

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agrícolas

**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y
Zootecnia**

**“SUPEROVULACIÓN Y RECUPERACIÓN DE EMBRIONES
POR EL MÉTODO QUIRÚRGICO EN ALPACAS (*Lama pacos*)
PRIMERIZAS Y MULTÍPARAS DE RAZA HUACAYA, EN
EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CAMÉLIDOS
SUDAMERICANOS, LA RAYA - CUSCO”**

TESIS

Presentada por:

Bach. JUANA CELIA SOSA TAPIA

Para optar el título de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TACNA - PERÚ

2009

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agrícolas

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“SUPEROVULACIÓN Y RECUPERACIÓN DE EMBRIONES POR EL MÉTODO QUIRÚRGICO EN ALPACAS (*Lama pacos*) PRIMERIZAS Y MULTÍPARAS DE RAZA HUACAYA, EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO”

Tesis sustentada y aprobada el 12 de diciembre del 2008, siendo integrado el jurado calificador por:

PRESIDENTE:



DR. OSCAR FERNÁNDEZ CUTIRE

SECRETARIO:




MVZ. HUGO FLORES AYBAR

VOCAL:



MVZ. DANIEL GANDARILLAS ESPEZÚA

ASESOR:



MVZ. EMILIO MAQUERA LLANOS

UNIVERSIDAD NACIONAL "JORGE BASADRE GROHMANN" DE TACNA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

TITULO PROFESIONAL

Tomo: 02

Folio N° 442

El Decano de la Facultad, CERTIFICA:

Que el Bachiller: SOSA TAPIA
JUANA CELIA

ha sustentado el presente Trabajo de Tesis y ha sido APROBADO
por UNANIMIDAD, con el calificativo de REGULAR

Tacna, FEBRERO 2009



[Handwritten Signature]
F. TAG

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanos

Quienes estuvieron a mi lado siempre, detrás de cada uno de mis pasos y supieron enseñarme todos mis valores, que hoy soy como persona.

A mis maestros

Por su dedicación y motivación durante todos estos años de mis estudios profesionales.

A mis amigos

Un agradecimiento profundo a todos mis amigos que contribuyeron con la realización de esta tesis, mis amigos Huachanos, Cusqueños y Tacñenos.

Al Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos La Raya- Cusco y al Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales de la Universidad Nacional de San Marcos.

Por haberme proporcionado las facilidades para ejecutar este trabajo de investigación, sin su predisposición este no hubiera sido posible.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada especialmente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor. A mis padres por quererme y tenerme mucha paciencia.

RESÚMEN

El presente trabajo fue llevado a cabo en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos CICAS - "La Raya", perteneciente a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, con ayuda del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA). Se usaron 24 hembras alpacas de la raza Huacaya seleccionadas, separándolas en dos grupos: grupo experimental (12) y grupo control (12), conformando 6 primerizas y 6 multíparas cada grupo. Ambos grupos presentaron ovarios normales y con folículos en desarrollo menor a 7 mm observadas por ultrasonografía. Con el objeto de evaluar el protocolo de superestimulación ovárica utilizado : 500 UI de Gonadotropina sérica de la yegua preñada : PMSG (día 0) y 750 UI de Gonadotropina coriónica humana: hCG y recibieron el mismo día 2 montas con machos fértiles a las 7 am y 5 pm (día 5), y se realizó la recuperación de embriones, mediante laparoscopia abdominal con un método quirúrgico (día 9) , con el fin de coleccionar y conocer el desarrollo embrionario.

Se logró obtener 99 cuerpos lúteos del grupo de primerizas y 60 del grupo de multíparas. Del grupo de primerizas se logro coleccionar 36 embriones y 20 del grupo de multíparas. La recuperación de embriones se llevo a cabo con mucho éxito lográndose los objetivos propuestos desde un comienzo. La tasa de recuperación fue de 35 %. Con esta técnica se puede aumentar el potencial reproductivo de animales genéticamente superiores en una posterior transferencia de embriones.

CONTENIDO

CAPÍTULO	PÁGINA
COMISIÓN EVALUADORA	
AGRADECIMIENTO	
DEDICATORIA	
RESÚMEN	
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	05
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	38
VI. CONCLUSIONES	44
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	46
IX. ANEXO	

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de camélidos sudamericanos, particularmente de la alpaca, debe contribuir al bienestar de un sector importante de población que habita los andes altos; dichos recursos son fuente de ocupación e ingresos, de carne, fibra y de otros bienes de gran valor. Para dicho propósito se requiere, entre otros aspectos, mejorar las prácticas tecnológicas de las crianzas a fin de elevar la producción y productividad (36).

En los camélidos, los estudios sobre la ovulación múltiple son escasos y con resultados variables e inconsistentes. Los métodos superovulatorios ensayados han logrado estimular la formación de 2 a 11 cuerpos lúteos por animal, logrando recuperar sólo el 50% de los embriones (13). Estas respuestas son inferiores a las obtenidas en otras especies domésticas como, la vaca (25); oveja (16) y la cabra (25). Por otro lado, de 65 transplantes de embriones realizados en camélidos se ha registrado el nacimiento de sólo 7 crías, a nivel mundial.

Los estudios sobre ovulación múltiple y transferencia embrionaria en alpacas y llamas son escasos. Para estimular el crecimiento folicular se ha utilizado la gonadotropina coriónica equina (eCG) o la hormona estimulante del crecimiento folicular (FSH) y luego para inducir la ovulación múltiple se ha empleado ya sea la gonadotropina coriónica humana (hCG), la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) o la monta natural. Estos tratamientos han sido aplicados ya sea en fase folicular (38), (7) o en fase Progestacional inducida (5), (11). En general los tratamientos indicados, tanto en fase folicular como progestacional, resultaron en una respuesta ovulatoria variable, el número de ovulaciones varió entre 2 a 11.

Mientras dichos esfuerzos se van materializando y ampliando, se necesita desarrollar técnicas reproductivas que faciliten la difusión masiva de dichos animales mejorados. En la actualidad, el número promedio de crías ($n=6$) que una hembra alpaca o llama puede producir durante toda su vida reproductiva es muy limitado para difundir material genético deseado. Las técnicas de la ovulación múltiple (OM) y transferencia de embriones (TE) son una posibilidad para superar esta limitación, harían posible que una hembra selecta pueda tener una descendencia numerosa

y por otro lado, reducir el intervalo generacional mediante el uso de animales jóvenes (39).

La mayoría de la población de alpacas y llamas en el país se cría en rebaños pequeños, de composición heterogénea, que incluyen animales de diferentes colores y de razas (alpacas Huacaya y Suri y llamas Chaku y Ccara) y sus cruces. En estas condiciones los diferentes recursos genéticos se encuentran subutilizados, su potencial productivo que podría ser mejorado mediante selección se ve muy limitado. Para superar estas limitaciones varias instituciones están trabajando en la formación de núcleos genéticos de alpacas y llamas "puras" y, con base en estos animales preseleccionados, avanzar en el mejoramiento genético mediante selección de los animales que reúnen características deseables desde el punto de vista productivo (36).

En esta consideración, un aspecto que merece atención es el mejoramiento genético y para ello varias instituciones están trabajando en la formación de núcleos genéticos orientados a la selección y producción de animales genéticamente superiores desde el punto de vista productivo, los mismos que son usados como reproductores en los rebaños que se desean mejorar (36).

Por lo cual se considera la superovulación y la recuperación de embriones como una alternativa para ser utilizada en el mejoramiento genético de una manera más rápida comparado con lo que se viene haciendo. Con el presente estudio vamos a aportar para que posteriormente realizar transferencia de embriones en esta especie y la congelación de embriones lo que permitirá incrementar la disponibilidad de embriones provenientes de hembras que reúnen características deseables desde el punto de vista productivo y genético.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Conducta reproductiva:

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, ya que requiere del estímulo de la cópula para inducir la ovulación y son considerados usualmente como especies de reproducción estacional en su hábitad natural. La temporada normal de apareamiento en este ambiente ocurre en los meses más cálidos y húmedos, cuando el forraje es abundante (36).

En la alpaca se ha reportado una temporada reproductiva que va desde diciembre a marzo (50). Esta estacionalidad se debe al tipo de manejo, ya que es observada cuando el macho y hembra se mantiene juntos durante todo el año, permite los servicios sólo una vez al mes, tanto machos como hembras muestran receptividad sexual durante todo el año (18). Esta receptividad se presenta, debido a que en la hembra existe continuidad en el desarrollo folicular ovárico a lo largo de todo el año con presencia de folículos ≥ 6 mm (8); lo cual mantiene altos niveles de estradiol, los mismos que actúan en el cerebro produciendo dicho comportamiento (39).

