pm 1.14$  cuerpos lúteos. Estos resultados son mayores a nuestro trabajo, debido a la mayor dosis de eCG y GnRH utilizada para la inducción de la ovulación. La respuesta a la GnRH, está condicionada por los niveles endógenos de estrógenos y el grado de desarrollo del folículo dominante. Algunos autores son capaces de inducir la ovulación con 750  $\mu$ g de GnRH (Correa *et al.*, 1997), mientras que otros indican que son necesarios 1000  $\mu$ g (Bravo y col., 1992). Para que se produzca la ovulación en las alpacas y llamas, el folículo dominante deberá haber alcanzado un diámetro superior a los 7 mm y estar en fase de crecimiento. Cuando los folículos son de menor tamaño no

se produce la ovulación y si el folículo dominante está en fase de regresión se produce la luteinización del mismo (Bravo y col., 1991).

En el T1 (250 UI) en la alpaca N° 1, se observó 3 cuerpos lúteos, T2 (500 UI), en la alpaca N° 11, se observó 6 cuerpos lúteos, a pesar de que según ecografía del día 11 no presentaban folículos preovulatorios, pero si se observó 7 folículos de 4, 5 y 6 mm de diámetro, que probablemente llegaron a ovular; Alberio y Aller, 1996, observaron en una llama hembra que presentó un folículo de 6 mm, al cuarto día del servicio se encontró un cuerpo lúteo de 13 mm; esto no coincide con Bravo et al., 1991, quienes observaron que un folículo de 6 mm no es capaz de ovular ante el estímulo de la cópula, determinando que 7 mm o más es el tamaño mínimo ovulatorio. Además, la ocurrencia de ovulación en alpacas que presentaban folículos pequeños, estaría explicado por los cambios en la estructura folicular del folículo dominante y por la actividad proliferativa que ocurre en el intervalo entre el pico de LH y la ovulación (Gore and Armstrong, 1994), adquiriendo la capacidad ovulatoria por el incremento de la expresión de receptores de LH en las células de la granulosa (Sartori *et al.*, 2001).

#### **4.3. Recuperación de Embriones**

En la tabla 4, se observa que en los tratamientos T2 (500 UI eCG) y T3 (Testigo) no se logró recuperar embriones, a pesar de que se observaron cuerpos lúteos a la ecografía en 3 alpacas (N° 11, 3 y 4); en el grupo T1 (250 UI eCG), se logró recuperar 01 embrión de la alpaca N°6, siendo la tasa de recuperación embrionaria del 20 %. La calidad del embrión es de grado 2 (buena calidad) según la escala de clasificación de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (Stringfellow and Seidel, 1998).

**Tabla 4. Recuperación de Embriones de Alpacas por tratamiento**

	<b>T1 (250 UI e CG)</b>	<b>T2 (500 UI eCG)</b>	<b>T3 (Testigo)</b>
<b>Embriones recuperados (n)</b>	1.0	0.0	0.0
<b>Embriones por Alpaca (n)</b>	0.2	0.0	0.0
<b>Tasa de Recuperación Embrionaria<sup>1</sup> (%)</b>	20.0%	0.0%	0.0%

<sup>1</sup> (N° embriones recuperados / N° cuerpos lúteos) X 100

La baja tasa de recuperación embrionaria en el grupo T1 (20.0%), no está dentro del rango esperado, a pesar que la técnica de colección fue lo mismo para los tres tratamientos (anexo 11); sin embargo Correa y col. (1994), reporta 0% de tasa de recuperación embrionaria; en otros estudios reportados, la mayor tasa de colección embrionaria en llamas fue de 71.8% (Huanca et al., 2004), tasa de colección embrionaria en llamas y alpacas fue del 50% (Del Campo *et al.*, 1995). Santiani y col. (2006), con tratamientos de Progesterona y 1000 UI de eCG obtuvieron una tasa de recuperación embrionaria de 21.98%. Evangelista y col. (2009), obtuvieron una tasa de recuperación embrionaria de 37.7% en fase folicular y una tasa de colección embrionaria del 22 % en la fase luteal. Novoa y col. (1999), con tratamientos de 500 UI de eCG y 750 UI de hCG no obtuvo ningún embrión y con tratamiento de 750 UI y 1000 UI de hCG obtuvieron una tasa de colección embrionaria del 25%.

La baja tasa de colección embrionaria en el grupo T1 (250 UI eCG) y nula tasa de colección embrionaria en T2 (500 UI eCG), se debe a una consecuencia de que la dosis utilizadas no son suficientes como para que la función FSH y LH de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) actúe desencadenando efectos fisiológicos capaces de producir mayor número de folículos preovulatorios y una ovulación múltiple.

