



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU
EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista.

Autor:

Johnny Salvador Ushiña Alcocer

Tutor:

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg.

Latacunga – Ecuador

Febrero 2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **JOHNNY SALVADOR USHIÑA ALCOCER** declaro ser autor del presente proyecto de investigación, “**APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS**”, siendo el Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg. tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, es de mi exclusiva responsabilidad.



Johnny Salvador Ushiña Alcocer

C.I. 171796174-0

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de **JOHNNY SALVADOR USHIÑA ALCOCER**, identificado con C.C. N°. **177961740** de estado civil soltero y con domicilio en la parroquia Píntag a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **EL CESIONARIO** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES:

CLÁUSULA PRIMERA. - EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **Proyecto de Investigación** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. Octubre 2011 / Febrero 2019

Aprobación HCA. / Febrero 2019

Tutor. Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg.

Tema: “APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS”

CLÁUSULA SEGUNDA. - EL CESIONARIO es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **EL CESIONARIO** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **EL CESIONARIO** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **EL CESIONARIO** no se halla obligado a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. Por medio del presente contrato, se cede en favor de **EL CESIONARIO** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. –EL CESIONARIO podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

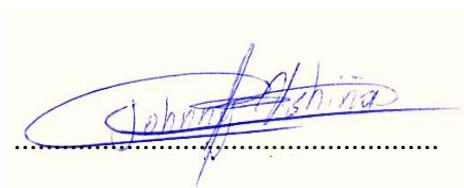
CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 20 días del mes de febrero del 2019.



Sr. Johnny Salvador Ushiña Alcocer

EL CEDENTE

.....

Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título:

“APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS”, de JOHNNY SALVADOR USHIÑA ALCOCER, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, Febrero del 2019

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Luis Alonso Chicaiza Sánchez', is written over a horizontal dotted line.

Tutor

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg.

C.I. 050229598-3

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Medicina Veterinaria; por cuanto, el postulante **JOHNNY SALVADOR USHIÑA ALCOCER** con el título de Proyecto de Investigación: “**APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS**” han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, Febrero del 2019

Para constancia firman:



Lector 1 (Presidente)
ING. Manuel María Fiallos.

CC: 180152265-5



Lector 2 (Secretario)
MVZ. Juan Eduardo Sambache Tayupanta Mg.

CC: 172179675-1



Lector 3 (Opositor)
ING. Lucia Monserrath Silva Deley

CC: 060293367-3

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios por su grandeza, porque me ha dado lo más importante que es la vida y salud a pesar de sentirme derrotado en ocasiones me ha cubierto con su manto celestial y me he puesto de pie para llegar a mi meta.

A mis padres porque de ellos he aprendido lo que es trabajo y a pesar de mis caídas siempre me han apoyado por sus consejos, sacrificio y amor incondicional son los mejores padres que Dios me ha dado.

A mis hermanos por su apoyo por acolitarme en mis locuras y como no en toda la etapa hasta completar la meta que nos hemos propuesto.

A mi novia, mujer que es lo mejor que Dios me puso en el camino gracias por tus palabras de aliento por tus regaños que fueron el motor para culminar nuestra meta.

Agradezco a mis maestros que con su paciencia nos supieron brindar sus conocimientos sus experiencias, y a todos quienes de una u otra forma estuvieron ahí con palabras de aliento.

Johnny Ushiña

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a mis padres Guillermo Ushiña y Esperanza Alcocer, a mis hermanos Santiago, Vinicio, Sthalin, Ricardo y Andrea, a mi compañera de vida quien es ahora Paulina Sangucho, y a todos quienes aportaron con palabras de aliento para cumplir esta meta.

Johnny Ushiña

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “Aplicación de dos protocolos de superovulación y su efecto en la calidad de embriones de alpacas”

