



“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA

(Creada por Ley N° 25265)



**ESCUELA DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA
UNIDAD DE POSGRADO**

TESIS

**RESPUESTA SUPEROVULATORIA DE DOS DOSIS DE eCG
PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES EN LLAMAS,
AYACUCHO - 2020**

Disciplina: Ciencia animal

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Mg.Sc. César Augusto OLAGUIVEL FLORES

**PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN:
CIENCIAS AGROPECUARIAS**

HUANCAVELICA – PERÚ

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA
(Creado por la ley N°25265)
ESCUELA DE POSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
(APROBADO CON RESOLUCION N°736-2005-ANR)



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Ante el jurado conformado por los docentes: **Dr. David, RUIZ VILCHEZ, Dr. Nicasio, VALENCIA MAMANI Y Dr. Efraín David, ESTEBAN NOLBERTO.**

Asesor: Dr. Jaime Antonio, RUIZ BEJAR.

De conformidad al reglamento único de grados y títulos de la Universidad Nacional de Huancavelica, aprobado mediante Resolución N° 330-2019-CU-UNH y modificado con resolución N°552-2021-CU-UNH; y la Directiva de Sustentación Sincrónica de Tesis de los Estudiantes de Maestría y Doctorado de las Unidades de posgrado de las Facultades Integrantes de la Universidad Nacional de Huancavelica en el Marco del Estado de Emergencia covid-19, aprobado con Resolución Directoral N° 340-2020-CU-UNH.

EL candidato al **GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**, Don **MSc. Cesar Augusto OLAGUIVEL FLORES** procedió a sustentar su trabajo de investigación titulado **“RESPUESTA SUPEROVULATORIA DE DOS DOSIS DE eCG PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES EN LLAMAS, AYACUCHO - 2020”**

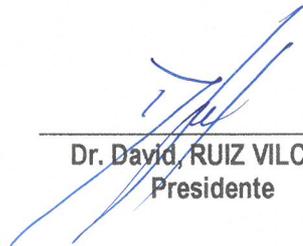
Luego, de haber absuelto las preguntas que le fueron formuladas por los miembros del jurado, se dio por concluido al ACTO de sustentación de forma síncrona, realizándose la deliberación, calificación y resultando:

Con el calificativo: Aprobado X Por... *Unanimidad*
Desaprobado

Y para constancia se extiende la presente ACTA, en la ciudad Acobamba, a los veinticuatro días del mes de marzo del año 2022.



Dr. Nicasio, VALENCIA MAMANI
Secretario del jurado



Dr. David, RUIZ VILCHEZ
Presidente



Dr. Efraín David, ESTEBAN NOLBERTO
Vocal

ASESOR:

Dr. JAIME ANTONIO RUIZ BÉJAR

DEDICATORIA:

A mis padres Félix y Felicitas por su incansable apoyo incondicional, a mi hija Ximena Fernanda quien con su ternura y alegría me acompaña cada día de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jaime Ruiz Béjar, quien tuvo un rol fundamental para el desarrollo y culminación del presente trabajo, a todo el equipo de trabajo que estuvo durante la ejecución de la presente investigación.

RESUMEN

“El presente trabajo se desarrolló en el Centro Experimental Pampa del Arco de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, el objetivo fue evaluar dos dosis de eCG para la obtención de embriones. Se utilizaron 08 Llamas hembras adultas mayores a 4 años de edad, con una condición corporal de 2,5; estas fueron evaluadas mediante ecografía con un transductor lineal rectal de 7,5 MHz. Los tratamientos hormonales se iniciaron cuando los animales tuvieron un folículo >7 mm de diámetro. La aplicación de la eCG fue 72 horas después de la inducción de la ovulación del folículo dominante con GnRH, el día 7 se aplicó PGF₂α, se realizó la monta natural más GnRH(1ml), el día 15 se realizó la colección y evaluación de embriones. Los resultados obtenidos fueron el diámetro folicular pre estimulación ovárica de 8,3 mm y 9,1mm para el T1 y T2 respectivamente, el número de folículos pre-ovulatorios fue 6,33 y 5,50 para el T1 y el T2 respectivamente, el diámetro de folículos pre-ovulatorios fue 11,2mm y 10,6mm para los T1 y T2 respectivamente, promedio de embriones recuperados por donadora fue 4,66+/-0,81 y 3,50+/-0,54 embriones para los T1 y T2 respectivamente, existiendo diferencia significativa ($P \leq 0,05$) y la calidad de embriones tuvo 35,7% y 38,1% de embriones de excelente calidad, 28,6% y 33,3% de calidad buena, 10,7% y 9,5% calidad regular, 10,7% y 0% de calidad mala, para los T1 y T2 respectivamente y 14,3% y 19,0% de embriones intransferibles para los T1 y T2 respectivamente. Se concluye, que el uso de 800 UI seguido de 1000UI de eCG es una alternativa ideal para la obtención de embriones en llamas, tanto en número y calidad de embriones”.

Palabras clave: superovulatoria, eCG, embriones, llamas.

ABSTRACT

“The present work was developed at the Pampa del Arco Experimental Center of the National University of San Cristóbal de Huamanga, the objective was to evaluate two doses of eCG to obtain embryos. 08 adult female Llamas over 4 years of age were used, with a body condition of 2.5; these were evaluated by ultrasound with a 7.5 MHz linear rectal transducer. Hormonal treatments were started when the animals had a follicle > 7 mm in diameter. The application of eCG was 72 hours after the induction of ovulation of the dominant follicle with GnRH, on day 7 PGF2 α was applied, natural mounting was performed plus GnRH (1ml), on day 15 the collection and evaluation of embryos was performed. The results obtained were the pre-ovarian stimulation follicular diameter of 8.3 mm and 9.1 mm for T1 and T2 respectively, the number of pre-ovulatory follicles was 6.33 and 5.50 for T1 and T2 respectively, the diameter of pre-ovulatory follicles was 11.2mm and 10.6mm for T1 and T2 respectively, mean embryos recovered per donor was 4.66 +/- 0.81 and 3.50 +/- 0.54 embryos for the T1 and T2 respectively, with a significant difference ($P \leq 0.05$) and the quality of embryos had 35.7% and 38.1% of embryos of excellent quality, 28.6% and 33.3% of good quality, 10 , 7% and 9.5% of regular quality, 10.7% and 0% of poor quality, for T1 and T2 respectively, and 14.3% and 19.0% of non-transferable embryos for T1 and T2 respectively. It is concluded that the use of 800 IU followed by 1000 IU of eCG is an ideal alternative for obtaining embryos on fire, both in number and quality of embryos”.

Keywords: superovulatory, eCG, embryos, llamas.

ÍNDICE

PORTADA.....	i
ACTA DE SUSTENTACION.....	ii
ASESOR.....	iii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INTRODUCCIÓN	xiii
CAPITULO I	17
EL PROBLEMA.....	17
1.1. Planteamiento del problema.....	17
1.2. Formulación del problema.....	18
1.3. Objetivos de la investigación.....	19
1.4. Justificación.....	19
CAPITULO II	22
MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Antecedentes de la investigación.....	22
2.2. Bases teóricas.....	28
2.2.1. Superovulacion	28
2.2.2. Gonadotrofina corionica equina (eCG)	30
2.2.3. Embriones.....	32
2.2.4. Llamas (Lama glama)	37
2.2.5. Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos	39
2.3. Marco conceptual.....	41
2.4. Marco filosófico	42
2.5. Formulación de la hipótesis	43
2.6. Identificación de variables.....	44
2.7. Definición operativa de variables e indicadores	44
CAPITULO III	46
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	46

3.1. Tipo de investigación.....	46
3.2. Nivel de investigación.....	46
3.3. Métodos de investigación.....	47
3.4. Diseño de investigación	47
3.4.1. Características del experimento	48
3.4.2. Análisis estadístico	48
3.4.3. Procedimientos de conducción de la investigación.....	48
3.5. Población muestra y muestreo.....	51
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	52
3.7. Descripción de la prueba de hipótesis	52
CAPITULO IV	54
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	54
4.1. PRESENTACIÓN E INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	54
4.1.1. Respuesta ovárica en relación al número de folículos de Llamas sometidas al tratamiento súper ovulatorio de dos dosis de eCG.	54
4.1.2. Numero de cuerpos lúteos en Llamas sometidas al tratamiento súper ovulatorio de dos dosis de eCG.	55
4.1.3. Número de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones.	55
4.1.4. Calidad de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones.	56
4.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	57
4.2.1. Diámetro folicular pre estimulación ovárica	57
4.2.2. Número y diámetro de folículos pre-ovulatorios.....	58
4.2.3. Numero de cuerpos lúteos.....	59
4.2.4. Número de embriones recuperados.....	60
4.2.5. Calidad de embriones recuperados	61
4.3. Proceso de prueba de hipótesis.....	62
4.3.2. Número de embriones recuperados.....	63
4.3.3. Número de folículos en ovarios superestimulados.....	63
4.3.4. Numero de cuerpos lúteos por ovario	64

4.3.5. Calidad de embriones	66
CONCLUSIONES.....	68
RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	79
ANEXO N° 01. MATRIZ DE CONSISTENCIA	80
Anexo N° 02. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS (HOJAS DE CAMPO).....	81
Anexo N° 03. REGISTRO DE CONDICIÓN CORPORAL DE LLAMAS.....	82
Anexo N° 04. BASE DE DATOS	83
Anexo N° 05. GALERÍA FOTOGRÁFICA.....	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de Embriones según IETS (1998)	37
Cuadro 2. Características de las ondas foliculares en Camélidos Sudamericanos.	40
Cuadro 3. Protocolo de superestimulación de ovarios y colección de embriones en llamas-2020.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Población Nacional de Llamas (en miles de cabezas) por regiones	38
Tabla 2. Respuesta ovárica en llamas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.....	54
Tabla 3. Numero de cuerpos lúteos en llamas sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI. 55	
Tabla 4. Número de embriones recuperados en llamas sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.....	55
Tabla 5. Calidad de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.	56

ÍNDICE DE FOTOS

Fotografía 1. Construcción de corrales	95
Fotografía 2. Instalación de cobertizos	96
Fotografía 3. Preparación de terreno para cultivo de forraje	96
Fotografía 4. Siembra de forraje	97
Fotografía 5. Evaluación de reproductores	97
Fotografía 6. Llamas donadoras de embriones	98
Fotografía 7. Evaluación ecográfica de donadoras.....	99
Fotografía 8. Evaluación de donadoras superovuladas	99
Fotografía 9. Evaluación de estructuras ováricas	100
Fotografía 10. Hormona para inducir la ovulación-GnRH.....	100
Fotografía 11. Hormona eCG para inducir la superovulacion	101
Fotografía 12. Materiales para la colección de embriones	102
Fotografía 13. Introducción del dilatador cervical.....	102
Fotografía 14. Colección de embriones a través de lavado con PBS.....	103
Fotografía 15. Placas Petri con embriones	103
Fotografía 16. Embriones obtenidos por proceso de superovulacion.....	104

INTRODUCCIÓN

“Explotación de camélidos sudamericanos domésticos es una actividad de gran importancia social y económica para la población alto andina. En los camélidos sudamericanos domésticos, el desarrollo y aplicación de biotecnologías reproductivas son herramientas alternativas, posibles de ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético utilizando individuos superiores que permitan mejorar la calidad de fibra de una especie doméstica como la alpaca y la calidad de fibra y el incremento en el peso vivo en llamas. Así mismo la aplicación de estas biotecnologías reproductivas puede ser una alternativa que contribuya al incremento de la población y uso racional de los camélidos”.

“Uno de los principales problemas que limitan el desarrollo de la crianza de camélidos 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 ± 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 o llama hembra en promedio puede producir durante toda su vida reproductiva solamente de 4 a 5 crías y los sistemas de manejos reproductivos que se aplican hoy en día en las comunidades, se basan en esquemas tradicionales (Huanca, 2008; Palomino, 2000; Sumar, 2000)”.

“Los ovarios en camélidos 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”.

“Las llamas hembras tienen la limitante de producir menos de 6 crías durante toda su vida productiva, lo que limita el mejoramiento genético en esta especie. La aplicación de protocolos de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) es bastante exitosa en bovinos con aplicación comercial en países con ganadería avanzada y en creciente desarrollo en nuestro país. En camélidos sudamericanos domésticos en cambio, la respuesta ovárica a tratamientos de ovulación múltiple es ampliamente variable (Miragaya et al., 2006) con una baja tasa de recuperación de embriones (Bourke et al., 1995)”.

La utilización de eCG como estimulante de desarrollo folicular fue empleada en diferentes protocolos de superovulación tanto en tiempo y en dosis aplicada obteniéndose respuestas muy variables.

“Los tratamientos de superovulación realizados en llamas y alpacas hasta el momento no obtuvieron una respuesta uniforme a nivel ovárico y en el número de embriones recuperados. (Agüero et al., 2001), (Bourke et al., 1992), (Bourke, et.al., 1995), (Correa et al., 1997). Existe una amplia variación individual que puede atribuirse a distintos factores (D’occhio et al., 1999). La dinámica folicular en el momento del inicio del tratamiento influye sobre la respuesta superestimuladora en cada individuo”.

Según (Adams et al., 1990) y (Bravo et al., 1990), “la dinámica folicular de la llama sigue el patrón clásico de ondas descrito en la hembra bovina. En cada onda folicular, emerge un grupo de folículos, uno de los cuales (el folículo dominante) continuará su crecimiento hasta alcanzar el diámetro máximo de 9-16 mm². La acción inhibitoria del folículo dominante lleva al resto de los folículos de la misma cohorte (subordinados) a detener su crecimiento y atresarse. Entre 1 y 4 días de

haber se iniciado la regresión del folículo dominante emerge la onda siguiente. (Adams et al., 1990), (Bravo et al., 1990)”.

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.*, 1992; 1995; Correa et al., 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 y siendo estos resultados inferiores comparados a otras especies (Del campo *et al.*, 1995). Esta limitación se encuentra asociada con una baja tasa de respuesta ovárica y una recuperación de embriones de mala calidad”.

Por estas consideraciones se planteó el presente trabajo de investigación considerando que es importante establecer protocolos de superovulación para la obtención de embriones frescos en llamas en la región Ayacucho.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

En el departamento de Ayacucho la crianza de llamas se encuentra en una situación de incertidumbre con una evidente disminución de la población de esta especie, un estancamiento de su desarrollo y generación de riqueza a la población rural. “El sistema de producción de camélidos se ha visto afectado principalmente por su marginalidad en su gran mayoría tradicional, orientados a la producción de carne y fibra, con bajos niveles de ingreso y falta de innovación de biotecnologías reproductivas que mejoren la eficiencia y la productividad en esta especie”.

En camélidos domésticos, el desarrollo y aplicación de biotecnologías pueden ser herramientas alternativas, factibles de ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético utilizando individuos superiores que permitan mejorar la calidad de fibra de una especie doméstica como la alpaca y posiblemente la llama. Igualmente, el uso de biotecnologías reproductivas puede ser una alternativa que contribuya al incremento de la población.

“Así mismo en camélidos sudamericanos la respuesta ovárica después de tratamientos para la ovulación múltiple es ampliamente variable, con una baja tasa de recuperación de embriones. La utilización de eCG como estimulante de desarrollo folicular fue empleada en diferentes protocolos de superovulación tanto en tiempo y en dosis aplicada obteniéndose respuestas muy variables”.

“Una de las limitaciones más importantes para el establecimiento de la técnica de transferencia de embriones en llamas es la falta de un adecuado protocolo de superovulación ovárica”.

“Esta limitación se encuentra asociada con una baja tasa de respuesta ovárica y recuperación de embriones de mala calidad, los estudios sobre superovulación en camélidos sudamericanos han sido desarrollados en diferentes fases de desarrollo folicular. Algunos autores han tratado de simular una fase luteal mediante la administración de progesterona exógena; o a través de la inducción de la ovulación mientras que otros realizaron el tratamiento superovulatorio durante la fase folicular”.

Por estas consideraciones se planteó el presente trabajo de investigación considerando que es importante establecer protocolos de superovulación para la obtención de embriones frescos en llamas en la región Ayacucho.

1.2. Formulación del problema.

Problema general

A continuación, se presentan las interrogantes a las cuales se darán respuesta con el presente estudio.

¿Existe diferencias de dosis de eCG en la respuesta superovulatoria para la obtención de embriones en llamas (*Lama glama*), Ayacucho?

Problemas específicos

- a) ¿Influirá la dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de embriones producidos en llamas (*Lama glama*), Ayacucho?
- b) ¿Influirá la de dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre la calidad de embriones producidos en llamas (*Lama glama*), Ayacucho?
- c) ¿Influirán las de dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de Folículos Post Súper estimulación en llamas (*Lama glama*), Ayacucho?

1.3. Objetivos de la investigación**Objetivo general**

Evaluar la respuesta superovulatoria de dos dosis de eCG para la obtención de embriones en llamas (*Lama glama*), Ayacucho.