## V. CONCLUSIONES

- 1)** En el protocolo de estimulación ovárica aplicado con dosis de 250 UI y 500 UI de eCG, 50 ug GnRH, no hay diferencia en el número de folículos preovulatorios observados ( $T1=1.0\pm 0.0$  y  $T2=1.8\pm 1.0$ ), ( $P>0.05$ ).
  
- 2)** En el protocolo de estimulación ovárica aplicado con dosis de 250 UI y 500 UI de eCG, 50 ug GnRH, ( $T1=1.0\pm 1.4$ ,  $T2=1.2\pm 2.7$  cuerpos lúteos) existe diferencia estadística en el número de cuerpos lúteos recuperados, siendo superior el T2 con respecto al T3 ( $P\leq 0.05$ ).
  
- 3)** En el T1 (250 UI eCG) se recuperó 01 embrión, de grado 2 (buena calidad) siendo la tasa de recuperación del 20%. En el T2 (500 UI eCG) y T3 (grupo control) no se lograron recuperar embriones.

## VI. RECOMENDACIONES

- 1) Realizar más estudios aplicando el presente protocolo, considerando el desarrollo y ovulación de folículos  $\geq$  a 6 mm.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba, M.** 1995. Studies on the reproductive endocrinology of llamas and alpacas from mating throughout early pregnancy. Master Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. pp: 11-78.
- Aba, M.; M. Quiroga; N. Auza; M. Forsberg and H. Kindahl.** 1999. Control of ovarian activity in llamas (*Lama glama*) with medroxiprogesterone. *Reprod. Domest. Anim.* **34**, 471-476.
- Aba, M.; M. Miragaya; M. Chaves; E. Capdevielle; B. Rutter and A. Agüero.** 2005. Effect of exogenous progesterone and eCG treatment on ovarian follicular dynamics in vicuñas (*Vicugna vicugna*). *Anim. Reprod. Sci.* **86**: 153-161.
- Abecia, J.; F. Forcada and A. González-Bulnes.** 2011. Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.27, n.1, p.67-79.
- Adams, G.; G. Griffin y O. Ginther.** 1989. In situ morphologic dynamics of ovarios, uterus and cervix in llamas. *Biology of Reproduction*; **41**:551-558.
- Adams, G.; J. Sumar y O. Ginther.** 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. reprod. Fert.* **90**:525-535.
- Adams, G.** 2001. Comparative aspects of follicular dynamics in camelids. *Rev. Inv. Vet. (Perú)*. Suplemento 1: 142-147.
- Agüero, A; M. Chaves; E. Capdevielle y A. Russo.** 1999. Superovulación en llamas: comparación de dos tratamientos. II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco—Perú. pp: 94.

- Alberio, R. y J. Aller. 1996.** Control y sincronización de la onda folicular mediante la aplicación de progesterona exógena en llamas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* **16(4)**, 325-329.
- Aller, J.; G. Rebuffi; A. Cancino and R. Alberio. 2002a.** Successful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. *Animal Reproduction Science.* 73, 121-127.
- Aller, J.; G. Rebuffi and A. Cancino. 2002b.** Superovulación response to progestogen –eCG treatment in vicugna (*Vicugna vicugna*) in semicaptive conditions. *Theriogenology.* **57**, 576.
- Ancco, E. 2013.** Respuesta a dos Dosis Superovulatorias con eCG en Alpacas Suri en época de Empadre. Tesis Pregrado. FMVZ, UNA – Puno.
- Araínga, M.; V. Leyva; W. García y E. Franco. 2003.** Efecto de la GnRH en el proceso del reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. *Rev. Inv. Vet. (Perú).* 14 (2): 104-110.
- Bourke, D.; C. Kyle; T. Mcevoy and P. Young. 1992a.** Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: *Proceedings 12<sup>th</sup> Int Congress Animal Reproduction*; 68:181-190.
- Bourke, D.; C. Adam and C. Kyle. 1992b.** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). *Vet. Rec.* **130**, 424-428.
- Bourke, D.; C. Kyle; T. Mc Evoy; O. Young and C. Adam. 1995a.** Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology.* **44**, 255-268.

- Bourke, D.; C. Adam; C. Kile; P. Young and T. Mc Evoy.** 1995b. Recipient synchronization, and embryo transfer in South American camelids. *Theriogenology*. **43**, 171.
- Bravo, W. y J. Sumar.** 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 30: 271-281.
- Bravo, W.** 1990. Studies on ovarian dynamics and response to copulation in the south american camelids, *Lama glama* and *Vicugna pacos*. Tesis Doctor Philosophy, pp 88.
- Bravo, W.; M. Fowler; G. Stabenfeldt; B. Lasley.** 1990b. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biol. Reprod.* 43: 579-585.
- Bravo, W.; M. Fowler; G. Stabenfeldt and B. Lasley.** 1990c. Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology*. **33**, 891-899.
- Bravo, W., G. Stabenfeldt; B. Lasley and M. Folwer.** 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated south american camelids. *Biol. Reprod.* 45, 553-559.
- Bravo, W.; G. Stabenfeldt; M. Fowler and B. Lasley.** 1992. Pituitary response to repeated copulation and/or gonadotropin-releasing hormone administration in llamas and alpacas. *Biol. Reprod.* **47**, 884-888.
- Bravo, W.; M. Fowler and B. Lasley.** 1994. The postpartum llama: fertility after parturition. *Biol. Reprod.* **51**, 1084-1087.
- Bravo, W.; T. Tsutsui and L. Lasley.** 1995. Dose response to equine gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. *Small ruminant Research* 18:157-163.