El patrón de apareamiento se distingue en dos fases una inicial o de cortejo, seguida de la fase final o cópula (50). Durante la primer fase, el macho persigue e intenta montar a la hembra, prolongándose sólo pocos minutos, si la hembra esta receptiva. La segunda, en cambio, es una duración mayor y más variable que puede ser prolongado como de 30-50 minutos (9).

2.2 Fisiología reproductiva de la hembra

2.2.1 Pubertad

En la alpaca hembra, la pubertad se inicia entre los 10 a 12 meses de edad, donde la mayoría de las vírgenes muestran receptividad sexual al ser puestas en conjunción con el macho, sin embargo se sabe por investigación que la actividad ovárica se inicia a los 10 meses de edad, esto cuando los ovarios muestran un desarrollo folicular de 5 mm., o mayores a ésta (50).

2.2.2 Dinámica folicular

Estudios en alpacas por laparoscopia (8) y en llamas por ultrasonografía (9); demostraron la dinámica folicular. La onda folicular consiste en un grupo de folículos de 3mm (los primeros en ser observados) tienen un crecimiento similar, hasta el momento en

que generalmente uno se vuelve dominante y continúa creciendo, mientras que los demás sufren atresia (26). Los folículos se vuelven dominantes cuando miden más de 6mm de diámetro, folículos más grandes a este diámetro son responsables de la receptividad continua al macho en cualquier momento durante la onda anovulatoria (2).

Se ha apreciado que en ausencia del macho, la actividad ovárica ocurre en ondas de crecimiento y regresión folicular. En cada onda folicular, un folículo se hace dominante, crece para madurar y finalmente regresa (8).

También existe información sobre la actividad folicular durante tres diferentes condiciones fisiológicas en llamas: anovulatorias (sin apareamiento), ovulatorias no preñadas (apareamiento con macho vasectomizado) y ovulatorias preñadas. En llamas ovulatorias no preñadas, el folículo dominante de la primera onda anovulatoria es detectado 3 días después de la ovulación, así mismo, los folículos dominantes de dicha onda pueden medir entre 9-15 mm de diámetro en el día 15. Además, el tiempo de vida de los folículos dominantes anovulatorios es de 20 –

25 días y el intervalo entre ondas es de $19,8 \pm 0,7$ días tanto en llamas ovulatorias no preñadas como en las anovulatorias (1).

En estudios posteriores, se observó que el diámetro máximo del folículo dominante anovulatorio fue mayor que en llamas preñadas ($9,7 \pm 0,2$ mm); (2).

La observación de folículos dominantes de menos diámetro ($10,4 \pm 0,2$ mm) se encuentra asociada con la presencia de cuerpo lúteo y con la etapa de lactación, ya que en llamas ovulatorias preñadas el intervalo entre ondas es de $14,8 \pm 0,6$ días y durante la lactancia se observa un intervalo entre ondas de $2,5 \pm 0,5$ días. Además, existe disminución del diámetro del folículo dominante de la primera onda anovulatoria, debido a los altos niveles de progesterona secretada por el cuerpo lúteo resultante de la cópula con un macho vasectomizado. Es por esta razón que la lactación y la presencia de un cuerpo lúteo están asociadas a la depresión del desarrollo folicular (1).

Se demostró 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 subordinados, probablemente debido a la regresión del folículo dominante que permite la emergencia de una nueva onda folicular (46).

Una prolongada exposición a progesterona como la observada en llamas gestantes, resulta en una significativa reducción en el diámetro de la segunda anovulatoria y una temprana regresión del folículo dominante en la primera onda, resultando un intervalo entre ondas más cortas que el observado en hembras anovulatorias (no apareadas) y ovulatorias no preñadas (apareamiento estéril); (1).

2.2.3 Estro:

En las alpacas, existe una gran variabilidad individual en los síntomas del celo, independiente si las hembras son vírgenes o multíparas, o el estado reproductivo en general. La variabilidad en la duración del celo y en la regularidad de la ocurrencia, presumiblemente refleja el hecho, que en hembras no servidas, la

fase folicular no termina en la ovulación, y que no existe la fase lútea que determina el correcto ritmo de eventos después de finalizado el celo. La liberación de la hormona ovuladora por la hipófisis anterior (hormona luteinizante - LH) a la corriente sanguínea, es normalmente producida por la cópula, a través de una o más vías neurales. (50)

2.2.4 Ovulación

La ovulación es una etapa crítica en el proceso reproductivo de los mamíferos, tanto en los ovuladores "espontáneos", como en los ovuladores "inducidos". Los eventos que conducen a la ovulación y los intentos de manipular estos procesos, han sido objeto de investigaciones, durante mucho tiempo. (45) y (6). Los camélidos, pertenecen a un grupo de especies - que incluye a los conejos, felinos y hurones- que son ovuladores inducidos y que necesitan de un estímulo para liberar el óvulo (43); (15) y (33).

Los folículos preovulatorios experimentan tres cambios principales durante el proceso ovulatorio: Maduración citoplasmática de las células de montículo ovárico (entre las células

de la etapa de la capa granulosa) y el adelgazamiento y rotura de la pared folicular externa (26).

La ovulación también puede ser inducida exitosamente, por una inyección directa de 1 mg de hormona luteinizante (NHI-LH-SILOVINE) o por 4-8 μ g de hormona de liberación gonadotrópica (GnRH: Buserelin Hoechst); (49).

2.2.4.1 Inducción de la ovulación mediante la cópula

En la alpaca el tiempo mínimo de ovulación se calculó 26 horas después del apareamiento natural y 24 horas después del tratamiento con HCG. Cerca del 40% de las hembras que no ovularon tenían un año y el 15 % eran adultas (26).

La ovulación es una etapa crítica en el proceso reproductivo de los mamíferos, tanto en los ovuladores "espontáneos", como en los ovuladores "inducidos". Los eventos que conducen a la ovulación y los intentos de manipular estos procesos, han sido objeto de investigaciones, durante mucho tiempo. Los camélidos, pertenecen a un grupo de especies - que incluye a los conejos, felinos y hurones- que son ovuladores inducidos y que necesitan de un estímulo para liberar el óvulo (50).

Se presentan los resultados de varios intentos de inducir la ovulación por diferentes métodos: cópula con macho fértil y estéril, el uso de hormonas exógenas, el llamado "efecto del carnero ", así como la colocación intravaginal del semen de alpaca y toro. También se discute el fenómeno de la ovulación espontánea. Se analiza la relación existente entre los varios mecanismos del estímulo de la ovulación, formación de cuerpo lúteo y los niveles y duración de la progesterona circulante (50).

En los camélidos sudamericanos, la cópula dura relativamente un tiempo largo (20 minutos en promedio). Parece no existir sin embargo, alguna relación entre el largo del tiempo del acto copulatorio, y la ocurrencia de la ovulación. Copulaciones múltiples o interrumpidas, no tienen aparente efecto en los niveles de respuesta (26).

En numerosos experimentos, porcentajes variables de alpacas o llamas hembras, aparentemente no sujetas al estímulo conocido, presentaron ovulaciones, que han sido denominadas "espontáneas". Las hembras estuvieron aisladas de los machos, excepto por un corto período de exposición a los machos vasectomizados, para los propósitos de detección del celo. Los

rebaños de hembras de estos estudios, no estuvieron bajo observación constante, por lo que no se sabe la magnitud de montas entre hembras; es posible que estas montas o el corto período de contacto con el macho vasectomizado, fueron de hecho responsables por lo que de otra manera, parecen ser ovulaciones "espontáneas". Algunas ovulaciones han sido atribuidas a respuestas físicas o a feromonas en relación a la exposición al macho o a factores de cohabitación con hembras en celo, actuando conjuntamente (50).

Estudios en alpacas muestran que 30 a 40% requieren de una monta para ovular (9).

2.2.4.2 Inducción hormonal de la ovulación

Las hembras camélicas pueden ovular sin estímulo coital mediante la administración de hormonas (19). La aplicación de 750 NI de HCG fue suficiente para inducir ovulación en 100% de alpacas y 80-800 μ g de Gn RG provocaron la ovulación en 80% de llamas y alpacas (8). Similar respuesta se ha observado con la aplicación de 1 mg de LH. Vía Intramuscular (50).