Autor: Johnny Salvador Ushiña Alcocer

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Centro Experimental Salache (CEASA) de la Universidad Técnica de Cotopaxi, cuyo objetivo fue evaluar la aplicación de dos protocolos sobre la respuesta superovulatoria (eCG) y su impacto en la respuesta ovárica, las estructuras ováricas y calidad embrionaria. Se seleccionaron tres hembras las cuales fueron distribuidas una en el protocolo N° 1 y protocolo N° 2, considerando la condición corporal, la edad y por su puesto las características fenotípicas de cada hembra. Estas hembras fueron sometidas a dos protocolos de superovulación en los cuales se utilizaron las siguientes hormonas: eCG (NOVORMON), GnRH (CONCEPTAL) y prostaglandina (ESTRUMATE), existiendo variaciones en el protocolo N° 1 en donde se aplicó una sola dosis de Novormon (1200 UI) al día 1 mientras que en el protocolo N° 2 se aplicaron dos dosis de Novormon al día 1 (800 UI) y al día 3 (400 UI) respectivamente, siete días después se procedió a realizar el chequeo ginecológico y posterior al lavado de embriones. Dentro de los resultados se obtuvieron una gran respuesta ovárica en relación al número de folículos y cuerpos lúteos post aplicación de eCG la cantidad de embriones no se logró evaluar debido a que no existió fecundación. Para el análisis de los datos se utilizó una estadística analítica – descriptiva. Para concluir al momento de evaluar la repuesta superovulatoria se determina que existió una gran cantidad de estructuras a nivel del ovario (folículos, cuerpos lúteos) con un aumento de tamaño de las mismas por lo que se demuestra una respuesta positiva a la aplicación de la eCG. La valoración en la calidad de embriones no se consideró debido a que los protocolos utilizados no tienen un efecto sobre la fecundación.

Palabras claves: Superovulación, ovarios, folículos, embriones.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

THEME: "Application of two protocols of superovulation and their effect on the quality of alpacas embryos."

Author: Johnny Salvador Ushiña Alcocer

ABSTRACT

This research was carried out in the Salache Experimental Center (CEASA) of the Technical University of Cotopaxi, whose objective was to evaluate the application of two protocols on the superovulation response (eCG) and their impact on the ovarian response, ovarian structures, and embryo quality. Three females were selected, one of them was distributed in protocol No. 1 and the two ones in protocol No. 2, considering the body condition, age and, of course, the phenotypic characteristics of each female.

These females were subjected to two protocols of superovulation in which the following hormones were used: eCG (NOVORMON), GnRH (CONCEPTAL) and prostaglandin (ESTRUMATE), there were variations in protocol No. 1 where a single dose of Novormon was applied (1200 IU) on day 1 while in protocol N ° 2 two doses of Novormon were applied on day 1 (800 IU) and day 3 (400 IU) respectively; seven days later the researcher proceeded to perform the gynecological check and after that the washing of embryos. Within the results, a great ovarian response was obtained concerning the number of follicles and corpora lutea after application of eCG the number of embryos could not be evaluated because there was no fertilization. For the analysis of the data, an analytical - descriptive statistic was used.

To conclude at the time of evaluating the superovulation response, it was determined that there was a large number of structures at the level of the ovary (follicles, corpora lutea) with an increase in their size which demonstrates a positive response to the application of the eCG. Embryo quality assessment was not considered because the protocols used do not affect fertilization.

Keywords: Superovulation, ovaries, follicles, embryos.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

Declaración	de	II
autoría.....		
Contrato de cesión no exclusiva de derechos de autor.....		III
Aval del tutor de proyecto de investigación.....		VI
Aprobación del tribunal de titulación.....		VII
Agradecimiento.....		VIII
Dedicatoria.....		IX
Resumen.....		X
Abstract.....		XI

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1.	INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2.	DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3.	JUSTIFICACION DEL PROYECTO.....	3
4.	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	4
4.1	Beneficiarios directos.....	4
4.2	Beneficiarios indirectos.....	4
5.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
6.	OBJETIVOS	5
6.1	Objetivo general.....	5
6.2	Objetivos específicos.....	5
7.	FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	6
7.1	ANTECEDENTES.....	6
7.2	ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA ALPACA HEMBRA.....	7
7.2.1	Vulva	7
7.2.2	Vagina	7
7.2.3	Cérvix	7
7.2.4	Útero	7
7.2.5	Oviductos.....	8
7.2.6	Ovarios	8
7.2.7	Pubertad.....	8
7.2.8	Gestación.....	8
7.3	SISTEMA ENDÓCRINO.....	9
7.3.1	Control Neuroendocrino de la Foliculogénesis.....	9
7.3.2	Dinámica folicular en camélidos sudamericanos.....	9
7.3.3	Factores que influyen en la dinámica folicular.....	11
7.3.3.1	Efecto de la temporada.....	11
7.3.3.2	Efecto de la edad.....	11
7.3.3.3	Efecto de la lactancia.....	12
7.3.4	Ovulación.....	12