- Bravo, W. 2002.** The Reproductive process of south American camels, Seagull Printing. United Status of America.
- Bravo, W.; L. Jiménez; V. Alarcón y C. Ordoñez. 2003.** El efecto de la Progesterona exógena en el ciclo ovárico de la alpaca hembra. Res. III Congreso mundial de Camélidos. Potosí, Bolivia.
- Brown, B. 2000.** A review on reproduction in south american camelids. Anim. Reprod. Sci. 58 (3-4): 169-195.
- Carretero, M.; M. Chaves; A. Agüero y M. Miragaya. 2006.** Sincronización de la onda folicular mediante la administración de progesterona y benzoato de estradiol inyectables en la especie Lama glama. Res. del IV Congreso mundial sobre Camélidos. Santa María- Provincia de Catamarca, Argentina.
- Chaves, M.; A. Agüero; J. Egey; M. Flores y B. Rutter. 1998.** Sincronización de la onda folicular en llamas utilizando un dispositivo intravaginal (CIDR). In: Proceedings of the XVI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. p: 139.
- Chaves, M.; M. Aba; A. Agüero; J. Egey; V. Berestin and B. Rutter. 2002.** Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. Animal Reproduction Science 69, 37-46.
- Correa, J.; M. Ratto y R. Gatica. 1994.** Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con Progesterona y Gonadotropina Arch. Med. Vet. 26: 59-64.

- Correa, J.; M. Ratto and R. Gatica.** 1997. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. *Animal Reproduction Science*. 46, 289-296.
- Ciprian, A. y G. Pérez.** 2000. Efecto del plasma seminal como factor de ovulación en alpacas y llamas. XV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias–Cusco; 15–16 p.
- Del Campo, M.; H. Del Campo; G. Adams and R. Mapletoft.** 1995. The application of new reproductive technologies to south american camelids. *Theriogenology* 43: 21-30.
- Del Campo, M., H. Del Campo; M. Donoso and O. Ginther.** 1996. Efecto de diferentes características de la hembra en la recuperación y morfología de ovocitos de llamas. I Congreso Mundial sobre Camélidos. Cajamarca–Perú. pp: 5.
- Del Campo, M.; F. Toro; A. Von Baer; S. Montesinos; X. Donoso and L. Von Baer.** 2002. Morphology and physiology of llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama paco*) embryos. *Theriogenology*. 57, 581.
- D'occhio, M.; C. Novoa and W. Vera.**1997. Ovarian follicle regression and emergence of a new follicular wave after injection of 17 $\beta$ -oestradiol in alpacas. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 29,102.
- Echevarría, L.** 2001. La ecografía como técnica diagnóstica. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2). Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM, Lima, Perú.
- Evangelista, S.; A. Cordero; A. Santiani; M. Vásquez; O. Cárdenas y W. Huanca.** 2009. Estimulación con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) Durante las Fases

Luteal y No Luteal Sobre la Respuesta Ovárica y Calidad Embrionaria en Llamas.

Rev. Inv. Vet. Perú 2009; 20 (1): 33-40.

**Fernandez Baca, S.** 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. Anim. Reprod. Sci. 33: 307-323.

**Ferrer, M.; A. Agüero; M. Chaves; F. Russo y B. Rutter.** 2002. Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). Área de Teriogenología. Facultad de ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. In.Vet. ISSN: 1514-6634. 2002, 4(1): 7-11.

**García, W.; D. Pezo; F. San Martín; J. Olazábal y F. Franco.** 2005. Manual del técnico alpaquero, IVITA-UNMSA, Lima ITDG LA, 105 p.

**Gore, R. and D. Armstrong.** 1994. Follicular steroidogenesis and its control. En: Knobil & Nelly (eds). The physiology of reproduction. 2nd ed. New York: Raven Press. p 571-628.

**Hafez, S. y B. Hafez.** 2002. Reproducción e Inseminación Artificial de Animales Domésticos. Séptima edición, Editorial Interamericana-Mc Graw Hill-México.

**Huanca, W.; O. Cárdenas; A. Cordero; T. Huanca y R. Sapaná.** 1999. Respuesta ovárica a gonadotropinas (eCG y hCG) en alpacas durante la época seca. II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco-Perú. pp: 92.