El tiempo de ovulación en llamas es de $30,2 \pm 1,6$ horas después de la aplicación de 1ml de Ngr. Y de $30,2 \pm 2,3$ horas posterior a la aplicación de 0,5 ml de LH. La aplicación de 1ml de Ngr. Y de $30,2 \pm 2,3$ horas posterior a la aplicación de 0,5 ml de LH. La aplicación de LH (300UI) o de la asociación de HCG (100-200UI) con Ngr; (22). Por vía intravenosa produce ovulación en camellos bactrianos (52).

2.2.4.3 Inducción con plasma seminal

Estudios realizados en camellos bactrianos señalan que la aplicación de semen o fluido seminal produce ovulación (52).

Se han realizado en llamas y alpacas para determinar la respuesta ovulatoria ante la aplicación del plasma seminal. Se ha determinado que la aplicación vía intramuscular de plasma seminal de llama o alpaca y en menor grado el plasma seminal de de toro inducen la ovulación en llamas (31). Lo cual fue corroborado por (1); quien determinaron que el plasma seminal de alpaca y llama

produce aumento en los niveles de LH circulante y la consiguiente ovulación junto con la respuesta luteogénica.

Un estudio reciente señala que la fracción de plasma seminal capaz de inducir ovulación en llamas, fue aquella que tuvo un peso molecular mayor de 30K da; registrándose un 100% de ovulación en las hembras tratadas con esta fracción (1).

2.2.5 Fecundación

La fecundación se da lugar en el ámpula del oviducto, es aquí que se almacenan los espermatozoides pasa a través del cumulus oophorus del ovocito, se produce la fijación del espermatozoide a la membrana plasmática y ocurre la penetración (entre 5-15 minutos después de la fijación); (12).

Para la fijación es esencial que el gameto masculino tenga el acrosoma intacto. La reacción acrosómica permite la liberación de acrosina y hialurodinasa, por medio de la cual los espermatozoides digieren una parte de la zona pelúcida para abrirse paso hacia la membrana vitelina. La hialuronidasa y otras enzimas presentes en

el acrosoma de los espermatozoides, permite la penetración del montículo celular (26).

Una vez que el espermatozoide penetra se produce la activación del ovocito, y por lo tanto la reanudación de la meiosis, la cual finalizará con la formación del segundo corpúsculo polar y el pronúcleo femenino. También se produce la formación del pronúcleo masculino (12).

En la actualidad no existen trabajos que especifiquen la calidad de los embriones producto de la superovulación ovárica con CG tanto en fase luteal como no luteal, es por ello que el presente estudio significa un gran aporte para la determinación de los grados de calidad embrionaria que se puede conseguir con dichos protocolos y si es factible el uso de dichos protocolos para la obtención de embriones de excelente calidad.

2.3. Mortalidad embrionaria

Las mortalidades embrionarias en alpacas ocurren los primeros 35 días de la gestación (17). Estudios más recientes encontraron 20% de fallas ovulatorias por deficiente respuesta de la hembra al estímulo coital del macho y el 12% de pérdida del óvulo fecundado dentro de los primeros 5 días post-ovulación; además, se sugirió que el estradiol de los folículos estrogénicos presentes alrededor de este periodo afectaban el desarrollo del cuerpo lúteo (27).

Estos mismos autores demostraron en base a la disminución del tamaño del cuerpo lúteo, que hay una relación entre cuerpos lúteos afectados y mortalidad embrionaria en estadíos posteriores (27). La asociación de estos resultados con los de (17); sugieren la ocurrencia de una mayor mortalidad en estadíos más avanzados de la gestación temprana; sin embargo, esta información requiere ser confirmada, sobretodo la magnitud de la mortalidad embrionaria y la probable alteración hormonal, alrededor del proceso del reconocimiento maternal de la preñez, el cual, en base a un descenso temporal de los niveles de progesterona, ha sido

sugerido que puede ocurrir entre los días 9 y 11 post-ovulación en alpacas (7).

2.4. Superovulación

La ovulación también puede ser inducida exitosamente, por una inyección directa de 1 mg de hormona luteinizante (NHI-LH-SIIOVINE) o por 4-8 g de hormona de liberación gonadotrópica (GnRH: Buserelin Hoechst); (50).

Los embriones provenientes de alpacas donadoras se han recuperado ya sea por medios quirúrgicos o no quirúrgicos. Se detallaron la recuperación de cigotos tomados del oviducto de alpacas mediante laparotomía abdominal. Se impulsaron los cigotos desde el oviducto hasta el útero, porque es imposible pasar la válvula especial en la unión uterotubárica y se recuperaron mediante una incisión en la pared uterina. El índice de recuperación en alpacas con ovulación simple fue de 80 % (36).

El número promedio de crías ($n=6$) que una hembra alpaca puede producir durante toda su vida reproductiva es muy limitado para difundir material genético deseado. Las técnicas de la

ovulación múltiple (OM) y transferencia de embriones (TE) son una posibilidad para superar esta limitación; permitirían, por otro lado, reducir el intervalo generacional mediante el uso de animales jóvenes (39).

2.5 . Colección y evaluación de embriones

Existen dos técnicas de colección de embriones: La quirúrgica y la no quirúrgica. La colección embrionaria de ovinos se efectúa generalmente entre 3-9 días después del celo. El lavado entre 3-7 días después del celo. El lavado temprano de los oviductos se realiza entre los días 3-4 y el lavado del cuerno uterino entre los días 5-7. Los embriones colectados varían en desarrollo desde embrión 8-16 células a blastocistos (24).

En camélidos sudamericanos los embriones son recuperados alrededor del día 6-7 post cópula en estadio del blastocito o blastocisto expandido (9).

2.6. Técnica quirúrgica

La técnica quirúrgica (laparoscopia o laparatomía) es generalmente utilizada en la colección de embriones en rumiantes menores (24).

2.6.1 Laparoscopia

Durante la laparoscopia se realiza tres pequeñas punciones en área anterior a la ubre, luego de corroborar la posición correcta del laparoscopio, la cavidad abdominal es insuflada con dióxido de carbono para inducir un neumoperitoneo. Seguidamente se procede a localizar los ovarios (para conteo de cuerpos lúteos) y el útero; (24).

El cuerno uterino al ser lavado es fijado por la base, luego se punza con un trócar. Un catéter flexible es introducido dentro de la luz uterina, es dirigido hacia la punta del cuerno y posteriormente el balón de dicho catéter es inflamado bajo control visual. El lavado debe realizarse sellando la punta del cuerno para evitar la pérdida del medio por el oviducto. El medio lavado es recuperado por la misma vía por la que se introduce y es

recuperado en una placa petri. Se utilizan ml del medio lavado, repitiendo la operación al menos 2 veces por cada cuerno (24).

Sobre la base de exámenes laparoscópicos a intervalos de 3, 5, 7 y 9 días, se ha sugerido que los estadios de crecimiento, mantenimiento y regresión de un folículo, promediaban para cada fase, 4 días, durando 12 días la onda folicular en la alpaca (rango de 9 - 17 días); (8). En la llama la onda folicular, sin considerar el estado reproductivo, variaba de 20 a 25 días, con un desarrollo folicular deprimido, en hembras lactantes y en aquellas que tenían un cuerpo lúteo (1).

2.6.2 Laparotomía

Luego de realizados los procedimientos de asepsia y anestesia propios de una cirugía, se procede a ubicar al animal en una camilla que permita su elevación en ángulo de 60 grados, para conseguir que las vísceras se desplacen en forma craneal. Seguidamente se realiza una incisión ya sea medial o paramedial. Los planos musculares son divididos hasta lograr el ingreso a

la cavidad abdominal. Una vez localizados los ovarios y útero, son sujetados mediante el uso de compresas de gasa. Posteriormente se procede a efectuar un pequeño ojal en la base del cuerno y a través del mismo se introducen el cateter foley para el lavado. Una vez introducido el cateter en el lugar deseado, el balón es inflado hasta que se sienta (por palpación) que obstruye el lumen uterino. Posteriormente se procede al lavado; (24).

La primera colección de embriones de alpaca fue realizada por medio de la laparotomía de los oviductos, durante este estudio se recuperaron embriones 3 días post-cópula de estadio de mórula (38).

2.7. Hormonas:

La LH es también necesaria para el crecimiento de los folículos (efecto estrogénico) en sinergismo con la FSH y para el establecimiento y mantenimiento del cuerpo lúteo (efecto luteotrópico) ; por consiguiente, se esperaría que la cópula postovulatoria estimule la secreción de LH, sin llegar al establecimiento del pico preovulatorio, pero suficiente para ejercer

el efecto estrogénico y/o luteotrópico. La ocurrencia de cualquiera de estos efectos dependería del grado de desarrollo del cuerpo lúteo después de la ovulación. El efecto estrogénico explicaría la presencia de folículos >6 mm detectados entre los días 2 y 4 post-ovulación (28), mientras que el efecto luteotrópico explicaría la secreción de progesterona con niveles >1 ng/ml en plasma sanguíneo (niveles inhibitorios) por el cuerpo lúteo, después del día 3 en la mayoría de alpacas, y el establecimiento y desarrollo de un cuerpo lúteo completamente funcional (50).