Objetivos específicos

Se propusieron los siguientes objetivos específicos:

- a) Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de embriones en llamas (*Lama glama*), Ayacucho.
- b) Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre la calidad de embriones en llamas (*Lama glama*), Ayacucho.
- c) Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de Folículos Post Súper estimulación con Gonadotropina Corionica equina (eCG) en llamas (*Lama glama*), Ayacucho.

1.4. Justificación

“Los primeros trabajos de investigación en camélidos sudamericanos se iniciaron a partir de la década del 60, las alternativas biotecnológicas eran desarrolladas inicialmente a las necesidades de las grandes haciendas, posteriormente a las de las empresas de propiedad social y finalmente a las necesidades de las comunidades campesinas. Sin embargo, los sistemas de cría utilizados están basados mayoritariamente en esquemas tradicionales y tan solo un 10 % de los ganaderos emplea criterios técnicos”.

“Las llamas hembras tienen la limitante de producir menos de 6 crías durante toda su vida productiva, lo que limita el mejoramiento genético en esta especie. La aplicación de protocolos de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) es bastante exitosa en bovinos con aplicación comercial en países con ganadería avanzada y en creciente desarrollo en nuestro país”.

En camélidos sudamericanos domésticos, la respuesta ovárica a tratamientos de ovulación múltiple es ampliamente variable (Miragaya et al., 2006) con una baja tasa de recuperación de embriones (Bourke et al., 1995).

“Los estudios sobre la ovulación múltiple en llamas, son escasos y con resultados variables e inconsistentes, 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 (Novoa, 1996)”.

En nuestro país y en la región Ayacucho, “el principal problema radica en que no se aplican estas técnicas biotecnológicas de manera rutinaria, debido a que no existe un protocolo de superovulación estandarizado y validado y el personal capacitado es escaso y mientras dichos esfuerzos se van materializando y

ampliando, se necesita desarrollar técnicas reproductivas que faciliten la difusión masiva de animales con un valor genético alto”.

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), colección de embriones y su posterior 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 (Novoa, 1999)”.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Los datos consignados a continuación son resultados de trabajos de investigación y de Tesis, relacionados a nuestra investigación, pues es muy escasa o casi nula la bibliografía sobre trabajos específicos en esta especie animal.

(Bourke, et al., 1995), en su trabajo titulado Respuesta superovulatoria de la eCG en llamas, manifiesta que esta especie son ovuladores individuales inducidos por la copulación, y aún no se han desarrollado métodos de ovulación y transferencia de embriones (MOET) para esta especie. Las respuestas superovulatorias a eCG administradas durante una fase lútea inducida (Grupo A) o simulada (Grupo B) se investigaron mediante ultrasonido para observar los folículos ováricos y el cuerpo lúteo (CL) y se utilizó progesterona plasmática para evaluar la función lútea. Los embriones se recuperaron sin cirugía. Grupo A (n = 19): los donantes recibieron 8 µg, de un análogo de GnRH (día 0) para inducir la ovulación de un folículo maduro, 1000 UI, im eCG (día 7) y 250 µg de análogo PGF2α (día 9). Grupo B (n = 17): los donantes recibieron un implante de progestágeno subcutáneo (3 mg de Norgestomet) en los días 0 a 7) y 1000 UI, im eCG (día 5). Cuando la mayoría (> 65%) de los folículos en ambos grupos A

y B habían madurado a los 5 a 11 días después de eCG, los donantes recibieron 8 µg, im GnRH y se aparearon una vez (n = 26) o dos veces dentro de las 24 h intervalo (n = 10); Los embriones se recuperaron 6 a 9 días después de la ovulación. Se indujeron más folículos y cuerpos lúteos en el Grupo B que en el Grupo A, pero se recuperó un número medio similar de embriones (1.3 frente a 1.6), y una proporción similar de donantes produjo embriones múltiples (35 frente a 32%). La tasa de recuperación de embriones fue similar para los Grupos A y B (39 y 37%), pero fue mayor (P <0.001) con 2 (72%) en lugar de 1 (22%) apareamiento, y se correlacionó negativamente con el número CL (P <0,05). En general, el 80% de las llamas tenían una CL precoz y concentraciones elevadas de progesterona en plasma cuando múltiples folículos alcanzaron la madurez. Esto se asoció con un aumento de la superovulación posterior y la recuperación del embrión (P <0.01). El pico de progesterona plasmática se correlacionó positivamente con el número CL (P <0.05). A partir de estos resultados, concluimos que la superovulación se puede lograr con eCG administrado durante una fase lútea inducida o simulada, que la recuperación del embrión mejora después de 2 apareamientos en lugar de 1, y que MOET puede ser factible para su uso en la llama.

(Bravo, et al., 1995), “en su publicación titulada Respuesta a la dosis de gonadotropina coriónica equina y posterior ovulación en llamas, reporta que el crecimiento y ovulación de folículos múltiples fue inducido en llamas usando gonadotropina coriónica equina (eCG) seguido de cópula o administración de gonadotropina coriónica humana (hCG). Cuarenta y cinco llamas hembras fueron divididos al azar en cinco tratamientos: control (n = 8), 100 (n = 7), 500 (n = 10), 1000 (n = 10) y 2000 (n = 10) UI eCG. Ecografía fue usado para observar la actividad ovárica durante el ciclo ovárico. Sulfato de estrona y pregnandiol en orina fueron medidos para seguir la actividad estrogénica durante la estimulación ovárica hasta por 20 días después de la inducción de ovulación. El crecimiento folicular se incrementó (P < 0.05) 7 días después de iniciado el tratamiento con dosis \geq 500 UI eCG. Un promedio de 4.7, 4.6 y 6.4

folículos fueron observados con dosis de 500, 1000 y 2000 UI eCG, respectivamente. El número de folículos no fue diferente ($P > 0.05$) entre animales control y hembras que recibieron 100 UI eCG. Las concentraciones de sulfato de estrona fueron tres veces mayores en animales con folículos múltiples (101 ng mg⁻¹ Cr) que en animales con un folículo (29.7 ng mg⁻¹ Cr). La presencia de folículos quísticos (≥ 13 mm) ocurrió en 2, 2 y 9 animales que recibieron 500, 1000 y 2000 UI eCG, respectivamente. Veinte hembras que desarrollaron folículos múltiples fueron inducidas a ovular mediante cópula (11) ó hCG (9). Cuerpos lúteos fueron observados en 59.9 y 78.8%, respectivamente, de las hembras estimuladas. El número promedio de cuerpos lúteos fue 3.4 y 5.4, respectivamente. La concentración de pregnandiol fue 9.3 y 7.7 ng mg⁻¹ Cr, respectivamente, a los 7 días después de la inducción de ovulación. Las dosis de 500 y 1000 UI eCG fueron mejores en inducir el desarrollo de folículos múltiples con la administración de hCG como una mejor alternativa para estimular la ovulación”.

(Correa. et al., 1997), en el artículo titulado Superovulación en llamas (*Lama glama*) con pFSH y gonadotropina coriónica equina utilizada individualmente o en combinación, reporta lo siguiente; El propósito de este experimento fue evaluar la eficacia de pFSH y / o gonadotropina coriónica equina (eCG) para inducir la superovulación en llamas. Dieciséis llamas adultas con un peso promedio de 130 kg (rango 110-140) y que habían estado mostrando signos de celo durante 5 días fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos de tratamiento y un grupo de control (n = 4). Las llamas en el Grupo A recibieron eCG (500 UI, im) una vez al día durante 3 días, las del Grupo B recibieron pFSH im, en dosis decrecientes cada 12 h durante 5 días para un total de 220 mg, mientras que las del Grupo C recibieron eCG (500 UI, im) una vez, y pFSH (total de 156 mg, im) en dosis decrecientes durante los próximos 4 días. Las llamas en el Grupo D (control) recibieron solución salina (5 ml, i.m.) cada 12 h durante 5 días. Se permitió que todas las llamas se aparearan la noche del día 5 y se les dio hCG (750 UI, i.m.) en ese momento; se realizó un segundo apareamiento

12 h después. Se realizó una técnica no quirúrgica de recolección de óvulos / embriones 7 días después del primer apareamiento y luego se evaluó la respuesta ovárica mediante laparoscopia. Las 16 llamas se aparearon con éxito. El número medio (SEM) de ovulaciones (7.3 ± 3.1) en el Grupo B fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que en los otros grupos (1.5 ± 0.5 , 2.0 ± 0.7 y 0.3 ± 0.3 para los grupos A, C y D, respectivamente). El número de folículos > 10 mm en el momento de la recolección de óvulos / embriones fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en los grupos tratados con eCG. Se recuperó un total de 21 óvulos / embriones de las llamas enrojecidas, lo que corresponde al 47,7% de los cuerpos lúteos observados. De los 21 óvulos, 15 fueron fertilizados; 13 de ellos se clasificaron como blastocistos excelentes y los 2 restantes se clasificaron como muertos o degenerados. Los resultados demuestran que las llamas pueden superestimularse con éxito en los ovarios mientras se expresa el celo conductual y sugieren que pFSH es más efectivo que el eCG para inducir la superovulación.

(Carretero, et al., 2010), en su artículo Producción de embriones en llamas súper estimuladas pre tratadas para inhibir el crecimiento folicular, menciona que estas son monótocas y la duración de su período de gestación varía entre 342 y 350 días. Por lo tanto, el número promedio de crías que cualquier hembra puede producir a lo largo de su vida reproductiva está muy limitado para propagar un genoma deseado. La técnica de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) permite una alternativa a esta limitación y reduce el intervalo de generación. El objetivo de este estudio fue evaluar la recuperación de embriones en llamas súper estimuladas que previamente habían sido tratadas con hormonas para inhibir el crecimiento folicular. Un total de 50 llamas femeninas fueron monitoreadas diariamente a través de palpación rectal y ultrasonido y divididas de acuerdo con su crecimiento folicular ovárico en cuatro fases. Las hembras en cada fase se dividieron al azar en dos grupos: A ($n = 20$) recibió una dosis única de 1 mg de benzoato de estradiol (EB) el primer día del tratamiento + 100 mg de progesterona (P4) i.m. durante 5 días con 5 animales por fase y B

(n = 20) recibió 1 mg EB al inicio + 150 mg P4 i.m. por un período de 5 días con 5 animales por fase. El grupo C (n = 10) o control no recibió ningún tratamiento hormonal previo y las mujeres estaban en fase folicular I. Todos los grupos fueron monitoreados diariamente y, en presencia de folículos ováricos más pequeños que el tamaño dominante al final del tratamiento, todos fueron supe estimulados con 1000 UI de eCG. Para el registro de la concentración de progesterona en plasma, se recolectaron muestras de sangre diarias de los días -1 a 5 en las hembras tratadas en el Grupo A y B. No se observaron diferencias significativas con respecto a la inhibición del crecimiento del folículo y en las concentraciones de progesterona en plasma entre el Grupo A y B. La respuesta ovárica a la sobre estimulación fue 56.2%, 71.4% y 90%, con un número promedio de folículos dominantes producidos por hembra de 4.4 ± 0.9 ; 4.8 ± 0.7 y 4.6 ± 0.6 en los Grupos A, B y C, respectivamente. La tasa de recuperación de embriones fue del 77,7%; 90% y 66.7% y el número promedio de embriones recuperados por hembra fue 2.9 ± 0.9 ; 2.6 ± 0.9 y 2.4 ± 0.8 para los Grupos A, B y C, respectivamente. En los grupos A y B, la fase folicular estática (III) parecía ser ideal para iniciar la técnica de reproducción asistida de MOET. Aunque la administración previa de P4 + EB parece no tener efecto sobre la cantidad de hembras que respondieron a los tratamientos de supe estimulación, la cantidad de embriones recuperados mostró una tendencia a ser mayor cuando se realizó de antemano la inhibición del crecimiento del folículo ovárico.

(Quispe, M. 2015), “reporta en su tesis titulada, Respuesta ovárica y recuperación de embriones por efecto de dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) en alpacas, que 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”.

(Pacheco et al., 2020) “En su investigación titulada Evaluación de un nuevo protocolo de superovulación en llamas: respuesta ovárica, recuperación embrionaria y alteraciones pos-tratamiento que tuvo como objetivo evaluar el efecto de dos dosis de eCG sobre la respuesta superovulatoria, tasa de recuperación embrionaria y alteraciones reproductivas inducidas. Se utilizaron 32 llamas adultas, clínicamente sanas, distribuidas en dos grupos: Grupo I (700 UI eCG; n=15) y Grupo II (500 UI eCG; n=21). El protocolo de superovulación incluyó: día 1, inducción de ovulación (GnRH); día 4, aplicación eCG, según dosis establecida para cada grupo; día 8, aplicación de luteolítico (PGF2 α); día

11, ecografía para verificar el número de folículos y aplicación de análogo de GnRH; días 11 y 12, monta natural para inducir ovulación; día 19, lavado uterino y recuperación de embriones (se consideró como torsión cervical cuando se dificultó el paso de la sonda Foley hacia el útero); día 26: evaluación ecográfica para determinar la presencia de alteraciones reproductivas. El número de folículos por hembra para los grupos I y II fue de 4.9 y 3.7, respectivamente. El número de embriones colectados fue de 1.6 y 2.6 por hembra en los grupos I y II, respectivamente, lo cual indicaría la existencia de posibles fallas ovulatorias o luteinizaciones tempranas en el grupo I. La frecuencia de quistes foliculares y cuerpos lúteos persistentes fue superior en el grupo I respecto al grupo II, mientras que la frecuencia de metritis y torsiones cervicales fueron similares en ambos grupos. Se concluye que la dosis de 500 UI de eCG permite obtener una menor cantidad de folículos, pero un mayor número de embriones y menor frecuencia de problemas reproductivos en el pos-tratamiento”.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Superovulacion

“La superovulación es la producción de un número mayor de lo habitual de oocitos, generalmente resultante de la administración de gonadotropinas exógenas para procedimientos de fecundación asistida. También denominada ovulación múltiple o hiperestimulación ovárica controlada, se realiza su seguimiento con ecografías transrectales en animales domésticos de producción y cuyo objetivo es obtener más oocitos para incrementar las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida. Los métodos de superovulación, también se aplican en el CSA (Van y Gerneke, 1966). Los tratamientos superestimulatorios en camélidos han sido realizados mediante el uso de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) y Hormona Folículo Estimulante (FSH) durante la fase luteal inducida con

GnRH o hCG o creando una fase luteal artificial mediante el uso de progestágenos.). Así mismo, las gonadotropinas han sido administradas durante la fase de receptividad sexual. Luego del tratamiento superestimulador, las hembras son copuladas seguido de una administración de GnRH o Gonadotropina Coriónica humana (hCG) para inducir o reforzar la ovulación. (Ratto, M. et al., 2015)".

"Tanto eCG y FSH se están utilizando en la actualidad como agentes para estimular la ovulación múltiple, se reportaron que 500 UI de eCG no produjo superovulación ovárica después de la inhibición del folículo con benzoato de estradiol (BE) y aplicación vaginal de progesterona (CIDR). En alpacas la administración de 1000 UI de eCG al final de un protocolo de CIDR produjo una respuesta ovárica superior (número de CL's) que el tratamiento durante la fase folicular (sin tratamiento P4); además, las hembras tratadas con eCG sin pre-tratamiento con P4 tenía una incidencia significativamente mayor de quistes foliculares (Velásquez y Novoa, 1999). El tratamiento con 1000 o 1500 UI de eCG es eficaz para la inducción del crecimiento de folículos múltiples en llamas, aunque la administración de 1500 UI produce un mayor número de folículos (Trasorras et. al., 2009)".

"La administración de altas dosis de eCG puede ser beneficiosa para llevar a cabo la aspiración del folículo para obtener oocitos para su uso en técnicas de reproducción asistida tales como FIV e inyección intraplasmática de esperma (ICSI). Por otro lado, cuando el objetivo es la obtención de embriones a través de lavado uterino, su uso podría ser perjudicial debido al posible desplazamiento de la bolsa 24 ovárica, debido al gran tamaño del ovario superovulado. Las técnicas están produciendo un promedio de 2,5-3 embriones por descarga (hasta 21 embriones por hembra) El número de estudios sobre la superovulación y la TE en los CSA se mantiene baja y el perfeccionamiento de los protocolos existentes continúa para identificar un programa de superovulación que produce

sistemáticamente un número aceptable de embriones transferibles, y se asocia con un riesgo mínimo de la infertilidad de la hembra donante elite. (Vaughan et. al., 2013)”.