**Huanca, W.; A. Cordero; A. Santiani; T. Huanca; O. Cárdenas; G. Adams and M. Ratto.** 2004. Ovarian response and embryo production in llamas treated with equine chorionic gonadotropin alone or with a progestin-releasing vaginal sponge at the time of follicular wave emergence. Theriogenology 72; 803-808.

**Huanca, W.; M. Ratto; A. Cordero; A. Santiani; T. Huanca; O. Cárdenas y G.**

**Adams.** 2006. Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. Resumen V Congreso Mundial de Camélidos, Catamarca–Argentina.

**Huanca, T.** 2008. Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (FSH y eCG) en la respuesta Ovárica y la producción de embriones en alpacas (*Vicugna pacos*). Universidad Compostela – España.

**IETS.** 1998. IETS proposed guide for classification of embryos. Embryo Transfer Newsletter, published by the International Embryo Transfer Society 2, 9.

**Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI).** 2013. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Resultados definitivos. <http://www.inei.gob.pe/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENAGRO.pdf>.

**Leyva, V. y W. García.** 1999a. Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. Resumen del II Congreso Mundial de Camélidos. Cusco-Perú. pp: 87.

**Leyva, V. y W. García.** 1999b. Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco–Perú. pp: 89.

**Mamani, R.** 2004. Descripción anatomo radiológica del aparato urogenital de la alpaca (*Vicugna pacos.*), TESIS pregrado UNA, FMVZ, Puno-Perú.

**Miragaya, M.; M. Aba; E. Capdevielle; M. Ferrer; M. Chaves; B. Rutter and A. Agüero.** 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). Theriogenology 61 (4):663-671.

- Monniaux, D.; D. Chupin and J. Saumande.** 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*. 19, 55-81.
- Murillo, Y.** 2012. Evaluación de Embriones en respuesta a dos Dosis Superovulatorias con eCG en Alpacas Suri en época seca. Tesis Pregrado. FMVZ, UNA – Puno.
- Novoa, C. y J. Sumar.** 1968. Colección de huevos in vivo y ensayos de transferencia en alpacas. III Boletín Extraordinario, IVITA, UNMSM pp. 31-34.
- Novoa, C. y V. Leyva.** 1996. Reproducción en alpacas y llamas. Publicación Científica IVITA N° 26:30.
- Novoa, C.; E. Franco; W. García y D. Pezo.** 1999. Dosis de gonadotropinas (eCG y hCG) superovulación y obtención de embriones en alpacas. *Rev. Inv. Vet Perú*; 10(1): 48-53.
- Palomino, H.** 2000. Biotecnología del Transplante y Micromanipulación de Embriones de Bovinos y Camélidos Sudamericanos. Editores Importadores, Perú.
- Parraguez, V.** 2007. La Ecografía como herramienta para la producción de pequeños rumiantes y Camélidos sudamericanos. V Congreso de especialistas en Pequeños rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Mendoza Argentina.
- Pérez, G.** 1994. Efecto de la GnRH (Gonadorelin) sobre el desarrollo folicular, método de inducción de ovulación y embriones en alpacas. Tesis Maestría Ganadería Andina. 75 pp.
- Ratto, M.; R. Gatica and J. Correa.** 1997. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*. 48, 325-330.

- Ratto, M.; J. Singh; W. Huanca and G. Adams.** 2003. Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate fixed-time natural mating in llamas. *Theriogenology*. 60: 1645-1656.
- Ratto, M.** 2005. Ovarian follicular synchronization, ovulation and oocyte development in llamas and alpacas. PhD.Thesis.University of Saskatchewan. Saskatoon. Canada. pp: 1-150.
- Ratto, M.; C. Gomez; M. Bernald and G. Adams.** 2007. Effect of ovarian superstimulation on COC collection and maturation in alpacas. *Animal Reproduction Science*. 246-256.
- Roche, J. and J. Ireland.** 1984. Manipulation of ovulation in cattle. Proc. 10th Int. Congr. Reprod. A. I. Urbana –Champaign. Vol IV, 9-17. San Martín M (1961): Fisiología de la reproducción de la alpaca, Anim. Symp. Sobre problemas ganaderos. Lima-Perú. pp: 121- 131.
- Santiani, A.; V. Leyva y W. García.** 2002. Efecto inhibitorio de la progesterona sobre el desarrollo de la onda folicular en llamas. *Rev. Inv. Vet., Perú* 13(2): 10-17.
- Santiani, A.; S. Evangelista; A. Cordero; M. Vásquez; T. Huanca; O. Cárdenas y W. Huanca.** 2006. Efecto del tratamiento con progesterona-eCG sobre la calidad embrionaria en llamas. APPA – ALPA, Cusco-Perú, 2007.
- Sartori, R.; P. Fricke; F. Ferreira; O. Ginther and M. Wiltbank.** 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod* 65: 1403-1409.
- Sato, A.** 1982. Anatomía del Aparato genital de la Hembra de la Alpaca (*Vicugna pacos*). VII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, ICA-PERÚ.