La aplicación de PMSG + hCG (fase folicular) y de P4 + PMSG + hCG (fase luteal inducida) resultó en una gran respuesta ovulatoria en alpacas. Se recomienda experimentar con menores dosis de PMSG, para evitar una excesiva estimulación del crecimiento Folicular y la formación de quistes foliculares, particularmente en el T₃ (fase luteal inducida); (39).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización de la investigación

El estudio se realizó en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos CICAS - "La Raya", perteneciente a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, con ayuda del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA). Este centro de investigación está ubicado en el distrito de Maranganí, provincia de Canchis, región Inca, Perú; a una altitud de 4 200 metros; 15° latitud sur, 71° longitud oeste.

3.2 MATERIALES:

3.2.1 RECURSOS MATERIALES

a. Equipo de laboratorio

- Ecógrafo ALOKA SSD 500 con transductor lineal de 5,0 y 7,5 MHz.
- Microscopio.
- Estereoscopio.
- Autoclave.
- Centrifuga.

- Balanza analítica.
- Mesas de cirugía para camélidos
- Equipo de cirugía.

b. Materiales de laboratorio

- Placa petri de 35 mm de diámetro
- Placa petri cuadradas de 100 mm de lado
- Pipetas
- Jeringas desechables de 10 ml.
- Marcador indeleble punta ultrafina

c. Medios y hormonas

- Gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG)
- Gonadotropina corionica humana (HCG)
- PBSM
- Anestesia local
- Tranquilizante
- Antibiótico

00271

3.2.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo se utilizaron 24 alpacas tal como indica el cuadro.

Cuadro 1: Distribución del material experimental

	Grupo experimental	Grupo control	Total
Primíparas	6	6	12
Múltiparas	6	6	12
Total	12	12	24

Elaboración propia

3.3 METODOLOGÍA

Para el presente trabajo se utilizaron los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1

Día 0 se aplicó 500 UI de Folligon. Gonadotropina sérica (PMSG), a la muestra experimental (12 alpacas).

Tratamiento 2

El día 5 se aplicó 750 UI de Pregnyl, Gonadotropina coriónica humana (hCG), a la muestra experimental (12 alpacas).

A los animales del grupo control se aplicó agua destilada en las mismas cantidades del grupo experimental

3.3.1 Selección y evaluación de hembras donadoras

La selección consistió en seleccionar animales de mayor producción, hembras vacías, 15 días antes de aplicación de hormonas tomando en cuenta las características de importancia económica: (densidad, finura, uniformidad, color entero, buena conformación), como padre y madres de la futura generación.

Luego se realizó un examen ovárico mediante el ecógrafo con dispositivo de transductor rectal (5 Mhz). En total fueron 24 alpacas de la raza Huacaya seleccionadas, separándolas en dos sub grupos: 12 conformaron el grupo control y 12 en el grupo experimental, que a su vez fue dividido en dos grupos; primerizas (6) y multíparas (6).

3.3.2 Servicio de hembras superovuladas

Después de la selección, se continuó con el protocolo de estimulación ovárica: Día 0 se aplicó 500 UI de Folligon, gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) por vía intramuscular a las 7 am. a la muestra experimental (12 alpacas).

El día 5 se aplicó 750 UI de Pregnyl, gonadotropina coriónica humana (hCG) por vía intramuscular a las 7 am, a la muestra experimental (12 alpacas). Posteriormente se realizó un empadre controlado de las mismas con identificación del macho, dos veces al día a las 8 am y 5 pm horas.

3.3.3 Registro de ovulación y colección de embriones.

El día 9 se realizó la laparatomía a las 12 hembras (muestra experimental). Antes de las cirugías se utilizó anestesia local en el área de vientre 2 ml y se aplicó tranquilizantes (xylacina) vía Intramuscular 2 ml con la debida asepsia requerida, el animal permaneció en una camilla que permita su elevación en ángulo de 60 grados, para conseguir que las vísceras se desplacen en forma craneal, se realizó un corte en la línea media ventral, luego los ovarios fueron expuestos procediéndose a contar el número de folículos y a continuación se realizó la colección de embriones. La colección se realizó con solución PBS (Solución Fosfato-buffer-salino modificado), 10 ml/animal por el infundíbulo y colectando el líquido del lavado mediante una pipeta pasteur, cuyo extremo mas ancho fue insertado en el cuerno uterino adosándolo a la unión útero-tubarica. Para asegurar que el líquido pase a través de la pipeta fue necesario obliterar el cuerno uterino con una pinza, aplicada en la parte media del cuerno.

La solución recuperada se colocó en una placa petri para la identificación de los embriones mediante un estereoscopio, la localización, manipulación y evaluación de los embriones se realizó lo mas rápido posible con el fin de trasladarlos a un medio de mantenimiento adecuado.

3.3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para determinar el efecto de los tratamientos se utilizó el diseño de bloques completamente aleatorio (DBCA), lo que permitió probar el efecto de los tratamientos.

3.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó utilizando medidas de variación, la técnica de análisis de varianza con el modelo del diseño de bloques completamente aleatorio (DBCA).

Se utilizó las siguientes variables: número de cuerpos lúteos, número de embriones recuperados, método quirúrgico, alpacas primerizas y multíparas.

IV. RESULTADOS

4.1 EVALUACION DE DOSIS DE GONADOTROPINA SÉRICA DE LA YEGUA PREÑADA (PMSG) GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) Y SU RESPUESTA PARA SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO 2008

En el presente trabajo de Investigación se llegó a los siguientes resultados, las alpacas que fueron tratadas con gonadotropina sérica de la yegua preñada (500 UI) y gonadotropina coriónica (750 UI) sobre la respuesta a ovulatoria. Se puede observar que el 100% de las hembras de grupo experimental tuvieron respuesta ovárica a dosis de hormonas utilizadas en el presente trabajo.

Al realizar la aplicación de los tratamientos de superovulación ovárica tanto en primerizas como multíparas (grupo experimental) se pudo obtener una respuesta favorable en primerizas como se indica en el cuadro 2, reflejándose un aumento de folículos y como consecuencia de ello el número de cuerpos lúteos

Cuadro 2. Resultados de superovulación dosis de hormonas 500 UI de (PMSG) y 750 UI de (hCG) en alpacas de raza huacaya en el centro de Investigaciones de camélidos sudamericanos La Raya-Cusco 2008

Nº de arete	Nº de cuerpos lúteos	Nº de embriones
Primerizas GE		
H0-01	19	11
H0-06	22	5
H0-47	16	5
H0-34	15	6
S0-071	14	5
H0-15	13	4
Total	99	36
Múltiparas GE		
H0-270	12	6
H0-501	12	3
H0-448	9	0
H0-125	15	6
H0-019	3	2
H0-802	9	3
Total	60	20
Primerizas GT		
H0-05	0	0
H0-07	0	0
H0-08	0	0
H0-09	0	0
H0-10	0	0
H0-12	0	0
Total	0	0
Múltiparas GT		
H0-346	0	0
H0-111	0	0
H0-321	0	0
H0-655	0	0
H0-154	0	0
H0-254	0	0
Total	0	0

G E = Grupo experimental

G T = Grupo testigo

Fuente : Elaboración propia.

En el cuadro 2; observamos la respuesta ovulatoria obtenida a la aplicación de (500 UI de gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) y 750 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG)

4.2 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CUERPOS LUTEOS EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO, 2008

Según el presente trabajo (cuadro 2), la relación al número de cuerpos lúteos presentó una variación de 12 a 22 cuerpos lúteos en el grupo de las primerizas y de 3 a 15 en el grupo de las multíparas; no hubo respuestas de ningún tipo en el grupo testigo.