7.3.5	Cuerpo lúteo	13
7.3.5.1	Cuerpo lúteo en alpacas	13
7.4	PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SINCRONIZACIÓN	13
7.4.1	Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH).....	14
7.4.1.1	Funciones.....	14
7.4.1.2	Vida media.....	14
7.4.2	Hormona gonadotropina coriónica equina (eCG).....	15
7.4.3	Prostaglandinas.....	16
7.4.3.1	Aspectos fisiológicos	16
7.4.3.2	Usos en otras especies.....	17
7.4.4	Protocolos de superovulación	18
7.5	PRINCIPIOS GENERALES SOBRE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.....	19
7.5.1	Selección de donadoras.....	19
7.5.2	Selección de receptoras.....	20
7.5.3	Estimulación ovárica	21
7.5.4	Fecundación de hembras superestimuladas.....	21
7.5.5	Sincronización de hembras receptoras.....	21
7.5.6	Colección de embriones.....	21
7.5.7	Búsqueda de embriones.....	22
7.5.8	Clasificación de embriones.....	22
8.	HIPÓTESIS	23
8.1	Hipótesis nula	23
8.2	Hipótesis alternativa	23
9.	METODOLOGÍA	23
9.1	Ubicación de la investigación	23
9.2	Límites	23
9.3	Preselección de animales en estudio	24
9.4	Selección de los animales	24
9.5	Sincronización de los animales	25
9.6	Protocolos de estimulación utilizados en la investigación	25
9.6.1	Protocolo 1 Aplicación de dosis única de 1200 UI de eCG.....	25
9.6.2	Protocolo 2 Aplicación de doble dosis de 800 UI y 400 UI de eCG.....	26

9.6.3	Valoración Folicular y embrionaria previo al chequeo ginecológico.....	27
9.7	Lavado de embriones	27
9.8	Metodología empleada	28
9.8.1	Método descriptivo	28
9.9	VARIABLES EVALUADAS DEPENDIENTES.....	28
9.9.1	Cantidad de folículos	28
9.9.2	Cantidad de cuerpos lúteos	28
9.9.3	Cantidad de embriones.....	29
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS DATOS.....	29
10.1	Cantidad de folículos encontrados en alpacas	29
10.2	Cantidad de cuerpos lúteos en alpacas	30
10.3	Cantidad de embriones colectados en alpacas	31
11.	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO	32
12.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
12.1	Conclusiones.....	33
12.2	Recomendaciones	33
13.	BIBLIOGRAFÍA.....	35
14.	ANEXOS	40

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Preselección de los animales.....	24
Tabla N° 2	Folículos encontrados en alpacas	29
Tabla N° 3	Cuerpos lúteos obtenidos en alpaca.....	30
Tabla N° 4	Embriones colectados en alpacas.....	31
Tabla N°5	Presupuesto utilizado en la investigación	32

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1	Folículos encontrados en alpacas	29
Gráfico N° 2	Cuerpos lúteos obtenidos en alpacas	30

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Anatomía del aparato reproductor de la alpaca hembra.....	9
Figura N° 2	Dinámica folicular en diferentes estados reproductivos.....	11
Figura N° 3	Dinámica folicular.....	12
Figura N° 4	Hormona liberadora de gonadotropinas.....	15
Figura N° 5	Colección de embriones.....	22
Figura N°6	Clasificación de embriones.....	22
Figura N°7	Protocolo N° 1.....	25
Figura N°8	Protocolo N° 2.....	26

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS”

Fecha de inicio:

ABRIL 2018

Fecha de finalización:

FEBRERO 2019

Lugar de ejecución:

Provincia de Cotopaxi, Cantón Latacunga, Centro de Experimentación Salache

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia:

Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Conservación de Recursos Zoo genéticos Locales de la Zona 3 del Ecuador, incrementando su valor de uso y aporte a la soberanía alimentaria.

Equipo de Trabajo:

Johnny Salvador Ushiña Alcocer (anexo 1)

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg. (anexo 2)

Área de Conocimiento:

Agricultura

Sub área:

62 Agricultura, Silvicultura y Pesca.

64 Veterinaria

Línea de investigación:

Desarrollo y Seguridad Alimentaria.