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

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

2.2.2. Gonadotrofina corionica equina (eCG)

Origen. “Hace sesenta años, Cole y Hart informó que el suero tomadas de 62 yeguas en las distintas etapas del embarazo se inyectaron en ratas y ratones inmaduros estimulando el crecimiento del ovario. El suero recogido de yeguas antes de 37 días de embarazo no tuvo ningún efecto, mientras que el suero recogido entre los días 37 y 42 indujeron una respuesta gonadal pronunciada. La estimulación máxima producida por el suero tomado entre los días 43 y 80 días de gestación de la yegua, y los efectos puede ser inducida por suero recogido a través de 131 días. Hubo poca actividad para los días restantes 210 de gestación. El elemento que estimula los ovarios se conocía como PMSG. Se asumió que será producida por la glándula pituitaria equino, pero su localización en los tejidos fetales y maternos llevó Catchpole y Lyons para concluir que fue secretada por el corion y se almacenan en el endometrio. Posteriormente se ha demostrado que el sitio de síntesis de esta gonadotropina era las copas endometriales, que son placas pálidas, circunscritos de tejido que se desarrollan en el cuerno grávido del endometrio de la yegua, adyacentes a la faja coriónica del embrión (Bruce Murphy & Susan Martinuk, 1991). La Gonadotropina Coriónica Equina (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 (Hafez, 2002). 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, 2002). Sin embargo, esta prolongada vida media provoca también algunos inconvenientes ya que continúa estimulando el crecimiento folicular después de 9 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 Ireland, 1984). Los tratamientos con 1000 y 1500 UI de hormona gonadotrofina coriónica equina son efectivos en inducir crecimiento folicular múltiple, pero con la aplicación de 1500 UI es mayor la producción de folículos. (5) Además, la súper-estimulación con hormona gonadotrofina coriónica equina está asociada a una mayor proporción de complejos ovocito cumulus expandidos y COC's en MII, comparado con el tratamiento con FSH. Los camélidos son ovuladores inducidos, por lo tanto, la maduración in vivo de ovocitos dentro del folículo puede producirse mediante la inducción de la liberación de LH administrando análogos de GnRH, como la buserelina o hCG. La administración de buserelina es beneficiosa para la recuperación de una gran 18 cantidad de complejos ovocito cumulus expandidos, los cuales pueden ser utilizados directamente en técnicas de reproducción asistida sin necesitar de la previa maduración in vitro (Hafez, 2002)".

2.2.3. Embriones

a) Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario en alpacas fue reportado desde un día post ovulación, indicando que desde 1 día hasta 5 día post ovulación están localizados en el oviducto ipsilateral al ovario ovulado, donde en día1 post ovulación el embrión se halla es estado de una célula, día 2 con 2 o 4 células, día 3 con 8 células y mórulas, día 4 en estado de mórula, día 5 en estado de mórula. A partir del 6 día post ovulación los embriones se localizan en el útero, así el día 7 en estado de blastocisto temprano, el día 8 en estado de blastocisto colapsado y día 9 en blastocisto elongado. El tamaño de los embriones medidos en el diámetro el día 6 post ovulación de 381 a 480 μ m, día 7 de 600 a 673 μ m, día 8 de 8 a 8.8 mm (Picha et al., 2013).

b) Migración embrionaria

“La migración embrionaria del cuerno derecho al cuerno izquierdo de los embriones producidos por la ovulación del ovario derecho lo realizan en el estado de blastocisto colapsado a los 8 días post ovulación o a los 9 días post monta (Picha et al., 2013)”.

“Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5-6 días de la ovulación en forma de blastocistos en eclosión o recién eclosionados (Del Campo et al., 1995) comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de gestación (Tibary, 2001). En este mismo estudio se comprobó que el número de gestaciones originadas por embriones procedentes del cuerno derecho, que migran al izquierdo y se implantan en él es bastante reducido. No obstante, en un estudio posterior se observó que la mitad de las gestaciones establecidas en el cuerno izquierdo estaban soportadas por un cuerpo lúteo localizado en el ovario derecho (Fernández-Baca et al., 1979). A pesar de que exista migración del cuerno derecho al izquierdo, la ausencia de un embrión en dicho cuerno podría contribuir a la regresión del cuerpo lúteo, especialmente si la migración se retrasa con respecto al momento del reconocimiento maternal de la gestación. Tampoco podemos descartar la existencia de diferencias entre ambos cuernos en el mecanismo implicado de reconocimiento maternal de la gestación. Si bien no se conoce exactamente las razones de la migración, una explicación al respecto estaría en la actividad luteolítica diferencial de ambos cuernos uterinos al ser sólo local en el cuerno derecho y local y sistémica en el izquierdo (Fernández-Baca et al., 1979) por lo cual, el embrión al implantarse en el cuerno izquierdo contrarrestaría su acción luteolítica (Fernández Baca, 1993)”.

“El proceso de implantación es un estado de transición en el progreso de la gestación, durante el cual, el blastocisto asume una posición fija e inicia una interrelación fisiológica con el útero. Para garantizar este proceso, en camélidos es necesaria la presencia del cuerpo lúteo (Sumar, 1988; Fernández-Baca et al., 1979). La localización del embrión es en el cuerno uterino izquierdo, siendo similar en el camello y dromedario (Skidmore et al., 1996) Recientemente se ha descrito la anatomía macro y microscópica de la placenta de la alpaca (Olivera et al., 2003), formando en los camélidos un tipo de placentación epiteliocorial de tipo difusa, tal como los porcinos y equinos (Skidmore, 2005)”.

“La implantación parece iniciarse en el día 14 post -ovulación comenzando en el cuerno izquierdo, para posteriormente extenderse al derecho (Olivera et al., 2003) y las interdigitaciones entre las células epiteliales del útero y el trofoblasto embrionario se observan solamente en el cuerno uterino izquierdo, en regiones próximas al embrión. Estas zonas han sido descritas en dromedarios y permiten los primeros intercambios materno-fetales y el reconocimiento maternal de la gestación (Skidmore et al., 1996)”.

“Las interdigitaciones aumentan en profundidad y complejidad a medida que la gestación avanza, facilitando el intercambio gaseoso entre la madre y el feto (Fowler and Olander, 1990; Olivera et al., 2003). Las zonas de contacto entre el trofoblasto y el endometrio presentan una capa altamente glicosilada que podría jugar un papel destacado en el proceso de adhesión (Jones et al., 2000). Olivera et al. (2003) señalan en las alpacas, que el día 15 el blastocisto se encuentra libre en el lumen uterino, observándose los días 22 y 26 de gestación al trofoblasto con áreas de contacto y adhesión por complejos de interdigitación a la superficie uterina. Posteriormente, al día 30 el trofoblasto está rodeado por tejido conectivo extraembrionario, el cual al día 45 se encuentra bien vascularizado,

indicando la formación placentaria. Estas graduales modificaciones en la interface materno-embriónica son características de las fases de aproximación, contacto y adhesión del proceso de implantación embriónica (Olivera et al., 2003)”.

c) Reconocimiento maternal de la preñez

El reconocimiento de la preñez en camélidos ocurre tempranamente entre los 8 a 10 días después de la monta, frente a otros rumiantes como el ovino y vacuno ocurre a los 12 y 16 días respectivamente, esto debido a que en el ovino a los 11 después del estro y 13 días en vacas el blastocisto sufre un crecimiento logarítmico. Mientras que en los camélidos la elongación del alantoides es después de la migración y pronto se expande dentro del cuerno izquierdo, cuerpo y cuerno derecho (Picha et al., 2013).

d) 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, 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)”.

Estos resultados en cuanto a porcentajes de recuperación de embriones y en relación al número de cuerpos lúteos presentes en el ovario fue 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 $527,1 \pm 168,0$ μm y en alpacas de $534 \pm 151,4$ μm . El 35% de embriones recolectados en las llamas eran de tamaño pequeño (<450 μm de diámetro), el 40% de tamaño mediano (451 a 650 μm) y un 24% de un tamaño grande (> 651 μm) 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 μ), 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 1. Clasificación de Embriones según IETS (1998)

Grado de Embriones	Características
Grado I	Excelente: 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.
Grado II	Buenos y regulares: 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.
Grado III	Malos: el embrión posee defectos definidos: detritos 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.
Grado IV	Degenerados y Retardados: Embriones con amplia degeneración celular y/o con un estado de desarrollo seriamente retardado, sin presentar una masa principal viable.

2.2.4. Llamas (*Lama glama*)

“La llama (*Lama glama*) es el camélido doméstico de mayor tamaño, puede alcanzar una talla de 120 cm, y peso adulto de 100 a 120 kg (San Martín y Bryant 1989; Mendoza 2013), y es el camélido doméstico mejor adaptado a la diversidad de condiciones medio ambientales del territorio alto andino (Quina E. 2015). Es criada fundamentalmente para transporte y abastecimiento de carne y esta crianza se encuentran localizado en el medio ecológico alto andino situado entre 3600 y 5500 msnm, con predominancia de pastos naturales de bajo valor nutritivo (Leyva 1991 y Mendoza 2015)”. “En muchos lugares alejados de los Andes, carentes de

vías de comunicación, la llama sigue prestando valiosos servicios como animal de carga. En la Tabla 1, podemos observar la dinámica poblacional dentro de los dos últimos censos nacionales según el CENAGRO (INEI 1994 y 2012), muestra que la población de Llamas tuvo una alarmante disminución de casi 26 %, pasando de 1'006,614 cabezas en el III CENAGRO del año 1994 a 746,269 cabezas en el IV CENAGRO del año 2012, habiendo descendido en 18 años - entre ambos censos - en un 25.86 por ciento. (Quina, 2015)".

“Durante ese tiempo estos animales están siendo desplazados por otro tipo de ganado; sin embargo, la Región de Pasco incrementó su población con respecto al censo de 1994 (Mendoza, 2015)".

Tabla 1: Población Nacional de Llamas (en miles de cabezas) por regiones

Región	III CENAGRO	IV CENAGRO
	1994	2012
Puno	359,786	237,669
Cuzco	178,040	121,898
Arequipa	96,963	102,536
Huancavelica e Ica	130,068	54,648
Ayacucho	57,003	43,961
Junín, Pasco y Huánuco	111,909	85,797
Apurímac	49,655	36,042
Moquegua	-	26,493
Tacna	-	21,602
Lima, Ancash, Cajamarca y La Libertad.	23,190	14,681
Otros	-	942
Total	1'006,614	746,269

Fuente: INEI – III CENAGRO (1994) Y IV CENAGRO (2012).

Perú es el país con mayor población de camélidos sudamericanos en el mundo, teniendo el 89,9 de las alpacas y el 32,0 por ciento de las llamas,

en tanto que Bolivia posee el 8,9 de las alpacas y el 63,8 por ciento de las llamas (Mamani-Linares et al., 2014).

Existen dos razas, Chaku y K'ara, conocidas también con las denominaciones Lanuda y Pelada, respectivamente. Se diferencian una de otra por la magnitud de cobertura del cuerpo. Mientras que Chaku tiene mayor cobertura de fibra, incluyendo las extremidades, K'ara tiene una apariencia de mayor fortaleza corporal con poca cobertura de cuerpo y extremidades (FAO, 2005). Existen tipos intermedios que pueden confundirse con el Huarizo, producto del cruce de llama con alpaca, que ocurre frecuentemente en sistemas de crianza mixta como es el caso de la mayoría de pequeños productores (FAO, 2005).

2.2.5. 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 ≥ 6 mm (Bravo y Sumar, 1989). El crecimiento del folículo dominante (≥ 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 regresiona (Araínga *et al.*, 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 ± 2.5 (Chaves *et al.*, 2002) y en vicuñas 7.25 ± 0.46 días en promedio (Miragaya *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Características de las ondas foliculares en Camélidos Sudamericanos.

Característica observada (días)	Alpaca Bravo, 2002	Llama		Vicuña Miragaya <i>et al.</i> , 2004
		Adams <i>et al.</i> , 1990(1)	Chaves <i>et al.</i> , 2002 (2)	
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. Marco conceptual

En la actualidad, los CSA constituyen el único medio de utilización productiva de las extensas áreas de pastos naturales de las zonas alto andinas donde no es posible la agricultura ni la crianza económica de otras especies de animales domésticos. Los CSA convierten, con inusual eficiencia, los pastos naturales de bajo calidad nutricional en productos de alta calidad como son la fibra y la carne, además de los subproductos como las pieles que tienen múltiples usos industriales y artesanales. El estiércol es otro subproducto valioso que se usa como combustible para la cocción de los alimentos y como fertilizante para los cultivos. La llama, por otra parte, cumple una función muy importante como

medio de transporte en los lugares carentes de una adecuada infraestructura vial que, desafortunadamente, son muchos (Fernández-Baca 2005).

El objetivo productivo de la crianza de las llamas no está claramente definido, pero se usaban extensivamente como animales de carga y solo se beneficiaban a una edad avanzada (Leyva. 1989 e IVITA. 1990). En la actualidad, la llama suministra productos importantes como fibra, carne, estiércol y aún se le utiliza como medio de transporte (Guadalupe 1994).

En la actualidad, la explotación de camélidos sudamericanos se realiza con sistemas tradicionales manteniéndose los problemas de morbilidad, mortalidad y baja eficiencia reproductiva (Cárdenas *et al.*, 1999); donde las tasas de natalidad anual en la mayoría de explotaciones es del orden del 47% (CONACS, 2004), con índices de fertilidad (Apaza *et al.*, 1998) y preñez (Apaza *et al.*, 2001) inferiores a 65% y 60% respectivamente; con un reemplazo inadecuado para la reproducción, desconocimiento de la fisiología reproductiva e inapropiado empleo de reproductores en el apareamiento (Apaza y col, 1998).

Con el presente trabajo queremos demostrar que la utilización de técnicas apropiadas de biotecnología reproductiva en esta especie, son factibles puesto que esta especie se encuentra en decrecimiento en un 26%. El establecimiento de protocolos para la obtención de embriones es un primer paso para proseguir con otras técnicas que aseguran a futuro la preservación de este recurso zoo genético que es la llama. Todo ello permitirá disponer de una herramienta eficaz para la obtención de un mayor número de embriones viables a partir de las hembras de mayor calidad genética y tras su transferencia al resto de la población de hembras, incrementar sensiblemente el número de descendientes obtenidos a partir de las mismas.

2.4. Marco filosófico

La necesidad de profundizar en el conocimiento de la producción de embriones en llamas a través del uso adecuado de protocolos de super estimulación ovárica a través del uso de la variable independiente como eCG y la de embriones como variable dependiente, surge de la necesidad que tiene el investigador en conocer la implicancia de la manipulación de determinadas realidades que dan como consecuencia, cambios significativos en el entorno en el cuál se desenvuelve diariamente en el campo, dando origen al análisis de determinadas posturas a favor o en contra que puedan dar prioridad a la solución de los problemas recurrentes, que tienen su origen en el planteamiento del conocimiento empírico.

Sin embargo, con la utilización del método científico se busca dar respuestas a las interrogantes con hechos probados que demuestren cuáles son los aspectos más importantes que se deben considerar, al proponer determinado planteamiento. En este aspecto crítico al que se afronta el investigador permite que éste pueda escoger las teorías necesarias que se aproximen a la realidad observable que tendrá como consecuencia un acercamiento a las teorías que precisen aquello que se evidencia dentro de los planteamientos concretos que sirvan de cimiento consistente a su planteamiento. Por lo antes planteado se pretende desarrollar esta investigación con el fin de preservar este recurso zoo genético que año tras año su población disminuye.

2.5. Formulación de la hipótesis

Hipótesis general.

1. Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) influyen en la respuesta superovulatoria para la obtención de embriones en Llamas (*Lama glama*), Ayacucho.

Hipótesis específicas

1. Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran el número de embriones producidos en Llamas (*Lama glama*), Ayacucho.
2. Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran la calidad de embriones producidos en Llamas (*Lama glama*), Ayacucho.
3. Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran el número de Folículos Post Súper estimulación en Llamas (*Lama glama*), Ayacucho.

2.6. Identificación de variables

Independientes:

- Gonadotropina Corionica equina (eCG)

Indicadores.

- Dosis de eCG (800 y 1000ui)

Dependientes:

- Embriones

Indicadores.

- Número de embriones.
- Calidad de embriones
- Numero de folículos post superovulacion

2.7. Definición operativa de variables e indicadores

Variables	Definición Operativa	Indicadores
-----------	----------------------	-------------

<p>V. INDEPENDIENTES</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gonadotropina equina (eCG) <p>Corionica</p> <p>V. DEPENDIENTES</p> <ul style="list-style-type: none"> • Embriones 	<p>Se refiere a la Hormona en uso que es de naturaleza glucoproteica 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.</p> <p>Son seres vivos en las primeras etapas de su desarrollo, desde la fecundación, hasta que el organismo adquiere las características morfológicas de la especie.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dosis de eCG (800 y 1000ui) • Número de embriones. • Calidad de embriones • Numero de folículos post superovulacion
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente. Elaboración propia

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es aplicada por cuanto tiene como finalidad que los conocimientos adquiridos servirán para aplicarlos en el ámbito donde se realizan y esta información generada se irán agregando a la información previa que se tiene sobre la producción de embriones en llamas. Cuantitativa por cuanto para probar la hipótesis, el registro de datos provendrá del número de embriones obtenidos post super ovulación y colección de embriones, y que serán analizadas estadísticamente para establecer la correlación entre las dos dosis de eCG, lo que permitirá generar nuevos conocimientos a través de la causa efecto. Experimental. Se tiene previsto que los datos se obtendrán de un experimento y mediante el uso del método científico. Para la instalación del experimento se han planificado previamente las distintas etapas inherentes a una investigación como es: formulación del problema, objetivos, hipótesis, etc.). se tiene relativa información teórica y de antecedentes que permitirán enriquecer la discusión. Se han diseñado cuidadosamente las características del experimento de campo, así como las planillas y cuadros para la recolección de datos.