La formación de un grupo no tratado o grupo control nos ayudó a determinar la respuesta ovárica y ovulatoria normal que se observa post cópula. Sin influencia de hormonas exógenas

Cuadro 3. Cuerpos lúteos encontrados según ovarios: derecho e izquierdo en alpacas de raza huacaya en el centro de investigación de camélidos sudamericanos, La Raya-Cusco

Hembra/ arete	Ovario derecho	Ovario izquierdo	Total
Primerizas G E			
H0-01	10	9	19
H0-06	12	10	22
H0-47	7	9	16
H0-34	9	6	15
S0-071	7	7	14
H0-15	7	6	13
Primerizas G T			
H0-05	0	0	0
H0-07	0	0	0
H0-08	0	0	0
H0-09	0	0	0
H0-10	0	0	0
H0-12	0	0	0
Múltiparas G E			
H0-270	7	5	12
H0-501	4	8	12
H0-448	9	Unicornio	9
H0-125	9	6	15
H0-019	1	2	3
H0-802	5	4	9
Múltiparas G T			
H0-346	0	0	0
H0-111	0	0	0
H0-321	0	0	0
H0-655	0	0	0
H0-154	0	0	0
H0-254	0	0	0
Total	87	72	159

Fuente: Elaboración propia

El cuadro 3, nos muestra claramente los cuerpos lúteos encontrados en el ovario derecho e izquierdo respectivamente.

Cuadro 4. Número de cuerpos lúteos formados en los diferentes tratamientos. en alpacas de raza huacaya en el centro de investigación de camélidos sudamericanos, La Raya-Cusco

Tratamiento	Animales (n)	Total	Cuerpos lúteos Promedio	Rango
T ₁ : Testigo	12	0	0	0
T ₂ :Primerizas	06	99	16.5	12-22
T ₃ :Multiparas	06	60	10	3-15

Elaboración propia

El cuadro 4 el número de cuerpos lúteos observamos el número promedio de los mismos. Así mismo, se pudo determinar que no existió diferencia estadística en el número promedio de los C.L. observados en los dos grupos ($P>0,05$)

4.3 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE EMBRIONES RECUPERADOS POR HEMBRA TRATADA EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO

Se recuperaron en total 56 embriones, en el grupo de las primerizas 36 y en el grupo de las multíparas 20, (Cuadro 2).

Los embriones colectados en primerizas fueron: H0-01 =11, H0-06=5, H0-47= 5, H0-34= 6, S0-071=5, H0-15= 4 H0-05= 0, H0-07=0, H0-08=0, H0-09=0, H0-10=0, H0-12=0 . En comparación con las multíparas H0-270=6, H0-501=3, H0-448=0 H0-125=6, H0-019=2, H0-802=3, H0-346=0, H0-111=0, H0-321, H0-655, H0-154=0, H0-254=0.

Se determinó la tasa de recuperación embrionaria de los tratamientos T2 y T3 al dividir el número de embriones recuperados entre el número de cuerpos lúteos observados a la ecografía.

Tasa de recuperación de embriones total = $\frac{\text{N}^\circ \text{ de embriones recuperados}}{\text{Números de Cuerpos Lúteos}}$

Tasa de recuperación de embriones = $56/159 = 0,35 = 35\%$

De acuerdo a la fórmula aplicada podemos decir que la recuperación de embriones en alpacas primerizas fue del 36% y en alpacas multíparas de 33%, no hubo ninguna diferencia significativa entre el promedio de embriones y entre grupos.

No se obtuvo ningún embrión de la alpaca H0-448, debida a errores durante el proceso de colección.

No hubo diferencia significativa en el número promedio de embriones entre los grupos T2 y T3 ($P > 0,05$)

V. DISCUSIÓN

5.1 EVALUACIÓN DE DOSIS DE GONADOTROPINA SÉRICA DE LA YEGUA PREÑADA (PMSG) GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) Y SU RESPUESTA PARA SUPEROVULACIÓN EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO 2008

El presente trabajo con la aplicación de 750 UI de hCG la respuesta ovárica fue la esperada (cuadro 2), estos resultados son similares a los encontrados por (20), que en 6 alpacas en diferentes tiempos encontraron 54 ovulaciones con estimulación de la hormona hCG. Resultados similares luego de aplicar hCG fueron registrados en alpacas; (51) y en la camella (47).

Las dosis de hCG de 500 y 100 UI son apropiadas para inducir crecimiento folicular múltiple en llamas, y una dosis de 2 000 UI de hCG hiperestimuló los ovarios, lo que dio como resultado más folículos quístitcos de los que hubo en respuesta a dosis más bajas. Al igual que en otras especies las respuestas son variables (8).

Con relación a la respuesta ovulatoria al tratamiento hormonal, es notable resaltar que el porcentaje de animales que ovularon en el grupo de primerizas fue de un 100 % , es decir su totalidad (cuadro 2) y puede deberse a la influencia de los desencadenantes de las ovulaciones como la aplicación conjunta de hormonas : 500 UI de gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) y 750 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) estos resultados fueron similares a los reportados por (3); trabajo realizado en alpacas para estimular la superovulación. Sin embargo, (50) indica, que alrededor de un 20% de las alpacas fallan en presentar respuesta ovulatoria posterior al servicio con machos enteros o vasectomizados. Variando de acuerdo al status reproductivo y la edad de la hembra, siendo 33% en hembras lactantes y 74% en hembras de un año con peso corporal de 35 kg o más.

Es interesante destacar que las dosis y hormonas (500 UI de gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) y 750 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) utilizadas en el presente trabajo para la estimulación ovárica y su respuesta , son diferentes a los reportados por (50), con 1200 UI de PMSG por vía

subcutánea administrados en tres dosis diarias consecutivas de 400 UI, 24 horas después de la última aplicación de PMSG, se administraron por vía endovenosa 750 UI de hCG. Por los resultados obtenidos aplicando dosis y hormonas para obtener una mejor respuesta el presente trabajo es mas sencillo de implementar y mas económico.

Similares resultados reportaron (46), al utilizar dosis y hormonas para estimular a los ovarios en alpacas con relación al presente trabajo. Las cuales fueron distribuidas en 5 grupos: G0 (control); G1 (30 mg de progesterona exógena por dos días); G2 (30 mg de progesterona exógena por 4 días); G3 (50 mg de progesterona exógena por 2 días) y G4 (50 mg de progesterona exógena por 4 días). Estos resultados con los protocolos utilizados en el presente trabajo refuerza la consistencia en la utilización de las dosis y hormonas.

Estos resultados con la aplicación PMSG de 500 U.I. son similares a los encontrados por (2); que de un experimento de 64 llamas presentaron 39 embriones; en el cual concluye que los animales tratados con PMSG presentaron una mayor respuesta ovárica representada por un mayor número de cuerpo lúteos

5.2 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CUERPOS LÚTEOS EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO 2008

Para el registro del número y tamaño de los cuerpos lúteos se realizó una laparatomía a través de la línea media ventral, de acuerdo al procedimiento establecido por (14); con base en los estudios sobre formación, desarrollo y regresión del cuerpo lúteo realizados por (18) y (1)), esta intervención se realizó a los 10 días postinyección de hCG.

Del total de cuerpos lúteos formados ($n=159$), 87 CL se localizaron en el ovario derecho y 72 en el ovario izquierdo, diferencia que no es significativa ($P<0,05$). Estos resultados son similares a los encontrados por (41); quien indica que los cuerpos lúteos pueden encontrarse en cualquiera de los ovarios (derecho o izquierdo); esto no coincide con los reportados por (19); quien indica que el ovario izquierdo presenta un mayor funcionamiento que el ovario derecho.

Estas respuestas ováricas probablemente se deben a la mayor respuesta a la acción de la PMSG sobre un ovario con una

población numerosa de folículos pequeños retenidos por acción de la progesterona, como ha sido descrito en vacas (37).

En el cuadro N° 3 se puede observar en el animal con arete N° H0- 448 al realizar la laparotomía se encontró un aparato reproductivo unicornio con un funcionamiento del ovario derecho y una respuesta a las hormonas aplicadas durante el experimento estas anomalías son comunes de encontrar en esta especie estudiada tal como lo reporta (9); en un estudio sobre patología genital en los camélidos sudamericanos.

Tuvieron una gran respuesta ovulatoria, siendo los resultados mayores en T2, Obteniendo un rango entre 12-22. Estos resultados, tanto en T2 como en T3 son mayores a los informados por otros estudios en la alpaca (50).y en la llama (5).

Otros estudios demuestran que el control de la onda folicular y la sincronización de la ovulación pueden llevarse a cabo mediante un tratamiento con progesterona por vía inyectable por (11).

5.3 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE EMBRIONES RECUPERADOS POR HEMBRA TRATADA EN ALPACAS DE RAZA HUACAYA EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, LA RAYA-CUSCO 2008

Se debe tomar en cuenta que el 100% de embriones recuperados en el presente estudio fueron calificados como fértiles y transferibles aunque de diversos grados de calidad, lo cual es superior a lo hallado por (11); quien obtuvo un 90,48 % de embriones clasificados como fértiles y un 9,52 % fue clasificado como muertos o degenerados.