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Fisiología Animal y Reproducción.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El actual proyecto se encuentra enfocado en la población de camélidos sudamericanos, en el país se cría en rebaños pequeños de composición heterogénea, que incluyen animales de diferentes colores y sus cruces. Es decir que las condiciones genéticas se encuentran sub utilizados, su potencial productivo y reproductivo que podrían ser mejorados mediante la selección de machos y hembras se encuentra muy limitado debido al bajo manejo existente de esta especie en el país.

Dentro de estas limitaciones varias instituciones como lo es la Universidad Técnica de Cotopaxi están trabajando en la formación de mejoras genéticas de alpacas, y con base en estos animales preseleccionados se busca avanzar en el mejoramiento genético mediante selección de los animales que reúnen características deseables desde el punto de vista productivo y reproductivo.

En cuanto a los objetivos que nos hemos planteado es desarrollar técnicas reproductivas (protocolos de súper ovulación) que faciliten la difusión masiva de dichos animales mejorados. En la actualidad, el número promedio de crías ($n=6$) que una hembra alpaca o llama puede producir durante toda su vida reproductiva es muy limitado para difundir material genético deseado.

Por lo tanto las técnicas de superovulación son una posibilidad para superar este tipo de limitaciones que nos permitirían, reducir el intervalo generacional mediante el uso de animales jóvenes y así aprovechar el máximo potencial de cada uno de estos.

3. JUSTIFICACIÓN

La población mundial de camélidos domésticos, alpacas y llamas, y de camélidos silvestres, vicuñas y guanacos, se distribuye entre Perú, Bolivia y en menor grado Argentina y Chile. Sin embargo, países desarrollados como Australia, Nueva Zelanda, EE.UU., Inglaterra y otros de la comunidad Europea han manifestado un creciente interés por la crianza de camélidos domésticos, promoviendo la producción de fibra de alpaca como una alternativa a la producción de lana de ovinos. ⁽¹⁵⁾

La aplicación de biotecnologías reproductivas, si bien ha contribuido al mejoramiento genético de especies productivas (vacunos, ovinos, caprinos, etc.), puede ser utilizada como una herramienta para la conservación de especies en peligro de extinción. En camélidos domésticos, el desarrollo y aplicación de estas biotecnologías pueden ser herramientas alternativas, factibles de ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético y que permitan mejorar la calidad de fibra de una especie doméstica como la alpaca y posiblemente llama. ⁽¹⁸⁾

En particular el proyecto “Aplicación de protocolos de superovulación y su efecto en la calidad de embriones de alpacas” se realiza con el propósito de disponer de alternativas tecnológicas que contribuyan a servir como herramientas en los programas de mejoramiento genético en los camélidos domésticos y para la conservación e incremento de la población de camélidos silvestres, además, de incentivar a las entidades gubernamentales para desarrollar la crianza de estos animales obteniendo mayor calidad en los mismos, incrementando así la economía de un sin número de familias y el bienestar de la población en general. ⁽²⁰⁾

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1 Directos

- Productores y sus familias, los que participarán en el proceso de aplicación de protocolos de superovulación en alpacas de sus poblaciones.
- El investigador principal del proyecto, requisito previo a la obtención del Título de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

4.2 Indirectos

- Estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria, elementos incluidos en la malla curricular. Fisiología I, Fisiología II, Genética y Mejoramiento Genético, Reproducción I, Reproducción II, Biotecnología de la Reproducción.
- Otros pobladores de la Provincia de Cotopaxi vinculados a la producción de los animales en estudio.

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La mayoría de la población de camélidos sudamericanos en el país se cría en rebaños pequeños de composición heterogénea, que incluyen animales de diferentes colores y de razas y sus cruces. En estas condiciones los diferentes recursos genéticos se encuentran sub utilizados, el potencial productivo que podría ser mejorado mediante selección se ve muy limitado. ⁽¹⁾

La aplicación de biotecnologías reproductivas ha contribuido al progreso genético obtenido en especies domesticas como los bovinos de leche, contribuyendo a obtener los actuales niveles de producción láctea. En camélidos, la posibilidad de mejora genética de los rebaños de productores mediante la prueba de progenie, con la formación de núcleos de reproductores, requiere años de trabajo y está limitada, entre otros factores, por el largo intervalo generacional y la capacidad fisiológica de una hembra que solo puede tener hasta 4 crías, durante toda su vida reproductiva. ⁽²⁾