3.2. Nivel de investigación

Explicativa. Tiene como objeto explicar la influencia de la Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre la producción de embriones, a través de la observación como método descriptivo.

Correlacional porque en el estudio se establecerá con precisión el grado de relación que existe entre las variables dependientes e independientes durante la investigación. Su utilidad radica como se puede comprobar una variable, conociendo el comportamiento de otra variable relacionada. Tiene en cierto sentido un valor explicativo. Explicativa porque a través del experimento se busca explicar por qué y en qué condiciones se da la diferenciación de las dosis de eCG sobre la producción d embriones en llamas. Entonces existe predominio de explicación, descripción y correlación.

3.3. Métodos de investigación

Analítico, comparativo. La palabra “método” se compone del griego que significa literalmente “camino hacia algo” (Rosental y Ludin, 1979, p. 313). O el modo de hacer, basado en un conjunto de pasos ordenados, sistematizados y secuenciales para abordar la búsqueda del saber. Ahora bien, el método analítico es un camino para llegar a un resultado mediante la descomposición de un fenómeno en sus elementos constitutivos, con el propósito de conocer o comprender la realidad. Comparativo Método Comparativo, procedimiento de la comparación sistemática de casos de análisis que en su mayoría se aplica con fines de generalización empírica y de la verificación de hipótesis, mientras que el análisis requiere un esfuerzo sostenido para el propósito de comprender la realidad.

3.4. Diseño de investigación

Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA), con 2 tratamientos (Dosis de eCG) y 3 repeticiones tres superovulaciones). El modelo aditivo lineal del diseño experimental es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij-esima unidad experimental

μ = Efecto de la media general

τ_i = Efecto del i-esimo tratamiento

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la i-esima unidad experimental

3.4.1. Características del experimento

Las características son:

- Tratamientos: 2
- Repeticiones: 3
- Unidades Experimentales: 8

Tratamientos

- T1 = Dosis de 800ui de eCG
- T2 = Dosis de 1000ui de eCG

3.4.2. Análisis estadístico

El análisis estadístico del presente trabajo de investigación, se realizó mediante análisis de variancia y prueba de t y chi cuadrado.

3.4.3. Procedimientos de conducción de la investigación.

- a) Lugar de estudio.** “La investigación se llevó a cabo en el Centro Experimental Pampa del arco de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria – Facultad de Ciencias Agrarias de la U.N.S.C.H., ubicada en la Ciudad Universitaria, cuyas Coordenadas geográficas son: 13° 08’ Latitud Sur. 74° 13’ Longitud Oeste. 2772 metros sobre el nivel del mar”. El presente trabajo de investigación tuvo una duración de seis meses.
- b) Animales.** “Se seleccionaron 8 Llamas hembras adultas mayores a 4 años de edad, con un peso promedio de 80 Kg, que tuvieron como antecedente un parto en los últimos años, estas fueron divididas al azar en 2 grupos, con un manejo y alimentación en base a forraje y concentrado”.
- c) Métodos.**

Súper estimulación Ovárica

Las llamas fueron seleccionadas, previa evaluación gineco obstétrica y teniendo en consideración la condición corporal y último parto y fueron sometidas a la prueba de fertilidad, en la cual se observó la aceptación a la presencia del macho.

Cuadro 3. Protocolo de superestimulación de ovarios y colección de embriones en llamas-2020

DONADORA				
Enero	Día	ACTIVIDAD	DOSIS	
	2	0	Ecografía + GnRH	1.00 ml.
	3	1		

4	2	Ecografía	
5	3	ECG	1000 UI
6	4		
7	5		
8	6		
9	7	PG	1.00 ml.
10	8	Monta + GnRH	1.00 ml.
11	9		
12	10		
13	11		
14	12		
15	13		
16	14		
17	15	Lavado + PG.	1.00 ml

GnRH: Hormona liberadora de las gonadotropinas 1.00 ml.

eCG : Gonatropina corionica equina 1000 UI.

PG : Prostaglandina 1.00 ml.

Colección de embriones.

- a. “Para realizar la colección de embriones se sujetó a la donadora sobre una mesa con fijadores, y se aplicó tranquilizantes (Acepromazina) y anestesia epidural (Lidocaina), luego se procedio a la evacuación del contenido fecal e higienización de la zona vulvar (con agua y jabón carbólico, torundas de algodón y papel toalla desechable)”.

- b. “La recolección de embriones se realizó introduciendo por vía vaginal una sonda de Foley de 2 vías 18 Fr, guiada por un embolo de un aplicador de cassou dirigiendo este hacia el cuerno uterino”.
- c. “La sonda de Foley en la luz del cuerno uterino fue fijada por la insuflación del globo con aire (10-20ml), para la obstrucción del mismo, comprobándose con movimientos hacia la parte anterior y posterior de la sonda Foley con el aplicador”.
- d. “El lavado de los cuernos uterinos se realizó utilizando una solución de Buffer fosfato salino-PBS con volúmenes de 250 mL y con dos repeticiones, usando aproximadamente 500 mL de volumen total, este medio fue introducido medio de la sonda Foley conectada a la tubería en Y hasta presentar turgencia a la palpación rectal, luego de procedió a cerrar la tubería en Y para evitar reflujo”.
- e. Seguidamente se realizó leves masajes en el cuerno uterino, seguido de la liberación del medio de lavado.
- f. “Después del lavado el contenido se dejó por 10 minutos para que se diera la sedimentación, el sobrenadante fue sifonado hasta dejar de 20 a 30 mL en el fondo del filtro, esta cantidad se vertió a una placa Petri”.
- i. La evaluación de los embriones se realizó con un estereomicroscópio considerando la escala propuesto por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (Stringfellow y Seidel, 1998).

3.5. Población muestra y muestreo

La población fue representada por llamas donadoras de embriones. El tamaño de muestra para el experimento fue de 8 hembras donadoras de embriones, donde cada una de estas fue superovulada en 2 oportunidades.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La toma de datos de la actividad ovárica de las llamas donadoras de embriones fue a través de un ecógrafo portátil (Ecógrafo Tringa Linear Vet. Esaote) donde se tomó las medidas de los folículos expresada en mm, se inició con el protocolo de súper ovulación de aquellas llamas que tuvieron folículos mayores 0.7mm y la calidad de embriones fue evaluada con la ayuda de un estereomicroscopio.

3.1. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

El análisis estadístico se realizó en planillas de Excel, así como a través de la aplicación del programa estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadístico) versión 9.2.

3.7. Descripción de la prueba de hipótesis

La prueba de hipótesis se realizó para la variable dependiente embriones, de acuerdo a los factores de estudio como el número de embriones, calidad de embriones y número de folículos post super ovulación. La metodología de la prueba de hipótesis fue de acuerdo al análisis de variancia del diseño experimental completo al azar, con las pruebas de t y prueba de chi cuadrado.

Las hipótesis fueron sometidas a un nivel de significancia del 5%. El procesamiento estadístico de los datos se realizó empleando el programa estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadístico) versión 9.2.

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1. PRESENTACIÓN E INTERPRETACIÓN DE DATOS

4.1.1. Respuesta ovárica en relación al número de folículos de Llamas sometidas al tratamiento súper ovulatorio de dos dosis de eCG.

Tabla 2. Respuesta ovárica en llamas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.

	T1 dosis de 800UI	T2 dosis de 1000UI
Diámetro folicular pre estimulación ovarica	8.3mm	9.1mm
Numero de Folículos preovulatorios	6.33	5.50
Diámetro de folículos pre-ovulatorios	11.2mm	10.6mm

En la tabla 2, se presenta el diámetro folicular de llamas donadoras de embriones pre estimulación ovárica donde se tiene como promedio 8.3mm y 9.1mm para el T1 y T2 respectivamente, no existiendo diferencia significativa ($P \leq 0.05$), los resultados obtenidos en el presente estudio se encontraron dentro del tamaño óptimo para dar inicio al proceso de súper ovulación.

El número de folículos pre-ovulatorios fue de 6.33 y 5.50 para el T1 y el T2 respectivamente, no existiendo diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

El diámetro de folículos pre-ovulatorios fue de 11.2mm y 10.6mm para los T1 y T2 respectivamente, no existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$).

4.1.2. Numero de cuerpos lúteos en Llamas sometidas al tratamiento súper ovulatorio de dos dosis de eCG.

Tabla 3. Numero de cuerpos lúteos en llamas sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.

	T1 dosis de 800UI	T2 dosis de 1000UI
Promedio +/- DS	5.52+/-0.81	4.07+/-0.54

La tabla 3, muestra el número de cuerpos lúteos en llamas que fueron sometidas a diferentes tratamientos de dosis de Gonadotropina Corionica Equina (eCG), obteniendo como promedio de 5.52+/-0.81 y 4.07+/-0.54 cueros lúteos para el T1 y T2 respectivamente.

4.1.3. Número de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones.

Tabla 4. Número de embriones recuperados en llamas sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.

	T1 dosis de 800UI	T2 dosis de 1000UI
Promedio +/- DS	4.66 ± 0.81	3.50 ± 0.54
Min-Max(Embriones)	4 - 6	3 - 4
Total de embriones	28 (57.14%)	21 (42.85%)

La tabla 3. muestra el número de embriones recuperados de llamas donadoras de embriones, que fueron sometidas a dos dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG), 800 UI y 1000 UI, existiendo diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

4.1.4. Calidad de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones.

Tabla 5. Calidad de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones sometidas a la super estimulación ovárica con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.

	Calidad embrionaria					Total
	Excelente	Buena	Regular	Mala	Intransferible	
T1	10 (35.7%)	8 (28.6%)	3 (10.7%)	3 (10.7%)	4 (14.3%)	28 (100%)
T2	8 (38.1%)	7 (33.3%)	2 (9.5%)	0 (0.0%)	4 (19.0%)	21 (100%)
Tota	18 (36.7%)	15 (30.6%)	5 (10.2%)	3 (6.1%)	8 (16.3%)	49 (100%)
I						

La tabla 5. Muestra la calidad de los embriones obtenidos expresada en categorías de excelente 35.7% y 38.1%, buena 28.6% y 33.3%, regular 10.7% y 9.5%. mala 10.7% y 0.0% y finalmente intransferible 14.3% y 19.0% para los tratamientos 1 y 2 respectivamente. Estos resultados obtenidos se expresan en porcentaje dentro de cada uno de los tratamientos.

4.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

“La inducción a la superovulación con la transferencia de embriones, podría incrementar el número de descendientes obtenidos a partir de las hembras genéticamente superiores, facilitando la difusión de sus genes en el conjunto de la población. Sin embargo, la adaptación de las tecnologías reproductivas desarrolladas en otras especies a las llamas, resulta difícil debido a las particularidades de su fisiología reproductiva y a los escasos conocimientos relativos a la misma, lo que obliga a desarrollar procedimientos adaptados a estas especies”. Al realizar la aplicación de los tratamientos de superestimulación ovárica en las llamas donadoras, se pudo obtener una respuesta favorable en todos los animales del T1 (800UI) y T2 (1000UI), observándose el desarrollo de una nueva onda folicular con folículos > de 8 mm.

4.2.1. Diámetro folicular pre estimulación ovárica

“Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida por la cópula, y el desarrollo de un cuerpo lúteo después de una cópula infértil o durante la gestación deprime la dinámica folicular ovárica pero no la inhibe”. La dinámica folicular previa a la estimulación ovárica, observada por medio de la ecografía dos días previos al inicio del tratamiento superovulatorio fue similar al reportado por otros autores (Adams et al., 1990; Bravo et al., 1990), el cual permitió determinar el diámetro de los folículos en la fase de desarrollo. Por lo tanto, en el presente estudio los diámetros foliculares en los T1 (800UI) y T2 (1000UI) en el presente estudio, estuvieron de acuerdo a lo descrito por (Adams *et al.*, 1990, Ratto *et al.*, 2003). Así mismo (Riveros, *et al.*, 2010) reporta un diámetro folicular en guanacos de 1.0mm, siendo este ligeramente superior al encontrado en el presente estudio, ello se debería al factor especie y al sistema de crianza de estos, así mismo se debe tener en

consideración que existe una alternancia entre ovarios entre un 93% en guanacos y en llamas de un 65% o 81% de las olas) (Bravo et al., 1990; Chaves et al., 2002).

4.2.2. Número y diámetro de folículos pre-ovulatorios

Los folículos pre ovulatorios desarrollados a dosis de 800UI y 1000UI fueron superiores a los reportados por (Pacheco, et al.,2020), “en llamas tratadas con 500 y 700UI de eCG donde obtuvieron 3.7 y 4.9 folículos en promedio respectivamente, así mismo es superior al reportado por (Bravo et al. 1995)”, quienes mencionan 4.7 folículos en alpacas tratadas con 500 UI de eCG; los resultados obtenidos podrían deberse a las condiciones de manejo de las receptoras puesto que estas tuvieron un régimen de alimentación optimo, así mismo el factor individual de cada una de las donadoras y la dosis suministrada de eCG. (Trasorras *et al.*, 2009) “mencionan que solo tuvieron respuesta superovulatoria del 17% cuando utilizaron 500 UI de eGC, siendo la dosis óptima de 1000 UI”. Esta respuesta altamente variable podría deberse a que en dicho estudio se utilizaron animales con mayor peso (120 kg), citado por (Pacheco, et al.,2020), ello indicaría que se requiere validar el efecto de la dosis de acuerdo al peso vivo. Además, hay que considerar que en el estudio de (Trasorras *et al.*, 2009) se hizo con animales en estabulación y a nivel del mar. Del mismo modo (Trasorras *et al.*, 2017), manifiesta que los tratamientos con 1.000 o 1.500 UI de eCG son eficaces para inducir el crecimiento de múltiples folículos, pero un mayor número de los folículos se obtienen con 1.500 UI (Carretero *et al.*, 2010), lo cual se corrobora con el presente estudio.

La aplicación de dosis elevadas de eCG puede ser beneficioso para llevar a cabo una aspiración folicular para obtener COCs, pero cuando el objetivo es obtener embriones a través del lavado uterino, podría ser perjudicial debido

a el desplazamiento de la bolsa ovárica debido al gran tamaño del ovario superestimulado (Trasorras *et al.*, 2017). En vicuñas, la administración de una dosis de 750 UI de eCG produjeron una potente estimulación del crecimiento del folículo, obteniendo un promedio de 16,5 folículos por hembra (Aba *et al.*, 2005), este reporte nos confirma que el factor especie influye considerablemente en el número de folículos.

Las hembras donadoras de embriones sometidas al tratamiento superovulatorio de eCG tuvieron diámetros de folículos pre-ovulatorios de 11.2mm y 10.6mm para los T1 y T2 respectivamente, estos resultados se encuentran dentro de los rangos reportados por (Huanca, 2008) quien reporta diámetros de folículos comprendidos entre 7 y 13 mm, y corroboran que el procedimiento utilizado parece ser bastante adecuado para conseguir la superovulación, así mismo este resultado podría estar influenciado, por la alta variabilidad de la concentración de la hormona eCG en los preparados comerciales (Herrera *et al.*, 2016).

4.2.3. Numero de cuerpos lúteos

“La ovulación y el desarrollo del CL ocurre solamente como respuesta a la cópula o estímulo hormonal sobre folículos maduros. En general, los estímulos hormonales presentan una eficiencia entre 80-100% en la tasa de ovulación, siempre y cuando el folículo preovulatorio se encuentre en fase de crecimiento o maduración con un diámetro ≥ 6 mm (Bravo *et al.*, 1991)”.

El número de cuerpos lúteos encontrados en el presente estudio resulto inferior a lo reportado por, (Ratto *et al.*, 2006) quienes reportan un número de cuerpos luteos de 7.7 ± 0.8 en llamas utilizando una combinación hormonal de LH y eCG, (Velásquez y Novoa. 1999), quienes evaluaron 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) y reportan 8.20 ± 2.58 y 17.80 ± 8.34 cuerpos lúteos desarrollados en alpacas respectivamente, esto se debería a las diferentes hormonas utilizadas en los protocolos, como el uso de 1000 UI de hCG que influyo notoriamente y tuvo una mejor respuesta en la inducción de la ovulación, así mismo el efecto de la especie es otro factor que influiría, Por lo tanto, el folículo dominante con un diámetro >7 mm, tendría la capacidad de ovular y desarrollar un cuerpo luteo normal; En cambio, la inducción de folículos en regresión induce la formación de un CL de menor duración o estructuras luteinizadas (Bravo *et al.*, 1991).

“Así mismo (Bravo *et al.*, 2004) reporta una respuesta ovárica de 3 a 7 cuerpos lúteos, (Correa *et al.*, 1997), Reporta un total de 1.5 ± 0.5 cuerpos lúteos luego de inducir la ovulación con 750 UI de hCG en llamas que fueron estimulados con 500 UI de eCG; ambos resultados son inferiores a los obtenidos probablemente 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 μ g de GnRH (Correa *et al.*, 1997), mientras que otros indican que son necesarios 1000 μ g (Bravo y col., 1992). Para que se produzca la ovulación en las llamas sometidas a la súper estimulación ovárica, el folículo dominante tuvo un diámetro superior a los 7 mm”.