En el presente trabajo encontramos una relación de 159 cuerpos lúteos y 56 embriones de 35% estos resultados fueron diferentes a los reportados por (20); quien encontró de un total de 53 ovulaciones recuperaron 23 embriones una relación del 43%. Esta diferencia probablemente se deba a la cantidad de animales en experimentación ya que a mayor número existe mayor error en el experimento.

V. CONCLUSIONES

En el siguiente trabajo investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Se concluye, que el uso de la PMSG (500 UI) seguido de hCG (750 UI) es una alternativa ideal para estimular la superovulación en alpacas, tanto en cantidad como en consistencia suficientes para cosechar y difundir material genético deseado.
2. Se logró obtener 159 cuerpos lúteos en total (99 cuerpos lúteos en primerizas y 60 en multíparas)
3. Se concluye con satisfacción la recuperación de 56 embriones en total (36 embriones pertenecientes al grupo de primerizas y 20 embriones al grupo de multíparas con la técnica quirúrgica utilizada.
4. El procedimiento quirúrgico con abordaje laparoscópico empleado para la colección de embriones, nos permite completar la exploración detallada de la totalidad de cuerpos lúteos.
5. Del total de cuerpos lúteos formados (n=159), 87 CL se localizaron en el ovario derecho y 72 en el ovario izquierdo,

VI. RECOMENDACIONES

En el siguiente trabajo de investigación se llegó a las siguientes recomendaciones:

1. Se recomienda experimentar con dosis de PMSG (400-600 UI) y hCG (650-850 UI) para ser utilizadas en la ovulación múltiple.
2. Continuar con el trabajo, para su utilización en transferencia de embriones.
3. Realizar una réplica del trabajo para conocer los estadios de cigoto en diferentes días de colección de embrión.
4. Se recomienda utilizar el método quirúrgico para la recuperación de embriones.
5. Realizar la colección de embriones 4-6 días después de la aplicación de hCG.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Adams, P., J. Sumar y O. Ghinter.** 1990. Hemorragie ovarian follicles in llamas. *Theriogenology* 35: 557-568, 871 pp.
2. **Adams GP, Sumar J. y O. Ginther .**1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). **J Reprod Fertil.** 90: 535-535, 767 pp.
3. **Agüero A, Chavez M. G, Capdevielle E. F, Russo A,** 1999. Superovulación en llamas: Comparación de dos tratamientos. En *II Congreso Mundial sobre Camélidos*. Cuzco. Perú, 123 pp.
4. **Aller, J.F. y R.H. Alberio.** 1996. Dinámica folicular en llamas en la época otoño invernal. *Re. Arg. Prod. Anim.* Vol. 16(4): 319-323, 733 pp.
5. **Bourke, A., C.L. Adam y L. Kyle.** 1992. Superovulation and embryo recovery in the llama. *J Reprod and fertil.* Annual conference SheffienId, 4th 6th july. Abstract 67: 39, 84 pp.

6. **Betteridge KJ.** 1986. Increasing productivity in farm animals. In: Austin CR, Short RV. eds. Reproduction in mammals. Manipulating reproduction. 2nd Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 319 pp.
7. **Bravo, P.W ; J. Sumar.** 1985. Actividad folicular del ovario en la alpaca. 5ª. Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco. p 7, 221 pp.
8. **Bravo WP, Sumar J.** 1989 Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim Reprod Sci.; 21: 271-281, 364 pp.
9. **Bravo, W., Tsutsui y L. Lasley.** 1995. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. Small Ruminant Research 18: 157-163, 312 pp.
10. **Córdova, S. L., KE Jiménez y L.J. Hernández.** 1992. Superovulación con hormona folículo estimulante (FSH) o gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y anticuerpos monoclonales contra PMSG en cabras fuera de la época reproductiva. Veterinaria México 23(4): 319-324, 420 pp.

11. **Correa, J., H. Ratto y R. Gatica. 1994.** Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con progesterona y gonadotrofinas. Arch. Med. Vet. (Chile); XXVI (1): 59-64, 117 pp.
12. **Cunningham, J, 2003.** Fisiología Veterinaria. Elsevier, España 3era edición p. 592, 1231 pp.
13. **Del Campo, M; Toro, F; Von Baer, A; Montecinos, 2002.** Morphology and psysiology of llama (Lama glama) and alpaca a (Lama paco) embryos, Theriogenology. 57-58 Abst., 392pp.
14. **Dietz, O., F. Schaetz, H. Scheleiter y R. Teuscher. 1975.** Operaciones y Anestesia de los animales pequeños y grandes. 2.^a edición, Ed. Acribia, España 556 pp.
15. **England BG, Foote WC, Matthews DH, Cardozo A, Riera SC. 1969.** Ovulation and corpus luteum formation in the llama (Lama glama). J **Endocrin.** ; 45: 505-513, 688 pp

16. **Evans, G., J. Brooks, W. Struthers y A.S. McNeilly.** 1994. Superovulation and embryo recovery in ewes treated with gonadotrophin releasing hormone agonist and purified follicle stimulating hormone. *Reprod. Fertíl Dev*; 6(2): 247-252, 316 pp.
17. **Fernández – Bue, S** 1970. La alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7 INVITA UNSMS, Lima, 43 pp.
18. **Fernández Baca , S** , 1971. La alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7 IVITA, UNMSM-Lima, 43 pp.
19. **Fernández – Baca; Novoa, C; Sumar.** 1972. Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho, Asociación Latinoamericana de Producción Animal (A.L.P.A.) Mem, 7: 7-18, 45 pp.
20. **García W. et al .** 2004-2005. Manual Alpaquero, 75 pp.
21. **Huanca W,** et al , E 2005. Evaluación de un tratamiento de superovulación en la respuesta ovárica y tasa de preñez en llamas, *Rev. BIOTAM*, 81 pp.

22. **Huanca, W., O. Cárdenas, C. Olazabal, M. Ratto & G. P. Adams.**
2001. Efecto Hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev. Inv. Vet. Perú Supl. 1: 462 – 463.
23. **INIA**, Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria.
24. **Kmaid, S; Ungerfeld, R; Rubianes, E.** 2003. Técnicas de colección y transferencia de embriones en pequeños. En reproducción en los animales domésticos, Tomo II. Melibea Ediciones. Montevideo, Uruguay, pp 567-572.
25. **Kacmarick, J., P. Gamcik, J. Posivack, D. David, P. Hruskova y E. Piesova.** 1987. Superovulation after administration of PMSG in cows of various breeds. Vet. Med. (Praha) 32: 10, 577-86.
26. **Hafez** 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. VII Edición Interamericana McGraw-Hill. México. Pág 224-240 y 415-440, 950 pp.
27. **Leyva, V; García** 1999 El Conejos efecto de la progesterona. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario UNMSN – FMV – Lima – Perú. 41pp

28. **Leyva y García** 1999, Efecto del estradiol en el periodo de reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas, Rev. investig. vet. Perú Vol 14, N° 2, 145 pp.
29. **Leyva, V.; W. García.** 1999 Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. Res. II Cong. Mund. Camélidos. Cusco, 89 pp.
30. **Leyva, V.; W. García.** 1999. Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. Res. II Cong. Mund. Camélidos. Cusco, 87 pp.
31. **López A , et al.** E 2006 Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal de llama, alpaca y toro. Rev. Inv. Vet Perú, Vol 17, 68 pp.
32. **Mc Millan, W. y R. Vishwanath.** 1994. Sincronización de celos e inseminación artificial en vacunos de carne. Anales del XIV seminario de la sociedad de ovinos y vacunos de carne. Asociación Veterinaria de Nueva Zelandia. Publicación 159.

33. **Milligan BR. 1982.** Induced ovulation in mammals. Oxford Reviews in Reproduction Biology. Oxford: Oxford University Press: 4, 78 pp.
34. **Menchaca, A; Ungerfeld, R. De Castro, T. Rubianes, E.** 2003. Tratamientos hormonales para la inducción y sincronización de celos en ovejas. En reproducción en los domésticos, Tomo II, Melibea Ediciones, Montevideo, Uruguay, 483-491, 1300 pp.
35. **Menchaca, A; Rubianes, E.** 2003. Superovulación en pequeños rumiantes. En reproducción en los animales domésticos. Tomo II. Melibea Ediciones. Montevideo, Uruguay pp. 539-548, 784 pp.
36. **MINAG,** Ministerio de Agricultura 2004, 50 pp.
37. **Mc Millan, W. y R. Vishwanath.** 1994. Sincronización de celos e inseminación artificial en vacunos de carne. Anales del XIV seminario de la sociedad de ovinos y vacunos de carne. Asociación Veterinaria de Nueva Zelandia. Publicación 159, 254 pp.