Los esfuerzos para el desarrollo y aplicación de biotecnologías reproductivas no siempre han sido desarrollados en forma programada y continua, sino como esfuerzos individuales y aislados e incluso algunos investigadores consideran que no es posible desarrollar y aplicar estas tecnologías por los pobres resultados obtenidos. Sin embargo, el desarrollo de estas biotecnologías ha requerido la mejora del conocimiento sobre la fisiología reproductiva de esta especie. ⁽³⁾

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- Evaluar la aplicación de dos protocolos sobre la respuesta superovulatoria (eCG) y su impacto en la respuesta ovárica, las estructuras ováricas y calidad embrionaria.

6.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad ovárica post aplicación de los protocolos de superovulación a dosis única de eCG 1200 UI (Novormon) y doble dosis de eCG 800 UI y 400 UI (Novormon).
- Determinar la respuesta ovárica en relación al número de folículos y cuerpos lúteos post aplicación de eCG.
- Evaluar el efecto sobre la fecundación de alpacas de acuerdo a los protocolos aplicados.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 ANTECEDENTES

Los ensayos sobre transferencia de embriones en camélidos a nivel mundial han sido realizados en base a los protocolos que se utilizan en otras especies y la recuperación de embriones ha sido realizado mediante técnicas quirúrgicas, con las consiguientes reacciones post operatorias en los animales. ⁽⁵⁾

En camélidos, el primer reporte sobre transferencia de embriones fue realizado por Sumar et al. (1974), posteriormente otros reportes confirman la factibilidad de la aplicación de la técnica

pero con una variabilidad en la respuesta ovárica a los protocolos de superestimulación, así como la respuesta en número y calidad de embriones recuperados. ⁽⁶⁾

Los protocolos de superovulación en diferentes especies domésticas incluyen el uso de tratamientos hormonales a base de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG), Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Menopáusica Humana (hMG). ⁽⁷⁾

En llamas se ha determinado que el número de folículos ≥ 6 mm sometidas a un protocolo de estimulación ovárica fue de 17.9 ± 2.2 al tratamiento con FSH y 17.7 ± 2.2 folículos con eCG. Estos resultados permitieron obtener evidencia que existe una buena respuesta ovárica a la acción de ambas hormonas, sin diferencias entre ambas. Alpacas y llamas sometidas a un protocolo hormonal de estimulación ovárica con eCG, iniciando el tratamiento durante la emergencia de las ondas de crecimiento folicular, permite obtener el desarrollo de 12.8 ± 1.4 folículos y 8.1 ± 1.0 cuerpos Lúteo en llamas y 7.5 ± 1.2 folículos y 5.9 ± 1.3 cuerpos lúteo en alpacas. ⁽⁸⁾

La técnica de recuperación no quirúrgica utilizada en camélidos es similar a la reportada en vacunos, mediante la inclusión de una solución de Dulbecco PBS y los embriones recuperados observados y evaluados en un estereoscopio. ⁽⁹⁾

En alpacas, se recuperaron 1.6 ± 0.3 , respuesta diferente de la observada en llamas, con una tasa de recuperación del 23.6 % de embriones posibles, con una tasa de preñez del 30.0 %. Igualmente, se ha reportado la recuperación de 37 embriones de 47 hembras no estimuladas (79 %), de las cuales resultaron en un 41 % de preñez al ser transferidas a receptoras. ⁽¹⁰⁾

7.2 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA ALPACA HEMBRA

7.2.1 Vulva

El órgano femenino visible es la vulva, la cual es una apertura orientada verticalmente, de 2,5 a 3,0 cm de longitud. Tiene labios externos bien definidos, que en la parte inferior terminan con una protuberancia. No se observan cambios marcados en el aspecto de la vulva en relación a los ciclos foliculares. Se le puede notar tumefacta y algo hinchada en hembras muy próximas al parto. ⁽¹¹⁾

7.2.2 Vagina

Es un órgano de forma tubular, a través del cual penetra el pene del macho durante la cópula y sale la cría en el momento del parto. Normalmente la vagina es de 12 a 18 cm de largo y 2 a 4 cm de diámetro. Esta se dilata para permitir la salida de la cría, pero los partos difíciles a menudo provocan lesiones en la vagina. ⁽¹²⁾