- Sato, A y L. Montoya.** 1990. Aparato reproductor de la Alpaca (*Lama pacos.*).  
Revista de Camélidos Sudamericanos N° 7. UNMSM – IVITA – CICCS.
- Skidmore, L.** 2004. Embryo transfer. Lecture Notes for the Shorter Course in  
Reproduction in the Dromedary Camel. Publiser: International Veterinary  
Information Service, Ithaca, New York, USA. pp 4.
- Smith, C.; A. Peter and D. Pugh.** 1994. Reproduction in llamas and alpacas. A  
review Theriogenolgy; 41:573.
- Sumar, J.** 1985. Reproductive physiology in South American camelids. In: R.B. Land  
and D.W. Robinson (Editors), Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths,  
London, 81-95.
- Sumar, J.** 1989. Anatomía ultrasónica del aparato genital de la alpaca hembra.  
Resumen de XII reunión científica anual, asociación peruana de Prod. Anim.,  
Lima-Perú.
- Sumar, J.** 2000. Llamas y Alpacas. Reproducción e Inseminación Artificial en  
Animales. Mexico: Editorial Interamericana – Mc Graw – Hill.
- Stringfellow, D. and S Seidel.** 1998. Manual of the International Embryo Transfer  
Society: a Procedural Guide and General Information for the use of embryo transfer  
technology, emphasizing sanitary precautions. International Embryo Transfer  
Society. Tercera edición. 173 p.
- Tamayo, M.** 2007. La Ecografía como medio de diagnóstico y evaluación de los  
procesos reproductivos en el bovino. Departamento de Clínica, Facultad de  
Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de La Habana. San José, La Habana.

- Taylor, S; P. Taylor; A. James; R. Denniston y R. Godke.**2001. Alpaca offspring bom after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*. **53**, 1-344.
- Vademécum veterinario IPE Digital. 2015.**  
<http://www.veterinarioipe.com.mx/producto/detalle?idp=13307>.
- Vaughan, J.** 2001. Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*). PhD. Thesis. Central Queensland University.
- Vaughan, J. y A. Tibary. 2006.** Reproduction in fenale South American camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research*. 61, 259-281.
- Velásquez, C. y C. Novoa.** 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev Inv. Vet. Perú*; 10(1): 39-47.
- Zirena, V.** 1978. Descripción macroscópica y microscópica del aparato reproductivo femenino de la alpaca (*Lama pacos*). TESIS pregrado, UNA FMVZ, Puno-Perú.

# ANEXO

**Anexo 1.-Número de Folículos, según ecografía del día 0**

N° Alpacas/ Tratamiento	T1 (250 UI)			T2 (500 UI)			T3 (Testigo)		
	N° Folículos			N° Folículos			N° Folículos		
	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total
3	4	0	4	2	1	3	4	2	6
3	7	0	7	6	1	7	3	0	3
3	6	0	6	5	0	5	2	2	4
3	1	3	4	1	1	2	3	0	3
3	2	1	3	3	1	4	0	3	3
<b>Total</b>	20	4	24	17	4	21	12	7	19
<b>Promedio</b>	4	0.8	5	3	1	4	2	1	4

**Anexo 2.-Número de Folículos, luego de sincronización de la onda folicular con CIDR (0.33 g de P4) y 1.0 mg de BE, según ecografía del día 7**

N° Alpacas/ Tratamiento	T1 (250 UI)			T2 (500 UI)			T3 (Testigo)		
	N° Folículos			N° Folículos			N° Folículos		
	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total
3	0	1	1	7	0	7	1	3	4
3	5	0	5	5	0	5	3	2	5
3	4	0	4	1	1	2	0	1	1
3	4	0	4	1	1	2	4	1	5
3	0	1	1	3	1	4	4	1	5
<b>Total</b>	13.0	2.0	15.0	17.0	3.0	20.0	12.0	8.0	20.0
<b>Promedio</b>	4.3	1.0(a)	3.0	3.4	1.0(a)	4.0	3.0	1.6 (b)	4.0

P≤0.0.5

**Anexo 3.-Número de Folículos, luego de la aplicación de gonadotropina coriónica equina (eCG), según ecografía del día 11**

N° Alpacas/ Tratamiento	T1 (250 UI)			T2 (500 UI)			T3 (Testigo)		
	N° Folículos			N° Folículos			N° Folículos		
	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total	< 7mm	≥ 7mm	Total
3	4	0	4	7	0	7	0	2	2
3	4	0	4	3	2	5	4	0	4
3	5	1	6	2	1	3	4	0	4
3	5	1	6	3	3	6	4	0	4
3	7	0	7	4	1	5	5	1	6
<b>Total</b>	25	2	27	19	7	26	17	3	20
<b>Promedio ± DE</b>	5.0±1.2	1.0±0.0	5.4±1.3	3.8±1.9	1.8±1.0	5.2±1.5	4.3±0.3	1.5±0.7	4.0±1.4