38. **Novoa, C; Fernando Brea, S, Sumar, Leyva** 1978. Pubertad en la alpaca. Rev. Inv. (IVITA) UNMSM pp. 29-35, 81 pp.
39. **Novoa C., Franco E., García W. Franco D.,** 1999. Dosis de Gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones en alpacas. Rev. Inv. Vol. 10, 129 pp.
40. **Paolicchi F. et al, E.** 1996 . Actividad biológica del plasma seminal de alpaca: estímulo para la producción de LH por Células gonadotropas. Rev. Argentina de Producción Animal, Bs. As., 16(4):351-356, 516 pp.
41. **Quintanilla Quintanilla Yoani** 2008. Estudio morfológico e histológico del cuerpo lúteo en 2 etapas de empadre en alpacas tuis de dos años de edad de raza Huacaya, de la comunidad de Aronda, región Moquegua. Tesis de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohoman , Tacna- Perú, 125 pp.

42. **Ríos M, et al.** 1985, Presencia de un factor de inducción de ovulación en el semen de la alpaca y toro. Resum 82 Reunión Cient Anual Asoc. Peruana Prod Anim. Perú: Huancayo, 113 pp.
43. **Rodríguez AR.** 1959 Ovulación en las alpacas. [Tesis de Bachiller]. Facultad de Medicina Veterinaria: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú-Lima, 21 pp.
44. **Rosnina, E, M.R. Jainudeen y M. Nihayah.** 1992. Superovulation and egg recovery in goats in the tropics. Vet. Rec. 130(5): 97-99, 126 pp.
45. **Rowlands 1977 IS, Weir BJ.** The ovarian cycle in vertebrates. In: Zuckerman S, Weir BJ. eds. The Ovary. London: Academic Press. 2: 217-233, 574 pp.
46. **Santiani, A; Leyva, V; García, W.** 2002. Efecto inhibitorio de la progesterona sobre el desarrollo de la onda folicular en llamas. Rev. Inv. Vet. Perú. 13(2): 10-17, 89 pp.

47. **Skdimore and G.P. Adams. 2000.** Cinética ovárica y control del ciclo ovárico en camélidos. Internacional Veterinary Information Service, Ithaca, New York, Usa., 133 pp.
48. **Sumar, J. y E. Franco. 1974.** Ensayo de Transferencia de Embriones en Camélidos Sudamericanos. Informe Final (IVITA). UNMSM. Lima, Perú, 147 pp.
49. **Sumar** 1985. Reproductive physiology in South American camelids. In: Land RB, Robinson DW. eds. Genetics of reproduction in sheep. London: Butterworths: 81-95, 164 pp.
50. **Sumar K,** 1993. Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de Alpacas y llamas. Rev. investig. vet. Vol 6, N°1, 137 pp.
51. **Velásquez C. y C. Novoa.** 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en Alpacas. Rev. investig. vet. del Perú, Vol 14, N° 2, 167 pp.

52. **Zhao XX, Huang YM, Chen BX.** 1990 Biological activity of Gonadotrophin-releasing Hormone-like factors in the seminal plasma of the Bactrian camel. Proc 1° Int Camel Conf.: 163-168, 241 pp.

53. **Zuñiga J de D.** 1958 El celo en las alpacas. Tesis de Bachiller. Facultad de Medicina Veterinaria: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú- Lima, 51 pp.

IX. ANEXO

ANEXO 1

Número de cuerpos lúteos encontrados

GRUPO EXPERIMENTAL		GRUPO CONTROL	
Primerizas	Múltiparas	Primerizas	Múltiparas
19	12	0	0
22	12	0	0
16	9	0	0
15	15	0	0
14	3	0	0
13	9	0	0

Elaboración propia

Análisis de varianza de los cuerpos lúteos encontrados

<i>RESUMEN</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Fila 1	4	31	7,75	88,25			
Fila 2	4	34	8,5	113			
Fila 3	4	25	6,25	60,25			
Fila 4	4	30	7,5	75			
Fila 5	4	17	4,25	44,25			
Fila 6	4	21	5,25	38,25			
Columna 1	6	98	16,33	13,07			
Columna 2	6	60	10	16,8			
Columna 3	6	0	0	0			
Columna 4	6	0	0	0			
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Filas	52,83	5	10,57	1,64	0,21	2,90	
Columnas	1160,5	3	386,83	60,13	1,36E-08	3,29	
Error	96,5	15	6,43				
Total	1309,83	23					

Elaboración propia

ANEXO 2

Número de embriones colectados

GRUPO EXPERIMENTAL		GRUPO CONTROL	
Primerizas	Múltiparas	Primerizas	Múltiparas
11	6	0	0
5	3	0	0
5	0	0	0
6	6	0	0
5	2	0	0
4	3	0	0

Elaboración propia

Análisis de varianza de los embriones colectados

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Fila 1	4	17	4,25	28,25		
Fila 2	4	8	2	6		
Fila 3	4	5	1,25	6,25		
Fila 4	4	12	3	12		
Fila 5	4	7	1,75	5,58		
Fila 6	4	7	1,75	4,25		
Columna 1	6	36	6	6,4		
Columna 2	6	20	3,33	5,47		
Columna 3	6	0	0	0		
Columna 4	6	0	0	0		
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	24,33	5	4,87	2,09	0,12	2,90
Columnas	152	3	50,67	21,71	1,03E-05	3,29
Error	35	15	2,33			
Total	211,33	23				

Elaboración propia

ANEXO 3

Fotografía 1. Selección de alpacas (donadoras) mediante ultrasonografía



ANEXO 4

Fotografía 2. Aplicación de 500 UI de gonadotropina sérica de la yegua preñada: PMSG (día 0) , 06: 00 am



ANEXO 5

Fotografía 3. Aplicación de 750 UI de gonadotropina coriónica humana: hCG (día 5), 06:00 am



ANEXO 6

**Fotografía 4. Empadre en primerizas y multíparas a las 07:00 am
(día 5)**



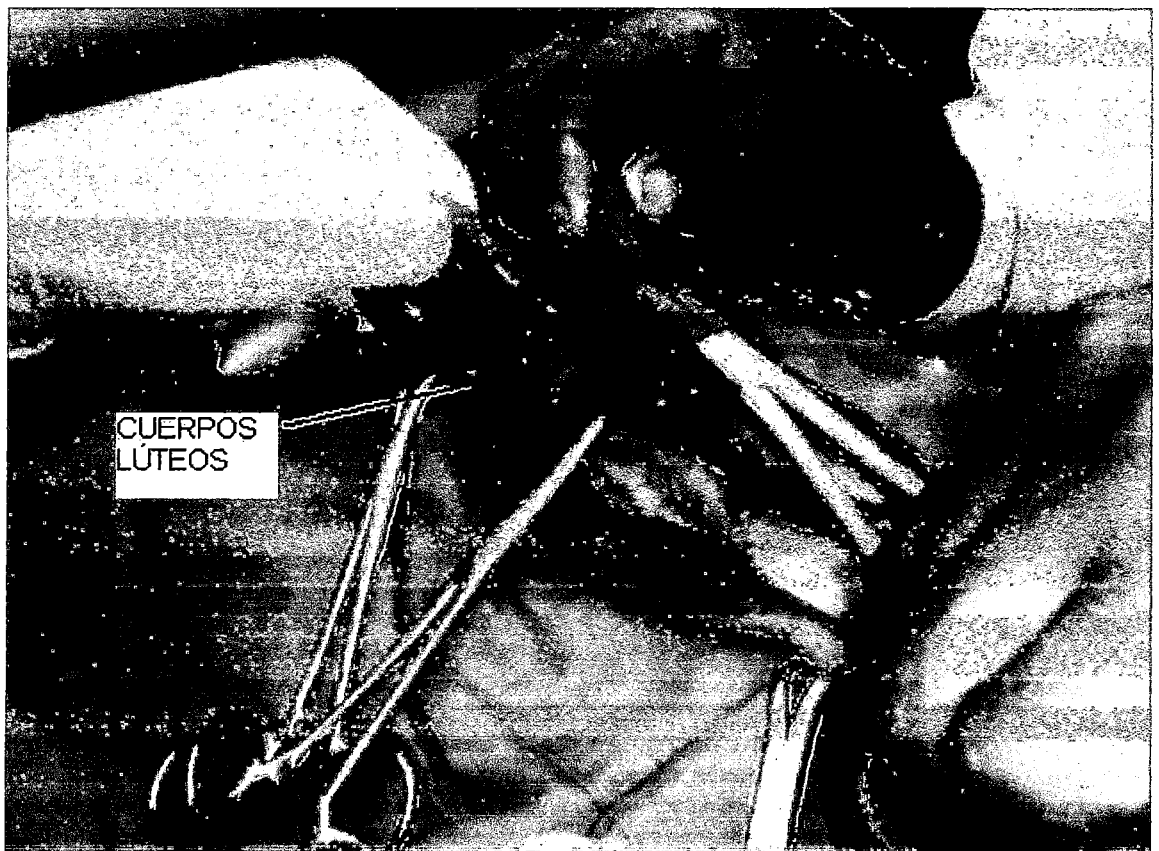
ANEXO 7

**Fotografía 5. Empadre en primerizas y multíparas a las 05:00 pm
(día 5)**



ANEXO 8

Fotografía 6. Conteo de cuerpos lúteos y recuperación de embriones, por el método quirúrgico.