4.2.4. Número de embriones recuperados

El promedio de embriones recuperados de las llamas donadoras fue de 4.6 y 3.50 para el T1 (800UI) y T2(1000UI) respectivamente, este resultado obtenido es muy próximo a lo reportado por (Ratto *et al.*, 2006), quien reporta en promedio 4.9 ± 0.7 de embriones transferibles. (Pacheco *et al.*, 2020), reporta el promedio de embriones colectados en llamas donadoras fue de 1.6

y 2.6 para los grupos I (500UI) y II (700UI), este resultado es inferior a lo encontrado en el presente estudio, ello se debería a la dosis de eCG utilizada, tal como señala (Trasorras *et al.*, 2017), que a mayor dosis se tiene mejor respuesta.

Por otra parte, (Trasorras *et al.*, 2017), reporta haber obtenido $3,04 \pm 0,11$ embriones al someter a las donadoras a dosis de 1000UI de Ecg, al respecto la cantidad de embriones recuperados en nuestro estudio fueron superiores a lo obtenido por (Trasorras *et al.*, 2017), con 1.6 ± 0.3 embriones con 4.6 y 3.50 para el T1 (800UI) y T2(1000UI) respectivamente, al respecto, del número de embriones recuperados estos dependen del momento en que se realiza la colección, puesto que estos descienden hacia el útero con el transcurrir de los días (Sumar y Picha, 2014).

En alpacas las tasas de recolección de embriones del útero son óptimas desde el día 7,5 después del apareamiento o inseminación artificial, pero son bajas al día 6 e inconsistentes entre los días 6.5 y 7. (Sumar, 2013).

“El porcentaje de recuperación de embriones en camélidos está condicionado por diversos factores entre los que se ha destacado por su importancia la imposibilidad de la fimbria oviductal para captar todos los ovocitos liberados, el día en el que se efectúa la recogida (Taylor *et al.*, 2001; Novoa *et al.*, 1999) y el procedimiento utilizado para el lavado del útero (Bourke *et al.*, 1995, Ratto *et al.*, 1999; Huanca *et al.*, 2006)”.

4.2.5. Calidad de embriones recuperados

La mayor parte de la información reportada en súper ovulación en camélidos sudamericanos, tan solo consideran el efecto de la situación ovárica en el momento de la colección sobre la producción de embriones (Aller *et al.*,

2002b; Ratto *et al.*, 1997). Al respecto la calidad de embriones obtenida en el presente trabajo se clasifico de acuerdo a (Stringfellow and Seidel, 1998), obteniendo embriones en categoría de excelente 36.7%, buena 30.6%, regular 10.2%, mala 6.1% y intransferible 16.3%, los resultados obtenidos son inferiores respecto a la calidad embrionaria (Evangelista *et al.*, 2009), reporto 74,03 % fueron grado 1, el 14,29 % de grado 2, el 6,49 % de grado 3, el 5,19 % de grado 4 y ningún embrión de grado 5. Esta diferencia es atribuida a las diferentes hormonas utilizadas en la super estimulación (LH+eCG; LH+eCG+P₄), así mismo esta variación de la calidad embrionaria estaría influenciada por las donadoras superovuladas, debido probablemente a los cambios hormonales y estructurales en los fluidos foliculares y oocitos respectivamente, durante el período preovulatorio y que podría afectar la fertilización y desarrollo embrionario temprano” (Callensen *et al.*, 1986).

(Huanca. 2008), “al evaluar la calidad de embriones recuperados utilizando FSH obtuvo un mayor número de embriones catalogados como excelentes, mientras que el empleo de eCG permitió obtener un mayor número de embriones incluidos dentro de la categoría de buenos, aunque las diferencias observadas carecían de significación estadística”.

“Esta observación coincide con lo descrito en otras especies domésticas, puesto que se indica que los embriones producidos por las hembras tratadas con FSH son de calidad superior (Elsden *et al.*, 1978; Monniaux *et al.*, 1983). Algunos estudios endocrinos han demostrado que en las vacas tratadas con eCG son más frecuentes los perfiles anormales de LH y progesterona en las vacas tratadas con eCG (Greve, 1983; Mikel-Jenson y col, 1982), lo que se ha asociado con una reducción en los porcentajes de ovulación y fecundación (Callesen *et al.*, 1986)”.

4.3. Proceso de prueba de hipótesis

4.3.2. Número de embriones recuperados

Variable: Número de embriones recuperados

Factor: Tratamiento (dosis de eCG).

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: El número de embriones recuperados con dosis de 800 UI de eCG es igual al utilizar la dosis de 1000 UI de eCG.

Hipótesis alterna: El número de embriones recuperados con dosis de 800 UI de eCG es diferente al utilizar la dosis de 1000 UI de eCG.

Prueba estadística y de significación: Se utilizó la prueba de t-student con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

Si el valor de t calculada es mayor al valor de la t tabulada con ($\alpha=0.05$) con 10 grados de libertad: Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Si el valor de t calculada es menor al valor de la t tabulada con ($\alpha=0.05$) con 10 grados de libertad: Se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Decisión: Como t calculada: 2.91 es mayor a la t tabulada: 1.8125, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Conclusión: El número de embriones recuperados con dosis de 800 UI de eCG es mayor en comparación a la dosis de 1000 UI de eCG ($p<0.05$).

4.3.3. Número de folículos en ovarios superestimulados

Variable: Número de folículos

Factor: Tratamiento (dosis de eCG).

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: El número de folículos superestimados con dosis de 800 UI de eCG es igual a la dosis de 1000 UI de eCG.

Hipótesis alterna: El número folículos superestimados con dosis de 800 UI de eCG es diferente a la dosis de 1000 UI de eCG.

Prueba estadística y de significación: Se utilizó la prueba de t-student con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

Si el valor de t calculada es mayor a la t tabulada con ($\alpha=0.05$) con 10 grados de libertad: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Si el valor de t calculada es menor a la t tabulada con $\alpha=0.05$ con 10 grados de libertad: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Decisión: Como t calculada: 1.39 es menor a la t tabulada: 1.8125, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Conclusión: El número de folículos superestimados obtenidos en los ovarios de las llamas donadoras al aplicar dosis de 800 UI de eCG es similar a la dosis de 1000 UI de eCG ($p \geq 0.05$)

4.3.4. Numero de cuerpos lúteos por ovario

Variable: Número de cuerpos lúteos

Factor: Tratamiento (dosis de eCG)

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: El número de cuerpos lúteos obtenidos en los ovarios de llama al aplicar la dosis de 800 UI de eCG es igual al aplicar la dosis de 1000 UI de eCG.

Hipótesis alterna: El número cuerpos lúteos obtenidos en los ovarios de llama al aplicar la dosis de 800 UI de eCG es diferente al aplicar la dosis de 1000 UI de eCG.

Prueba estadística y de significación: Se utilizó la prueba de F con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

Si el valor de F calculada es mayor al valor de F tabulada con $\alpha=0.05$ con 1 y 20 grados de libertad: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Si el valor de F calculada es menor al valor de F tabulada con $\alpha=0.05$ con 1 y 20 grados de libertad: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Decisión: Como el valor de F calculada: 0.14 y es menor al valor de F tabulada: 4.35, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Conclusión: El número de cuerpos lúteos observados en los ovarios de llama al aplicar la dosis de 800 UI de eCG es similar al aplicar la dosis de 1000 UI de eCG ($p \geq 0.05$).

Variable: Número de cuerpos lúteos

Factor: Lado de ovario

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: El número de cuerpos lúteos obtenidos en el ovario izquierdo es igual al número de cuerpos lúteos obtenidos del ovario derecho.

Hipótesis alterna: El número cuerpos lúteos obtenidos en el ovario izquierdo es diferente al número de cuerpos lúteos obtenidos del ovario derecho.

Prueba estadística y de significación: Se utilizó la prueba de F con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

Si el valor de F calculada es mayor al valor de F tabulada con $\alpha=0.05$ con 1 y 20 grados de libertad: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Si el valor de F calculada es menor al valor de F tabulada con $\alpha=0.05$ con 1 y 20 grados de libertad: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Decisión: Como el valor de F calculada: 20.28 es mayor al valor de F tabulada: 4.35, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Conclusión: El número de cuerpos lúteos obtenidos en el ovario izquierdo es mayor al número de cuerpos lúteos del ovario derecho ($p<0.05$).

4.3.5. Calidad de embriones

Variable: Calidad de embriones

Planteamiento de la hipótesis:

Hipótesis nula: No existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones.

Hipótesis alterna: Existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones.

Prueba estadística y de significación: Se utilizó la prueba de Chi-cuadrada con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

Si el valor de Chi-calculada es mayor al valor de Chi-tabulada con $\alpha=0.05$ con 4 grados de libertad: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Si el valor de Chi-calculada es menor al valor de Chi-tabulada con $\alpha=0.05$ con 4 grados de libertad: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Decisión: Como el valor de Chi-calculada: 2.541 es menor al valor de Chi-tabulada: 9.49, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

Conclusión: No existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones de llama ($p \geq 0.05$).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se concluye que:

1. La superovulación en Llamas mediante la administración de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) a dosis de 800 UI y 1000UI, es una alternativa ideal para realizar la súper ovulación en Llamas, y permite obtener embriones en número y calidad.
2. El uso de dosis de 800 UI y 1000 UI de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) no influye en el número de folículos post super estimulación ovárica, por lo que el efecto de ambas dosis es similar.
3. La dosis de 800 UI de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) es una mejor opción para la obtención de embriones en llamas, respecto a la dosis de 1000UI.
4. La utilización de las dosis de 800 UI y 1000 UI de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) no influyen en la calidad de embriones.

RECOMENDACIONES

1. Proseguir estudios sobre la evaluación de dosis de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) con la adición de otras hormonas en la producción de embriones frescos en Llamas, la cual beneficiará a los criadores de llamas y nos permitirá ampliar nuestros conocimientos.
2. Realizar la evaluación económica de todo el proceso para la obtención de embriones frescos en Llamas.
3. Realizar la congelación y vitrificación de embriones obtenidos en respuesta a las dosis de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) y la transferencia de estos en llamas en su habitat.
4. Generar un banco de germoplasma de embriones producidos a través de la super estimulación ovárica en llamas con el apoyo de instituciones públicas y privadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aba MA, Miragaya MH, Chaves MG, Capdevielle EF, Rutter B, Agüero A. Effect of exogenous progesterone and eCG treatment on ovarian follicular dynamics in vicunas (*Vicugna vicugna*). *Anim Reprod Sci* (2005) 86:153–61. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.06.003
2. 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.
3. 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.
4. Agüero A, Miragaya M H, Ferrer M S, Capdevielle, E F, Chaves M G y Rutter B (2001): Follicular dynamics in (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology.* 34, 1119-1127.
5. Aller J F, Rebuffi G E, Cancino A K y Alberio R H. 2002. Successful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. *Animal Reproduction Science.* 73, 121- 127.
6. Apaza N., Olarte U. y Málaga J. 1998. Empadre controlado de alpacas Huacaya en el Banco de Germoplasma de la E.E. ILLPA Puno. Memorias de la XXI Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal. Universidad Nacional del Altiplano. Puno-Perú.
7. Apaza N., Sapana R., Huanca T. y Huanca W. 2001. Inseminación Artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. Memorias de la XIV Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
8. 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.

9. Bourke D, Adam C, Kyle C, Young P y Mc Evo T G 1992: Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. Procc. 12th Congress on Animal Reproduction, Vol. 1 The Hague, 23-27 August. pp:193-195.
10. Bourke DA, Kyle C, Mcevoy T, Young P, Adam C. 1995. Superovulatory responses to eCG en llamas (*Lama glama*). Theriogenology 44: 255-268.
11. Bravo W M, Stabenfeldt G H, Lasley B L y Fowler M E (1991b): The effect of ovarian follicular size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. Biol. Reprod. 45, 553-559.
12. Bravo, P.W.; Cosio, E.; Alarcón, V.; Ordoñez, C. 2004. The first 10 days of the alpaca embryo. In: 15th International Congress on Animal Reproduction. Abstract. Porto Seguro. Brazil. pp. 84
13. 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.
14. Bravo, W. 2002. The Reproductive process of south American camels, Seagull Printing. United Status of America
15. Bravo, W. y J. Sumar. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 30: 271-281.
16. Bravo, W.; M. Fowler; G. Stabenfeldt; B. Lasley. 1990b. Ovarian follicular dynamics in the llama. Biol. Reprod. 43: 579-585.
17. Bravo, W.; T. Tsutsui and L. Lasley. 1995. Dose response to equine gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. Small ruminant Research 18:157-163.
18. Brown, B. 2000. A review on reproduction in south american camelids. Anim. Reprod. Sci. 58 (3-4): 169-195.
19. Bruce D. Murphy, Susan D. Martinuk 1991. Equine Chorionic Gonadotropin *Endocrine Reviews*, Volume 12, Issue 1, 1 February 1991, Pages 27–44, <https://doi.org/10.1210/edrv-12-1-27>
20. Callesen H, Greve T y Hyttel P (1986): Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. Theriogenology. **25**, 71-86.

21. Cárdenas O., Huanca T., Sapaná R. y Alarcón V. 1999. Avances de inseminación artificial de llamas con semen congelado. XXII Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal. Huancavelica- Perú. 14- 17 setiembre.
22. Carretero MI, Miragaya M, Chaves MG, Gambarotta MC, Agüero A. Embryo production in superstimulated llamas pre-treated to inhibit follicular growth. *Small Ruminant Res* (2010) 88:32–37. doi:10.1016/j.smallrumres.2009.11.006
23. 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.
24. Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS). 2004.
25. Correa J, Ratto M H y Gatica R (1994): Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con progesterone y gonadotropinas. *Arch. Med. Vet.* 26, 59-64.
26. 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.
27. Del Campo, M. R., C. H. Del Campo and G. P. Adams. 1995. The application of new reproductive technologies to South American camelids. *Theriogenology.* 43, 21 –30.
28. 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.
29. 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.
30. D'occhio M J, Novoa C y Vera W G (1997): Ovarian follicle regression and emergence of a new follicular wave after injection of 17 β -oestradiol in alpacas. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 29,102.

31. Elsdén R P, Nelson L D y Seidel GE (1978): Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare serum gonadotrophin. *Theriogenology*. 9, 17–26.
32. Evangelista V., S., Cordero R., A., Santiani A., A., Vásquez E., M., Cárdenas M., O., & Huanca L., W. (2009). Estimulación con gonadotropina coriónica equina (ecg) durante las fases luteal y no luteal sobre la respuesta ovárica y calidad embrionaria en llamas. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 20(1), 33–40. <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.528>
33. FAO (Food and Agricultural Organization). 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú Disponible. http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/zootecnia_archivos/situacion%20alpacas%20peru.pdf.
34. Fernández Baca, S. 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
35. Fernández-Baca S (1970) Luteal function and the nature of reproductive failures in the alpaca. Ph.D. Thesis. Cornell Univ. Ithaca, New York.
36. Fernández-Baca, S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 307–323
37. 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.
38. Fowler, M. E. and H. J. Olander. 1990. Fetal membranes and ancillary structures of llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* 51, 1495-1500.
39. Greve T y Callesen H (1983): Endocrine profiles and egg quality in the superovulated cow. *Nord Vet Med.* 35, 408-21.
40. Guadalupe, M. 1994. Diagnóstico de la producción de llamas en el nivel tecnológico medio y bajo en las provincias de Pasco y Daniel Alcides Carrión.

- Tesis Ingeniero Zootecnista. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión. 198 p.
41. Hafez B. 2002. Llamas y alpacas. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México.
 42. 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.
 43. 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.
 44. INEI. 2012. Instituto Nacional de Estadística e Informática – IV Censo Nacional Agropecuario – IV CENAGRO
 45. Jones, C. J., F. B. Wooding, M. Abd-Elnaeim, R. Leiser, V. Dantzer and R. W. Stoddart. 2000. Glycoylation in the near-term epitheliochorial placenta of the horse, donkey and camel: a comparative study of interbreeding and non-interbreeding species. *J. Reprod. Fertil.* 118, 397-405.
 46. Riveros José Luis, Cristian Gerhard Schuler, Bonacic, Bernd Hoffmann, M. Graciela Chaves, Bessie Urquieta. 2010. Ovarian follicular dynamics and hormonal secretory profiles in guanacos (*Lama guanicoe*). *Animal Reproduction Science* 119 63–67. doi:10.1016/j.anireprosci.2009.11.005
 47. Leyva, V. 1989. Sistemas de producción de alpacas. En: Simposio Producción de Alpacas y Llamas. p 157-168. XII Reunión Asoc. Per. Prod. Anim. Lima.
 48. Leyva, V. 1991. Informe técnico III fase. Proyecto Camélidos Sudamericanos (IVITA - CIID). p.21.
 49. Mamani-Linares LW, Gallo CB. 2014. Meat quality, proximate composition and muscle fatty acid profile of young llamas (*Lama glama*) supplemented with hay or concentrate during the dry season. *Meat Sci* 96: 394-399.
 50. Mendoza, A. 2015. Situación de la crianza y manejo genético de llamas en las provincias de Pasco y Daniel Alcides Carrión en la Región de Pasco.