**Anexo 4.- Análisis de Varianza (ANVA) para el Número de Folículos < a 7 mm**

F de V	GDL	SC	CM	Fc	Pr > F
Modelo	2	3.66	1.83	0.94	0.42
Error	11	21.55	1.95		
Total	13	25.21			

(P>0.05)

**Anexo 5.-Número de Folículos Preovulatorios (≥ 7 mm) luego de la aplicación de gonadotropina coriónica equina (eCG), según ecografía del día 11**

N° Alpacas	Tratamiento		
	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
3	4	7	0
3	4	3	4
3	5	2	4
3	5	3	4
3	7	4	5
<b>Total</b>	25	19	17
<b>Promedio ± DE</b>	5.0±1.2(a)	3.8±1.9(a)	4.3±0.5(a)

**Anexo 6.- Análisis de Varianza (ANVA) para el Número de Folículos preovulatorios  $\geq$  a 7 mm**

F de V	GDL	SC	CM	Fc	Pr > F
Modelo	2	0.75	0.38	0.58	0.59
Error	5	3.25	0.65		
Total	7	4.00			

(P>0.05)

**Anexo 7.-Prueba de Tukey del Número de Folículos Preovulatorios  $\geq$  a 7 mm**

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
T2 500 UI eCG vs T1 250 UI eCG	0.75	1.07	3.25	0.57	No
T2 500 UI eCG vs T3 Grupo Control	0.25	0.36	3.25	0.93	No
T3 Grupo Control vs T1 250 UI eCG	0.50	0.62	3.25	0.82	No
Valor crítico del d de Tukey:			4.60		

Categoría	Media estimada	Grupos
T2 500 UI eCG	1.75	A
T3 Grupo Control	1.50	A
T1 250 UI eCG	1.00	A

(P>0.05)

**Anexo 8.-Número de Cuerpos Lúteos, por efecto de 250 y 500 UI de eCG, 50 ug de GnRH, según ecografía del día 18**

N° Alpacas	Tratamiento		
	T1 (250 UI eCG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
3	0	6	1
3	0	0	0
3	0	0	0
3	2	0	0
3	3	0	1
<b>Total</b>	5	6	2
<b>Promedio±DE</b>	1.0±1.4(a)	1.2±2.7(b)	0.4±0.5(a)

**Anexo 9.-Análisis de Varianza (ANVA) del Número de Cuerpos Lúteos por efecto de dosis de 250 UI y 500 UI de eCG**

Fuente	GDL	SC	CM	Fc	Pr > F
Modelo	2	16.70	8.35	33.40	0.03
Error	2	0.50	0.25		
Total	4	17.20			

P≤0.05

**Anexo 10.- Prueba de Tukey para el Número de Cuerpos Lúteos por efecto de dosis de 250 UI y 500 UI de eCG**

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
T2 500 UI eCG vs T3 Grupo Control	5.00	8.17	5.89	0.03	Si
T2 500 UI eCG vs T1 250 UI eCG	3.50	5.76	5.89	0.05	No
T1 250 UI eCG vs T3 Grupo Control	1.50	3.00	5.89	0.17	No
Valor crítico del d de Tukey:			8.33		

Categoría	Media estimada	Grupos
T2 500 UI eCG	6.00	A
T1 250 UI eCG	2.50	A B
T3 Grupo Control	1.00	B

P≤0.05

**Anexo 11.- Tasa de Recuperación de Embriones en Alpacas por efecto de dosis de 250 UI y 500 UI de eCG**

	T1 (250 UI e CG)	T2 (500 UI eCG)	T3 (Testigo)
<b>Embriones recuperados (n)</b>	1.0	0.0	0.0
<b>Embriones por alpaca (n)</b>	0.2	0.0	0.0
<b>Tasa de Recuperación Embrionaria<sup>1</sup> (%)</b>	20.0%	0.0%	0.0%

<sup>1</sup>(N° embriones recuperados /N° cuerpos lúteos) X 100



**Anexo 13.- Ficha de seguimiento ecográfico individual en el tratamiento con eCG**

**Identificación del animal:**

Nro de Arete:.....RAZA:.....EDAD:.....
PRUEBA DE FERTILIDAD:.....
GRUPO DE TRATAMIENTO:.....

**METODOLOGÍA DEL PROTOCOLO:**

**DÍA 0**

1era ECOGRAFÍA:.....
APLICACIÓN DE DISPOSITIVO DE SINCRONIZACIÓN:.....

**DÍA 7**

RETIRO DE DISPOSITIVO DE SINCRONIZACIÓN:.....
2da ECOGRAFÍA:.....
APLICACIÓN DE eCG. (250 ó 500 ó 0 UI):.....