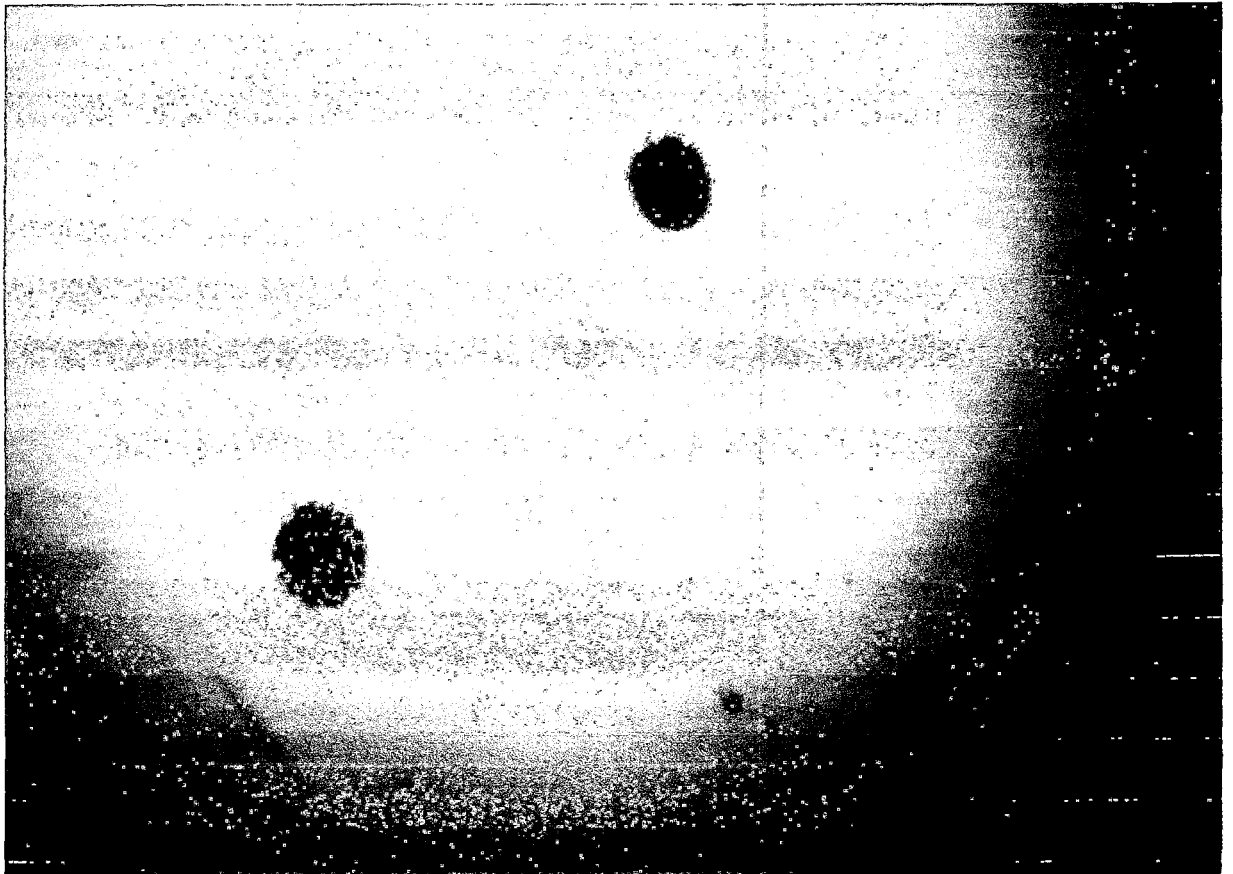
ANEXO 09

Fotografía 7. Conteo de embriones a 10 X y 100 X



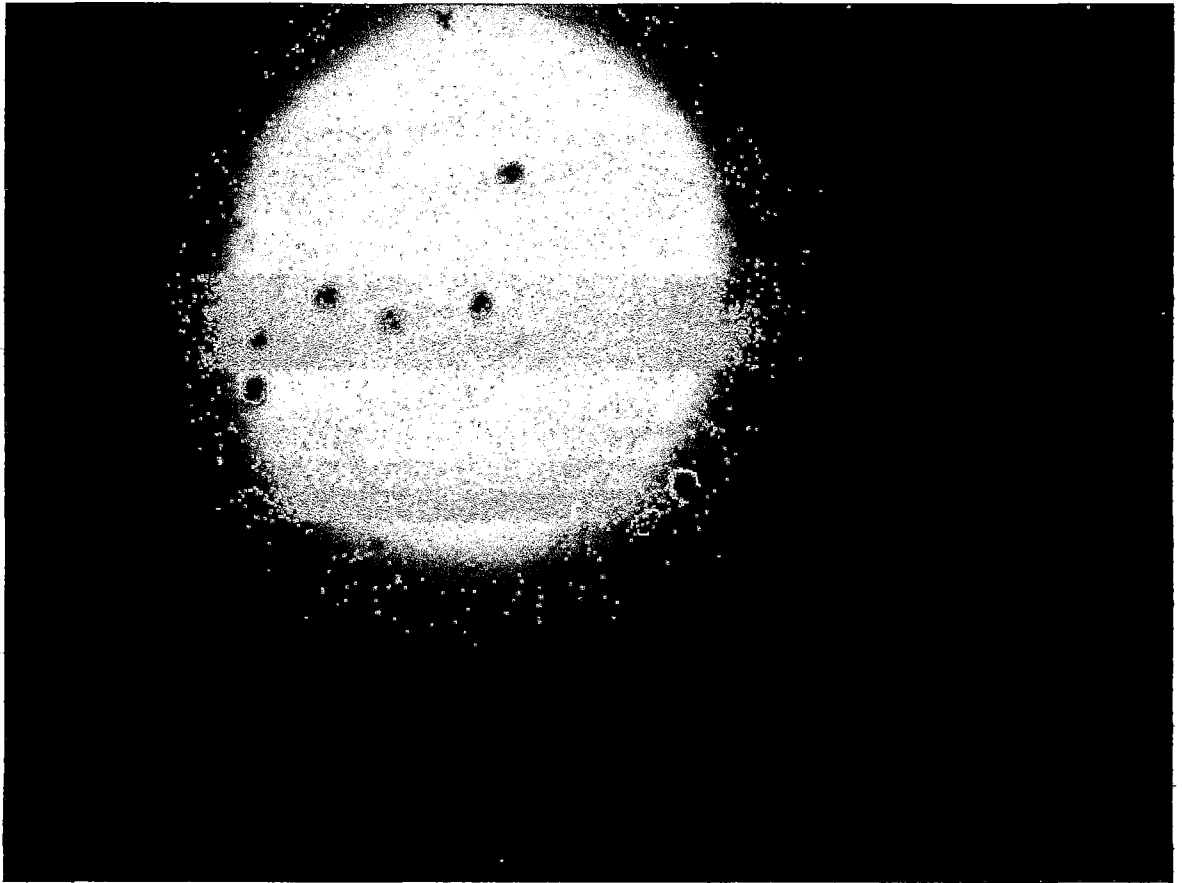
ANEXO 10

Figura N^a 08. Observación microscópica del embrión en fase mórula (32 células blastoméricas)



ANEXO 11

Fotografía 09. Observación microscópica de 8 embriones



ANEXO 12

Fotografía 10. Tratamiento post-operatorio