- Tesis Magister Scientiae. En Producción Animal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 105 p.
51. Mendoza, J. 2013. Medidas corporales en la selección de llamas K´ara e Intermedio (*Lama glama*) de la Región de Pasco. Tesis Magister Scientiae en Producción Animal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 74 p
 52. Mikel-Jenson A., Greve T, Madej A y Edqvist L-E (1982): Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF2 treated cow. *Theriogenology* 18, 33-34.
 53. Miragaya M, Chaves M G y Agüero A. 2006. Reproductive biotechnology in South American camelids. *Small Ruminant Research*. 61, 299-310.
 54. Miragaya, M.; M. Aba; E. Capdevielle; M. Ferrer; M. Chaves; B. Rutter and A. Agüero. 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuña (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology* 61 (4):663-671.
 55. Monniaux, D, Chupin D y Saumande J (1983): Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*. 19, 55-81
 56. Novoa C y Sumar J (1968) Colección de huevos in vivo y ensayo de transferencia en alpacas. Boletín extraordinario IVITA – UNMSM, Lima-Perú. 3, 31 – 34.
 57. Novoa, C. y V. Leyva. 1996. Reproducción en alpacas y llamas. Publicación Científica IVITA N° 26:30.
 58. 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.
 59. Olivera, L. D. Zago, R. Leiser, C. Jones and E. Bevilacqua. 2003. Developmental changes at the materno-embryonic interfase in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. *Anat. Embryol.* 207, 317–331.
 60. Pacheco Joel I. Vélez Víctor M. García Wilber. 2020. Evaluación de un nuevo protocolo de superovulación en llamas: respuesta ovárica, recuperación embrionaria y alteraciones pos-tratamiento *Rev Inv Vet Perú* 2020; 31(3): e18731 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18731>

61. Palomino, H. 2000. Biotecnología del Transplante y Micromanipulación de Embriones de Bovinos y Camélidos Sudamericanos. Editores Importadores, Perú.
62. 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.
63. Picha Y., A. Tibary, M. Memon, R. Kasimanickan, and J. Sumar. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology* 79: 702-708.
64. Quina, E. 2015. Diagnóstico de la crianza y caracterización fenotípica de las llamas k'ara (*Lama glama*) en Marcapomacocha, región Junín. Tesis Mg.Sc. Lima, Perú, UNALM.
65. Quispe M. J. E. 2015. Respuesta ovárica y recuperación de embriones por efecto de dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) en alpacas. Tesis Universidad Nacional del Altiplano-Puno.
66. Ratto M H, Gatica R y Correa J E (1997): Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*. 48, 325-330.
67. Ratto M N, Gomez C, Wolter M, Berland M y Adams G P. 1999. Superstimulatory response and oocyte collection in alpacas. II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco-Perú. pp: 96-97.
68. Ratto M, Huanca W, Singh J y Adams G P. 2006: Comparison of the effect of natural mating, LH and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Animal Reproduction Science*. 91 (3-4), 299-306.
69. Ratto MH, Silva ME, Huanca T, Cordero A, Huanca W. 2015. Inducción de superovulación en camélidos. *Spermova* 5: 253-257.
70. Ratto, M.H., Singh, J., Huanca, W. and Adams, G.P. 2003. Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate after fixed-time natural mating in llamas. *Theriogenology*, 60: 1645-1656.
71. Roche Ireland. 1984 *Clinical Theriogenology*.

72. San Martín, F. and Bryant, F.C. 1989. Nutrition of Domesticated South American Llamas and Alpacas. *Small Ruminant Research*. 2: 191-216.
73. Skidmore, J. A., F. B. Wooding and W. R. Allen. 1996. Implantation and early placentation in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Placenta*. 17, 253-262.
74. Skidmore, J.A. 2005. Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* 2(3): 161-171. Jul/ Sept.
75. Skidmore, L. 2004. Embryo transfer. Lecture Notes for the Shorter Course in Reproduction in the Dromedary Camel. Publisher: International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA. pp 4.
76. 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.
77. Sumar J, Picha Y. 2014. Embryo transfer. In: Cebra C, Anderson D, Tibary A, Van Saun R, Johnson L (eds). *Llama and alpaca care*. Canada: Elsevier. p 315-321
78. Sumar J. Embryo transfer in domestic South American Camelids. *Anim Reprod Sci* (2013) 136(3):170–7. doi:10.1016/j.anireprosci.2012.10.029
79. Sumar, J. 1988. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand.* 83,133-141.
80. Sumar, J. 2000. Llamas y Alpacas. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Mexico: Editorial Interamericana – Mc Graw – Hill.
81. Taylor, S; P. Taylor; A. James; R. Denniston y R. Godke. 2001. Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*. 53, 1-344.
82. Tibary, A. 2001. Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, Vancouver, BC, Canada, 12-15 september. pp: 387-396.

83. Trasorras Virginia L, Carretero María Ignacia, Neild Deborah M, Chaves Maria Graciela, Giuliano Susana M. Miragaya Marcelo H. 2017. Production, Preservation, and Transfer of South American Camelid embryos Review published: 13 November 2017 doi: 10.3389/fvets.2017.00190
84. Trasorras, V.L., Chaves, M.G., Miragaya, M.H., Pinto, M., Rutter, B., Flores, M., Agüero, A. 2009. Effect of eCG superstimulation and busserelin in cumulus–oocyte complexes recovery and maturation in llamas (*Lama glama*). *Reprod. Domest. Anim.*
85. Van y Gerneke 1966 Lectin binding patterns and carbohydrate mediation of sperm binding to llama oviductal cells in vitro
86. Vaughan, J.L., D’Occhio, M.J., Macmillan, K.L. 2013. Ovarian follicular inter-wave intervals in alpacas. In: *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reprod*
87. Velásquez, C., Novoa, M.C. 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev. Invest. Vet. (Perú)* 10 (1), 234–238.

ANEXOS

ANEXO N° 01. MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título. Respuesta superovulatoria de dos dosis de eCG para la obtención de embriones en llamas, Ayacucho - 2020.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Existe diferencias de la dosis de eCG en la respuesta superovulatoria para la obtención de embriones en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho? <p>ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Influirá la dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de embriones producidos en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho? • ¿Influirá la de dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre la calidad de embriones producidos en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho? • ¿Influirán las de dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de Folículos Post Súper estimulación en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho? 	<p>GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la respuesta superovulatoria de dos dosis de eCG para la obtención de embriones en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. <p>ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de embriones en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. • Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre la calidad de embriones en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. • Determinar la influencia de las dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) sobre el número de Folículos Post Súper estimulación con Gonadotropina Corionica equina (eCG) en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. 	<p>GENERAL.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) influyen en la respuesta superovulatoria para la obtención de embriones en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. <p>ESPECIFICA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran el número de embriones producidos en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. • Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran la calidad de embriones producidos en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. • Las diferentes dosis de Gonadotropina Corionica equina (eCG) determinaran el número de Folículos Post Súper estimulación en Llamas (<i>Lama glama</i>), Ayacucho. 	<p>INDEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gonadotropina Corionica equina (eCG) <p>Indicadores.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dosis de eCG (800 y 1000ui) <p>Dependientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Embriones <p>Indicadores.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Número de embriones. • Calidad de embriones • Numero de folículos post superovulacion 	<p>UBICACIÓN Coordinadas Geográficas 13° 08' L.S. 74° 13' Long W 2772 msnm</p> <p>TIPO DE INVESTIGACIÓN: Aplicada NIVEL DE INVESTIGACIÓN: Explicativa Correlacional MÉTODO: Analítico, comparativo. DISEÑO EXPERIMENTAL Diseño completo al azar (DCA) POBLACIÓN Llamas (<i>Lama glama</i>) MUESTRA 08 llamas hembras Con 02 repeticiones INSTRUMENTOS: Ecografo, estereomicroscopio. TÉCNICA:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se utilizarán protocolos como se detallan • Evaluación ecográfica de ovarios de hembras • Las hembras tendrán que tener un folículo mayor a 7mm. • Dia 0 aplicación de dosis de eCG • Dia 7 aplicación de prostaglandina F2 alfa y una dosis de eCG • Dia 8 empadre • Dia 15 lavado y recolección de embriones

Anexo N° 02. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS (HOJAS DE CAMPO)

HOJA DE EVALUACIÓN ECOGRÁFICA DONADORAS DE EMBRIONES

ID HEMBRA:

MOTIVO ECO: OBSERVAC.:

DÍA	OVARIO DERECHO	OVARIO IZQUIERDO	OBSERVACIONES
...../...../.....			
...../...../.....			
...../...../.....			
...../...../.....			

Anexo N° 03. REGISTRO DE CONDICIÓN CORPORAL DE LLAMAS

Fecha.....

ARETE	NOMBRE	EDAD	PESO	CONDICIÓN CORPORAL	OBSERVACIONES
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					

Anexo N° 04. BASE DE DATOS

The SAS System

The TTEST Procedure

Variable: NÚMERO DE EMBRIONES RECUPERADOS

TRAT	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
T1	6	4.6667	0.8165	0.3333	4.0000	6.0000
T2	6	3.5000	0.5477	0.2236	3.0000	4.0000
Diff (1-2)		1.1667	0.6952	0.4014		

^{a, b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), prueba t-student

TRAT	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev	95% CL Std Dev
T1		4.6667	3.8098 5.5235	0.8165	0.5097 2.0026
T2		3.5000	2.9252 4.0748	0.5477	0.3419 1.3434
Diff (1-2)	Pooled	1.1667	0.2723 2.0610	0.6952	0.4858 1.2201
Diff (1-2)	Satterthwaite	1.1667	0.2546 2.0788		

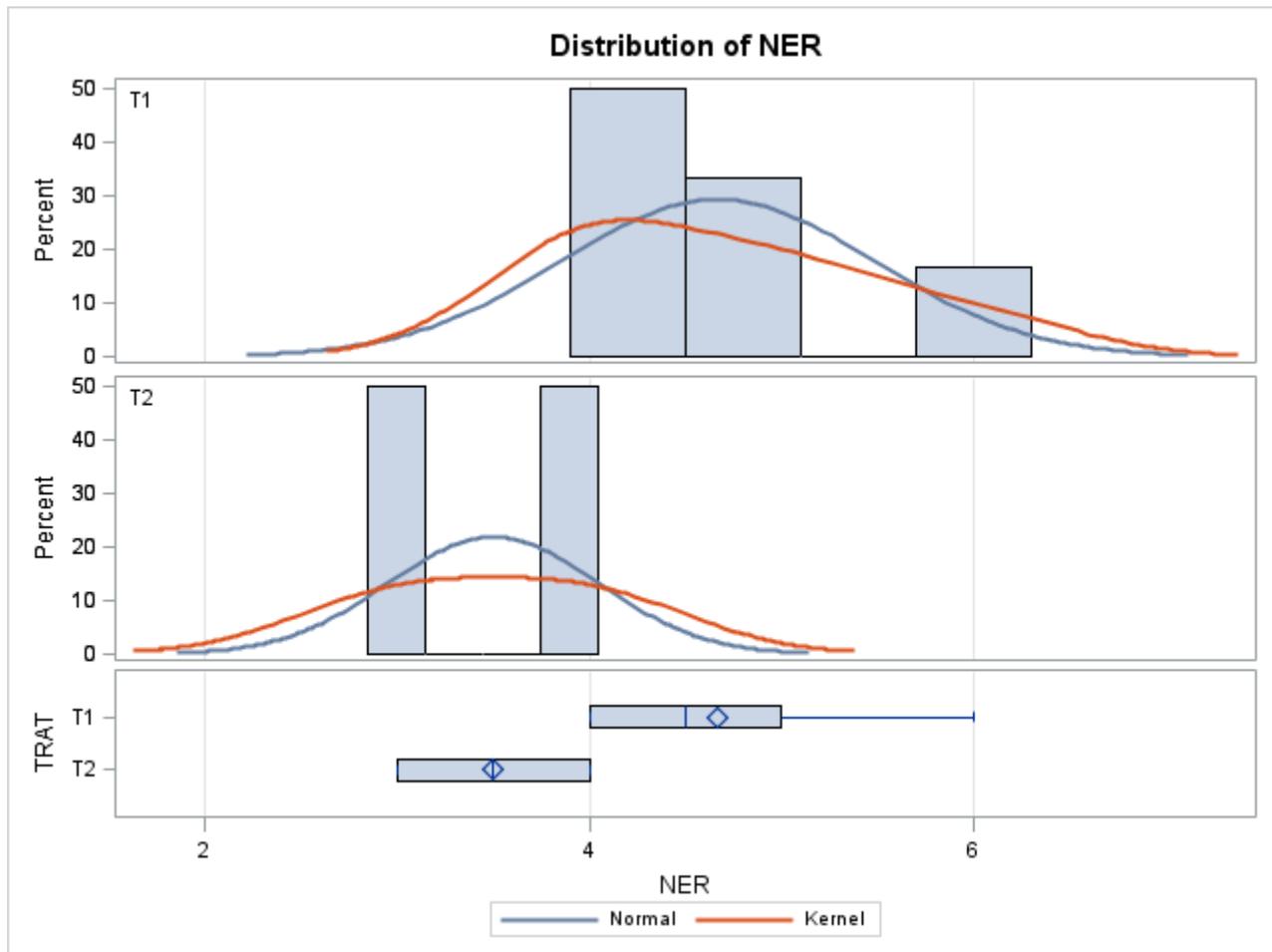
Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	10	2.91	0.0157
Satterthwaite	Unequal	8.7422	2.91	0.0179