**DÍA 11**

3era ECOGRAFÍA:.....
MONTA NATURAL:.....
APLICACIÓN DE 50 ug GnRH.:.....

**DÍA 18**

4ta ECOGRAFÍA:.....
COLECCIÓN DE EMBRIONES:.....

**NOTA:**

Tratamiento 1: 250 IU DE eCG.

Tratamiento 2: 500 UI de eCG.

Tratamiento 3: 0 UI de eCG.

La aplicación del dispositivo de sincronización, eCG, GnRH solo a los grupos de tratamiento 1 y 2.

**Anexo 14.- Ficha de seguimiento ecográfico individual en el tratamiento con eCG (continuación)**

Nro. Arete:.....Nro. de Tratamiento:.....Raza:.....Edad:.....

Prueba de fertilidad:.....Observaciones:.....

1era Ecografía día 0	(OI)	Dimensiones	2da Ecografía: día 7	(OD)	Dimensiones
Observaciones:			Observaciones:		
2da Ecografía: día 7	(OI)	Dimensiones	2da Ecografía: día 7	(OD)	Dimensiones
Observaciones:			Observaciones:		

**Anexo 15.- Ficha de seguimiento ecográfico individual en el tratamiento con eCG (continuación)**

Nro. Arete:.....Nro. de Tratamiento:.....Raza:.....Edad:.....

Prueba de fertilidad:.....Observaciones:.....

3era Ecografía, Día 11	(OI)	Dimensiones	3era Ecografía, Día 11	(OD)	Dimensiones
Observaciones:			Observaciones:		
4ta Ecografía, Día 18	(OI)	Dimensiones	4ta Ecografía, Día 18	(OD)	Dimensiones
Observaciones:			Observaciones:		

**PANEL FOTOGRÁFICO**

**Imagen 1. Evaluación ecográfica de Alpacas**



**Imagen 2. Imagen de ecografía de Folículo Preovulatorio (7 mm)**

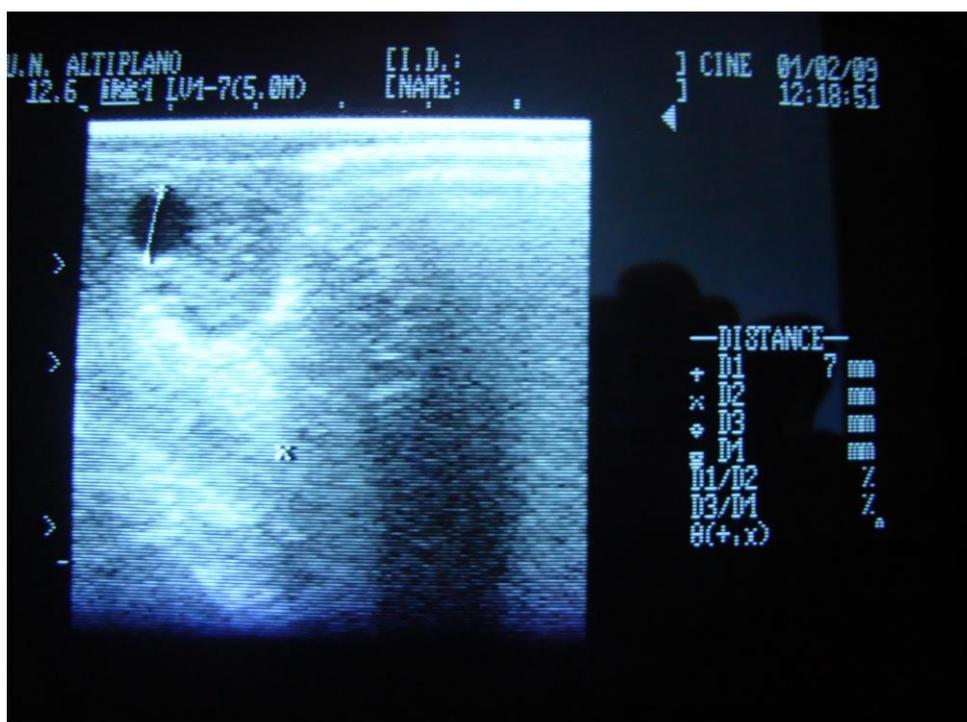


Imagen 3. Imagen de ecografía de un Folículo (9 mm)