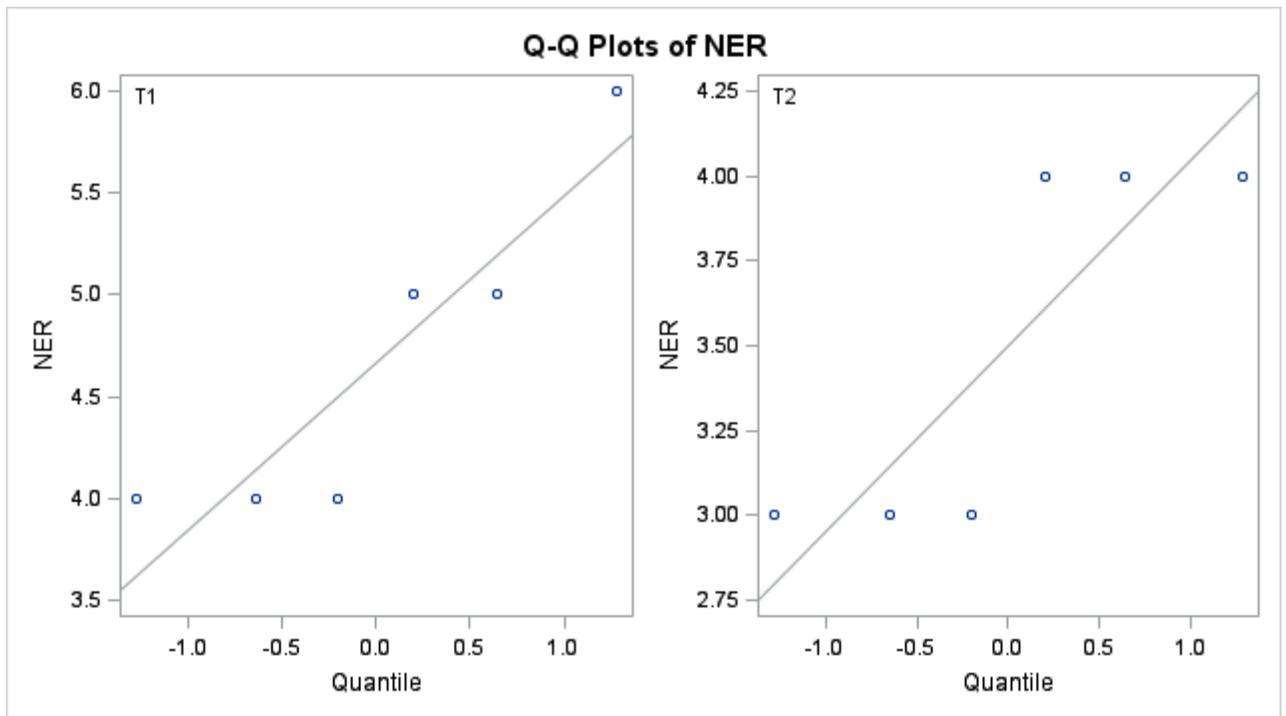
t calculada: 2.91 > t tabulada: 1.8125

Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	5	5	2.22	0.4014

Distribución de número de embriones recuperados





The SAS System

The TTEST Procedure

Variable: **NÚMERO DE FOLÍCULOS**

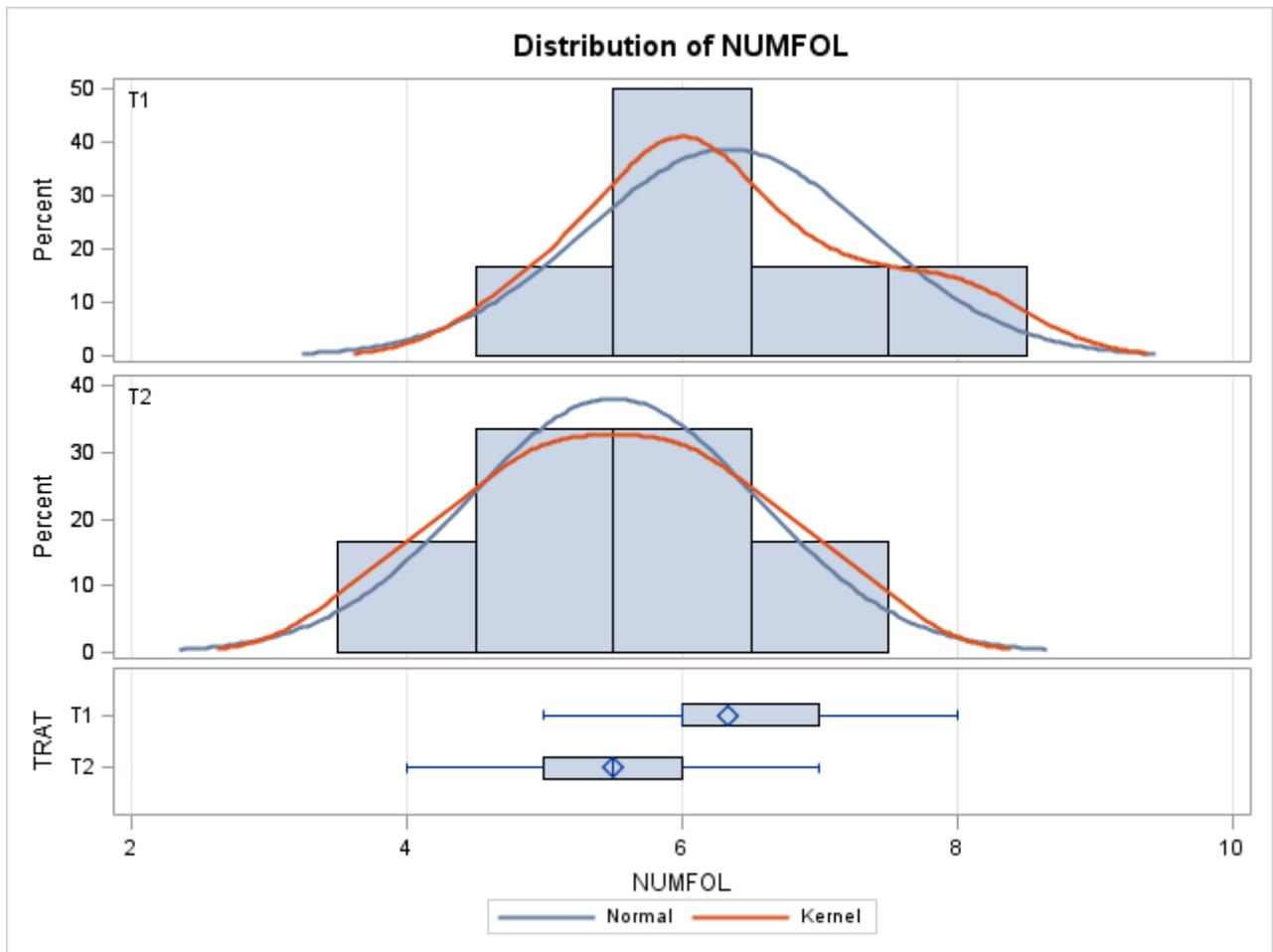
TRAT	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
T1	6	6.3333	1.0328	0.4216	5.0000	8.0000
T2	6	5.5000	1.0488	0.4282	4.0000	7.0000
Diff (1-2)		0.8333	1.0408	0.6009		

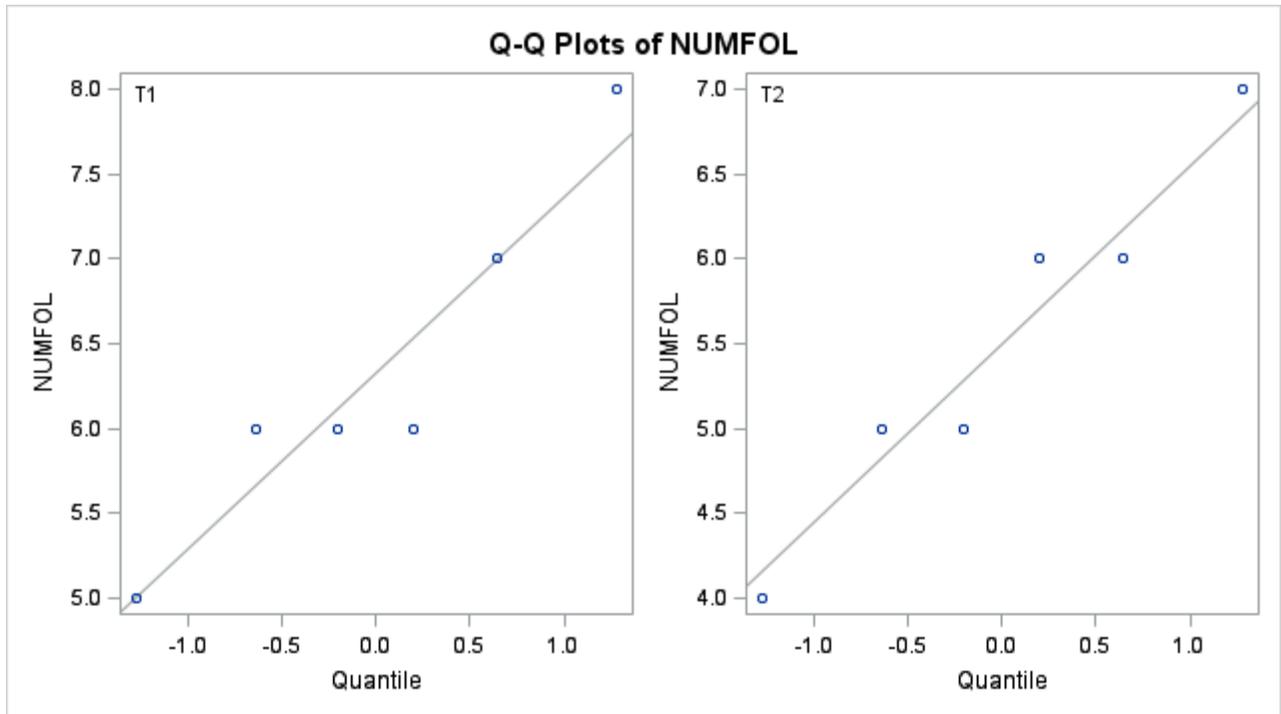
TRAT	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev	95% CL Std Dev
T1		6.3333	5.2495 7.4172	1.0328	0.6447 2.5330
T2		5.5000	4.3993 6.6007	1.0488	0.6547 2.5723
Diff (1-2)	Pooled	0.8333	-0.5056 2.1723	1.0408	0.7272 1.8266
Diff (1-2)	Satterthwaite	0.8333	-0.5057 2.1723		

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	10	1.39	0.1957
Satterthwaite	Unequal	9.9976	1.39	0.1957

Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	5	5	1.03	0.9739





The SAS System

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	2	T1 T2
LADO	2	D I

Number of Observations Read **24**

Number of Observations Used **24**

The SAS System

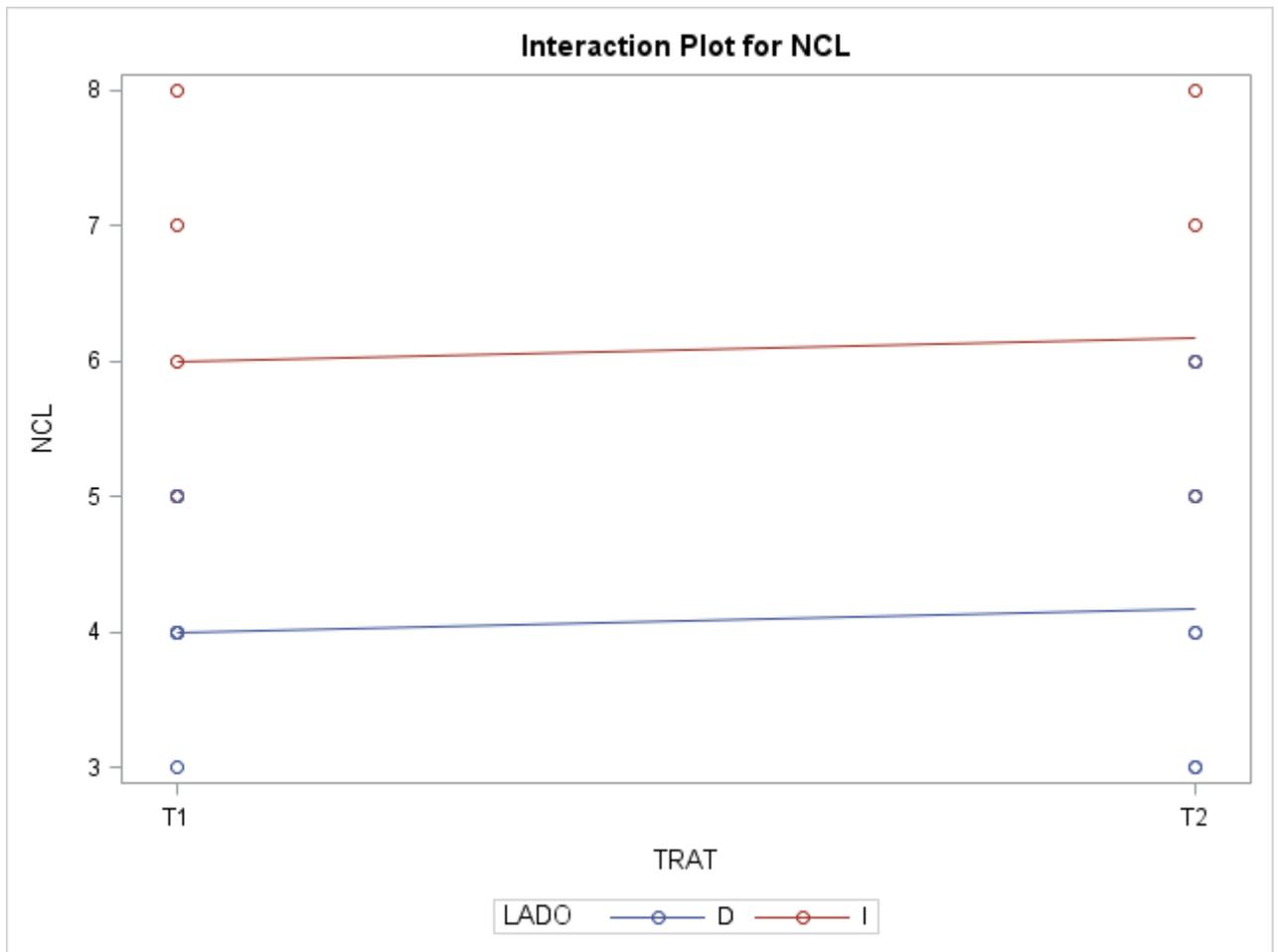
The GLM Procedure

Dependent Variable: **NÚMERO DE CUERPOS LÚTEOS**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	24.16666667	8.05555556	6.81	0.0024
Error	20	23.66666667	1.18333333		
Corrected Total	23	47.83333333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NCL Mean
0.505226	21.39957	1.087811	5.083333

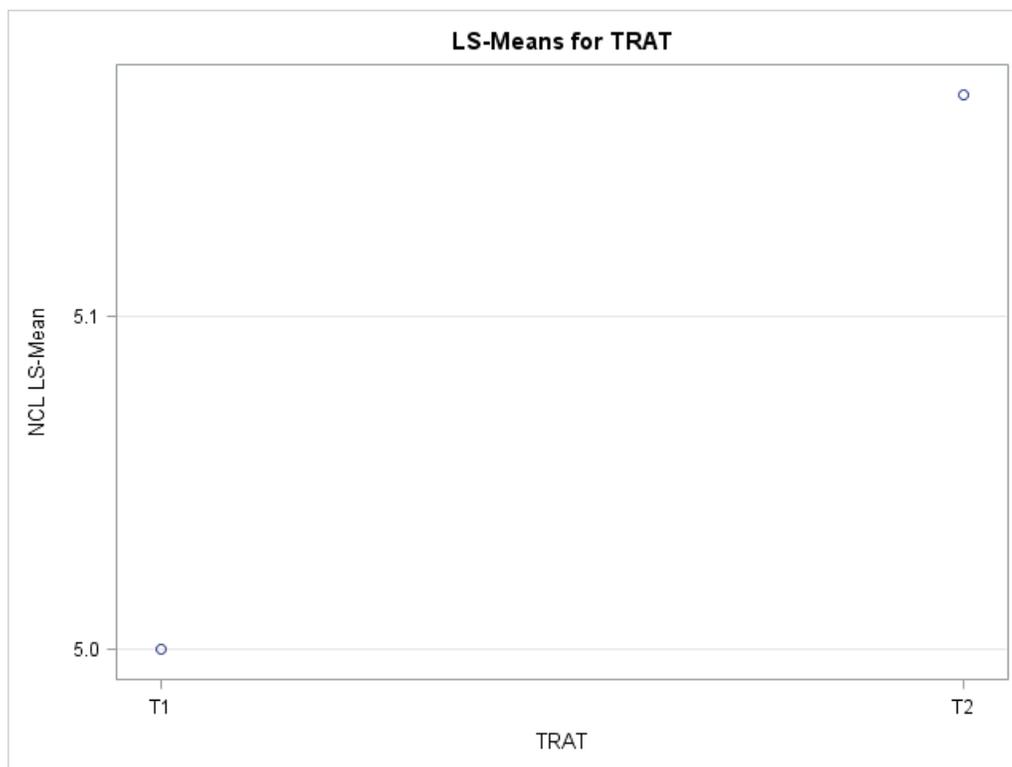
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	0.16666667	0.16666667	0.14	0.7114
LADO	1	24.00000000	24.00000000	20.28	0.0002
TRAT*LADO	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000

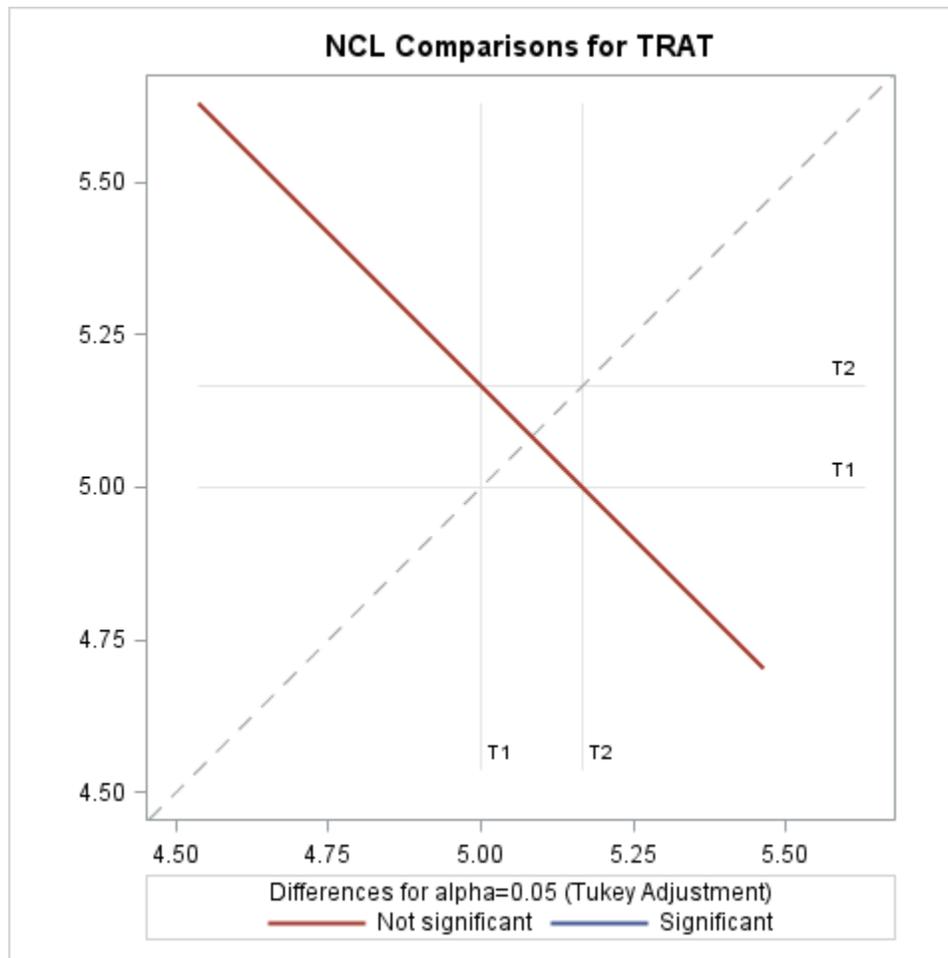


The SAS System

The GLM Procedure
Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

TRAT	NCL LSMEAN	H0:LSMean1=LSMean2
		Pr > t
T1	5.00000000	0.7114
T2	5.16666667	





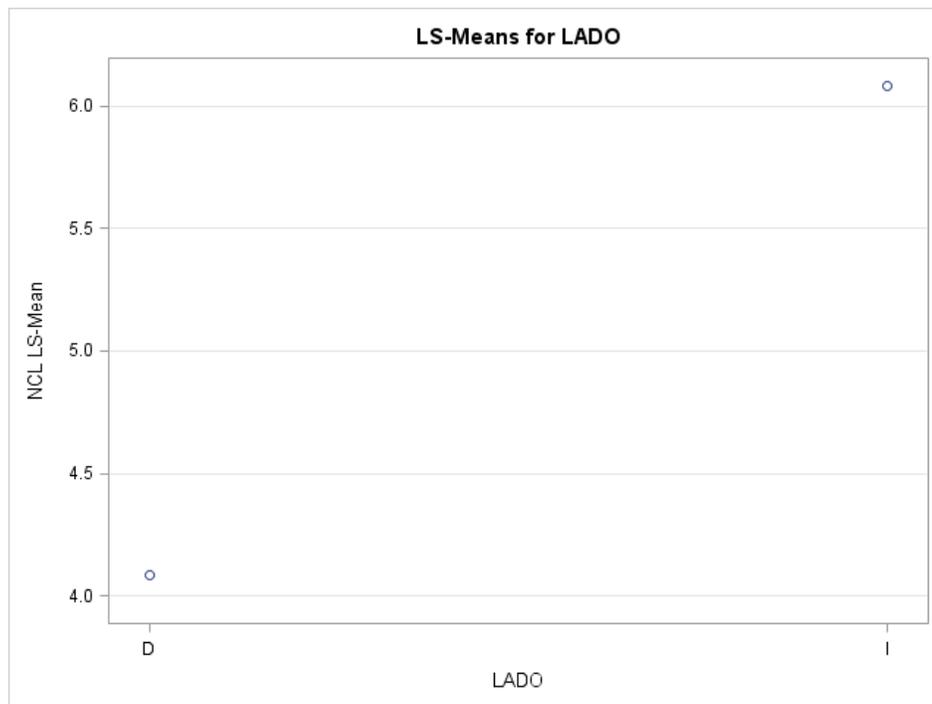
The SAS System

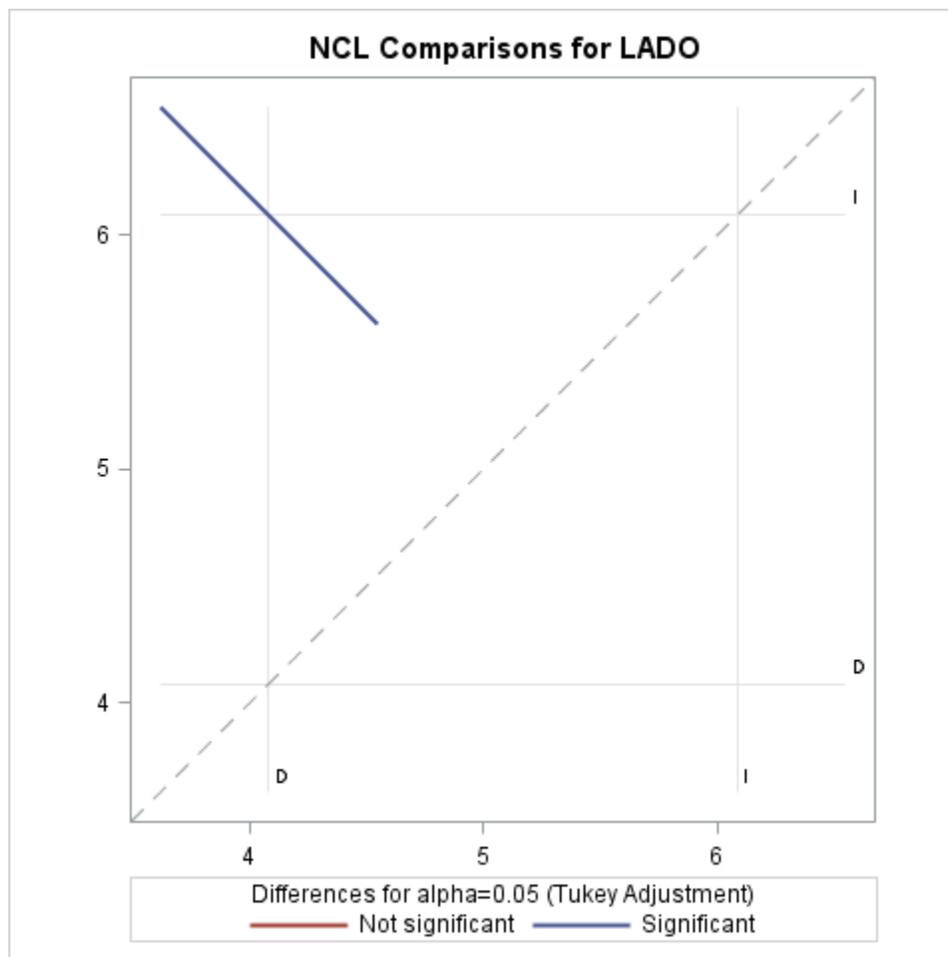
The GLM Procedure
Least Squares Means
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

LADO	NCL LSMEAN	H0:LSMean1=LSMean2
------	------------	--------------------

		Pr > t
D	4.08333333	0.0002

I	6.08333333
---	------------





TRATAMIENTO POR CALIDAD DE EMBRIONES

Tratamiento*Calidad tabulación cruzada								
		Calidad					Total	
		B	E	I	M	R		
Tratamiento	T1	Recuento	10	8	3	3	4	28
		% dentro de Tratamiento	35,7%	28,6%	10,7%	10,7%	14,3%	100,0%

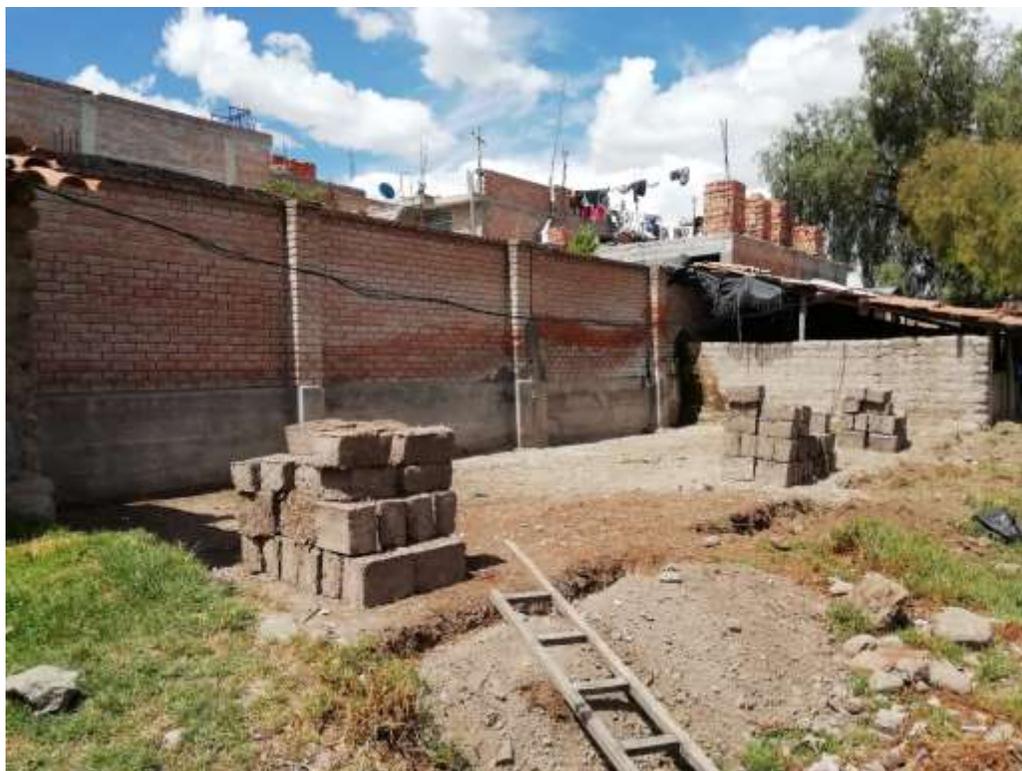
	T2	Recuento	8	7	2	0	4	21
		% dentro de Tratamiento	38,1%	33,3%	9,5%	0,0%	19,0%	100,0%
Total		Recuento	18	15	5	3	8	49
		% dentro de Tratamiento	36,7%	30,6%	10,2%	6,1%	16,3%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	2,541 ^a	4	,637
Razón de verosimilitud	3,646	4	,456
N de casos válidos	49		

a. 6 casillas (60,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,29.

Anexo N° 05. GALERÍA FOTOGRÁFICA



Fotografía 1. Construcción de corrales



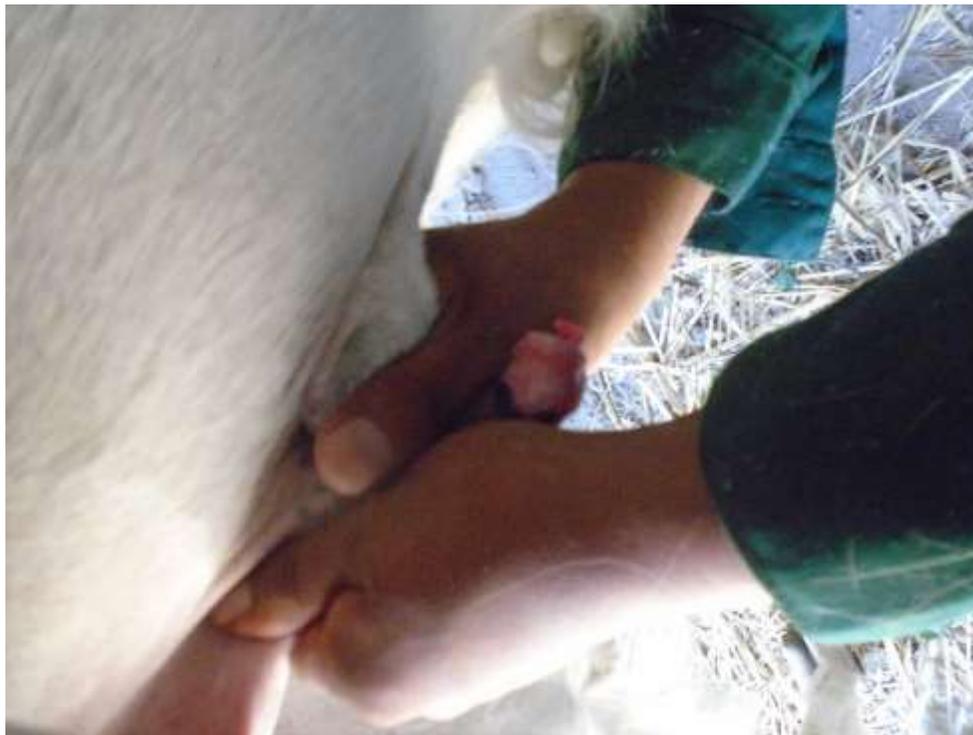
Fotografía 2. Instalación de cobertizos



Fotografía 3. Preparación de terreno para cultivo de forraje



Fotografía 4. Siembra de forraje



Fotografía 5. Evaluación de reproductores



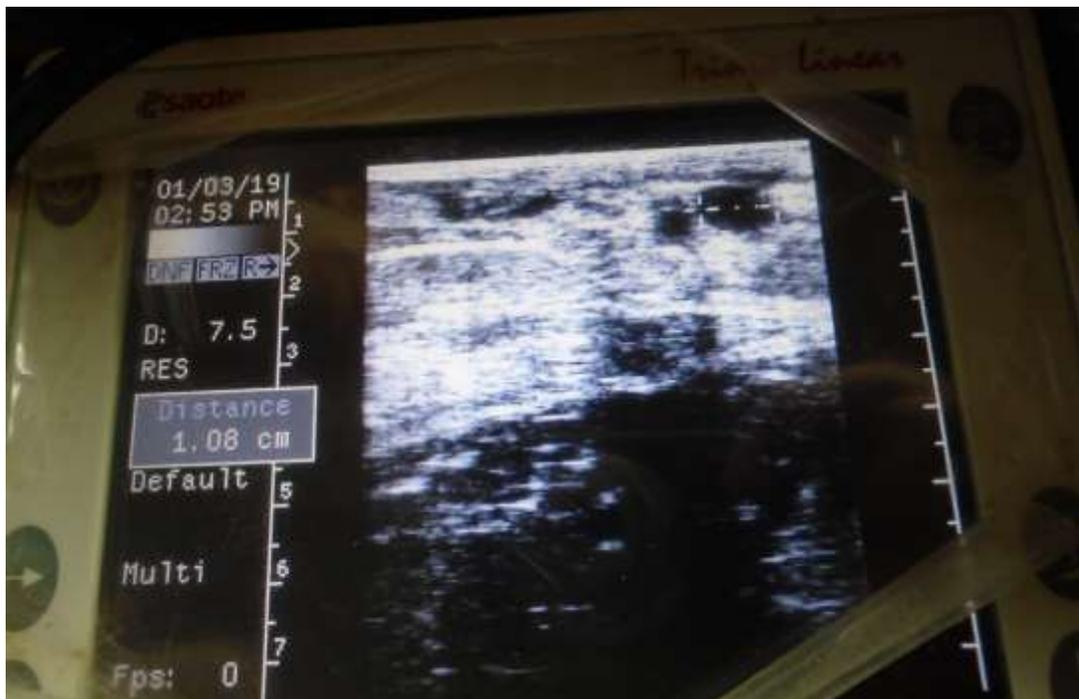
Fotografía 6. Llamas donadoras de embriones



Fotografía 7. Evaluación ecográfica de donadoras



Fotografía 8. Evaluación de donadoras superovuladas



Fotografía 9. Evaluación de estructuras ováricas



Fotografía 10. Hormona para inducir la ovulación-GnRH



Fotografía 11. Hormona eCG para inducir la superovulación



Fotografía 12. Materiales para la colección de embriones



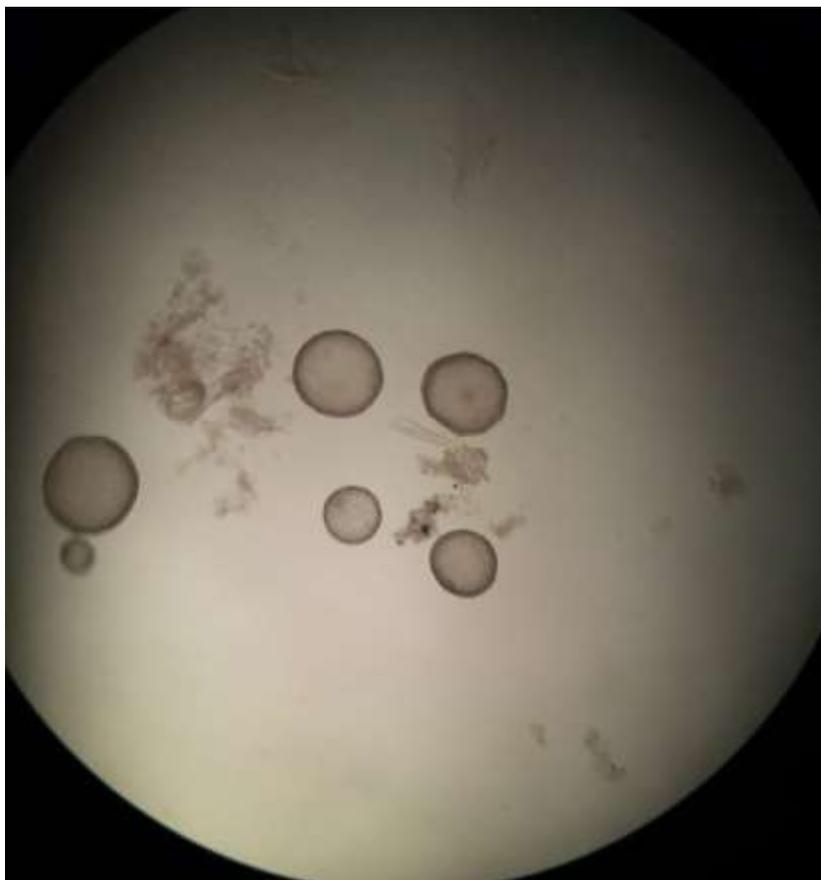
Fotografía 13. Introducción del dilatador cervical



Fotografía 14. Colección de embriones a través de lavado con PBS



Fotografía 15. Placas Petri con embriones



Fotografía 16. Embriones obtenidos por proceso de superovulacion