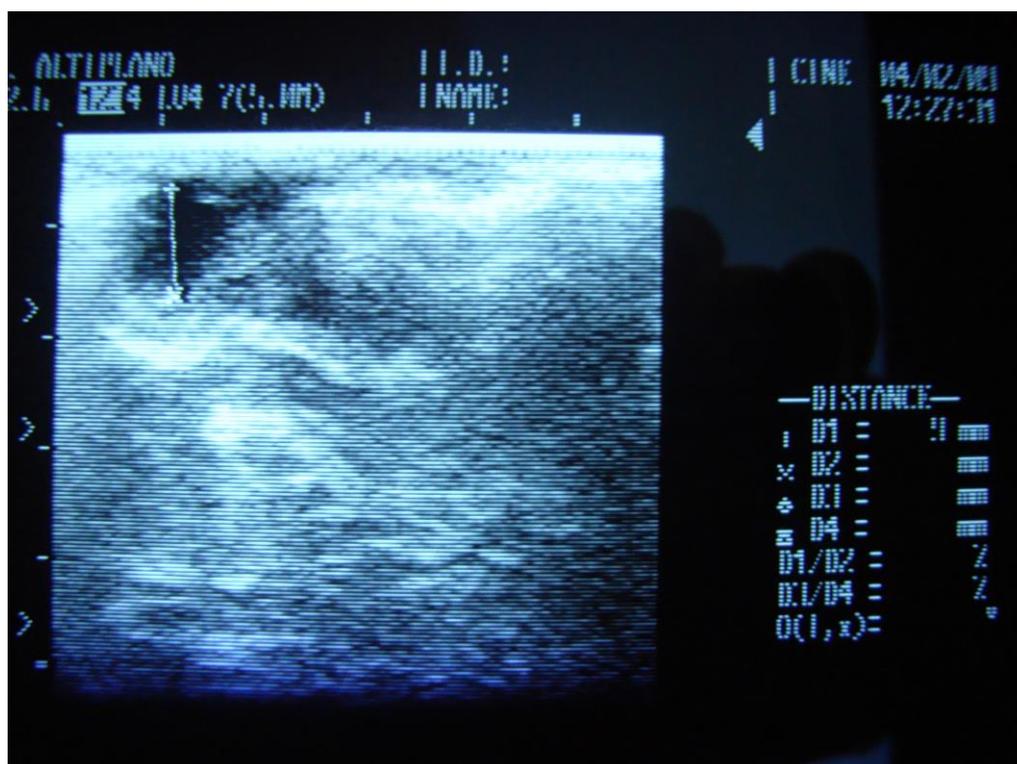
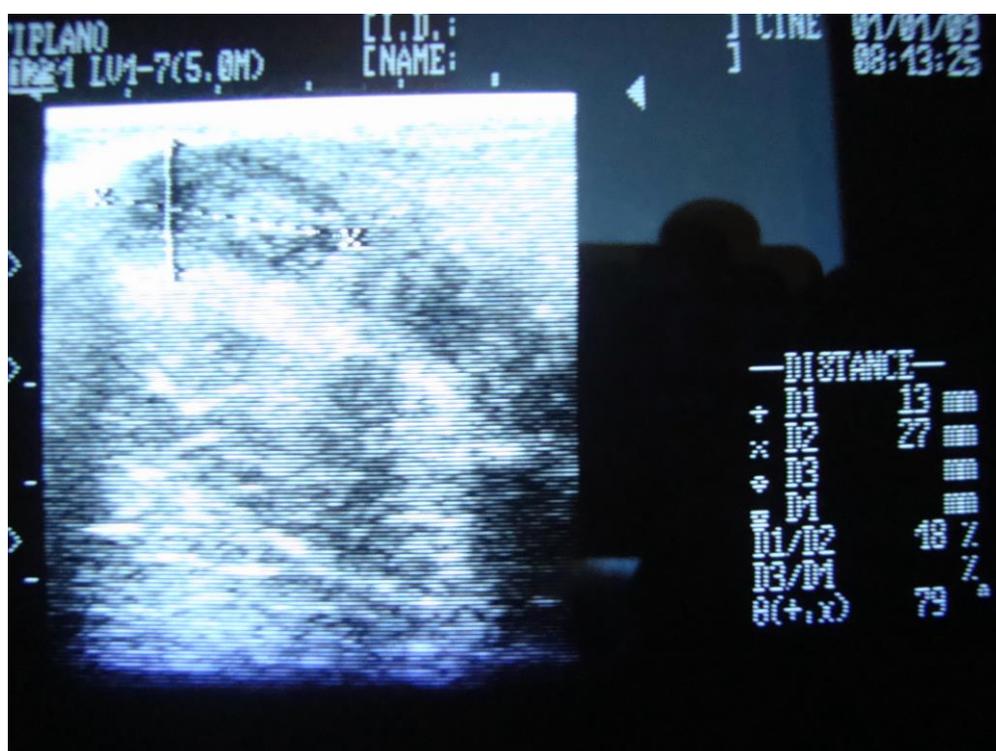


Imagen 4. Imagen de ecografía de Cuerpo Lúteo posterior a la súper estimulación



**Imagen 5. Embrión de calidad buena (clase 2)**



**Imagen 6. Equipos de ecografía, estereoscopio, estufa**