7.2.3 Cérvix

El cérvix puede describirse como una espiral apretada (con dos o tres vueltas) de tejido muscular. El canal cervical (que conecta la vagina con el útero) es sinuoso y de unos 2 a 4 cm de longitud. En hembras no preñadas y receptivas al macho, el cérvix se presenta penetrable, permitiendo así la intromisión del pene para la deposición de semen en el útero. ⁽¹³⁾

7.2.4 Útero

El útero de la alpaca y llama es bicornes con forma de Y, se divide en cuernos, cuerpo y cérvix. Externamente, desde el punto de bifurcación a la extremidad distal, el cuerno izquierdo mide 7,9 cm y el derecho 7,4 cm. El cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho desde la etapa fetal y prepuberal y esta diferencia se acentúa en las hembras multíparas como consecuencia de que el 98% de las gestaciones tienen lugar en el cuerno izquierdo. ⁽¹⁴⁾

7.2.5 Oviductos

Son conductos delgados y tortuosos, de 15 a 20 cm de longitud, que comunican el ovario con el útero, se encuentran suspendidos por el mesosálpinx. Cada oviducto se une a un cuerno uterino a través de un estrecho orificio que forma una papila 5 protuberante. Esta estructura, denominada istmo, actúa como un esfínter para evitar movimientos retrógrados de los fluidos contenidos en el útero. ⁽¹⁵⁾

7.2.6 Ovarios

Estos son de forma globular (1.3-1.9 x 0.9-1.3 x 0.9-1.3 cm). El peso aproximado es de 1.9 a 2.4 gramos y su tamaño varía de acuerdo a la edad y a las estructuras presentes en los ovarios. En las hembras nulíparas, son aplanadas lateralmente y tienen una superficie irregular debido a la presencia de muchos folículos pequeños. ⁽¹⁶⁾

7.2.7 Pubertad

El comienzo de la pubertad en los camélidos sudamericanos es alrededor de 12-13 meses de edad, mientras en el macho pareciera estar determinada alrededor de los 2 años de edad. La presentación de la pubertad está afectada principalmente por el estado nutricional, alcanzándola con un 60% del peso adulto. ⁽¹⁷⁾

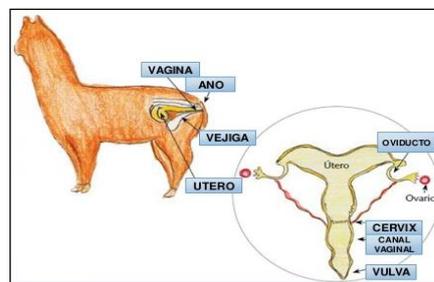
7.2.8 Gestación

El período de gestación en camélidos sudamericanos es aproximadamente de quince y medio meses todas las especies. En las especies silvestres, vicuña y guanaco, el período de gestación fue estimado en 11 meses. Los nacimientos múltiples no son comunes, no obstante las gestaciones de mellizos en el primer mes de gestación a menudo suelen ocurrir en la alpaca. ⁽¹²⁾

Durante los primeros dos meses de gestación la mortalidad embrionaria en llamas es más alta que en otras especies domésticas. La presencia del cuerpo lúteo es necesaria para el mantenimiento de la preñez y el aborto ocurre si el cuerpo lúteo es removido hasta los 10 meses de gestación. ⁽¹⁵⁾

El diagnóstico de gestación puede ser realizado por medio de ultrasonografía tan pronto como 9 días (alpacas) y 7 días (llamas) después del apareamiento y entre 9 a 30 días de gestación a través de la determinación de progesterona plasmática, siendo el nivel mínimo considerado de 1,25 ng/ml para el diagnóstico positivo. ⁽¹⁴⁾

FIGURA N°1: Anatomía del aparato reproductor de la alpaca hembra



Fuente: ⁽¹²⁾

7.3 SISTEMA ENDÓCRINO

7.3.1 Control Neuroendocrino de la Foliculogénesis

En los mamíferos, la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) es secretada en el hipotálamo-hipofisario al sistema de portal de una manera pulsátil para estimular la liberación episódica de las gonadotropinas en la circulación sistémica. GnRH aún no se ha medido en los camélidos debido a las complejidades de muestreo de la hormona. ⁽¹⁷⁾

El mecanismo primario involucrado en la liberación preovulatoria de GnRH comprende la activación de neuronas noradrenérgicas del cerebro medio y del encéfalo en respuesta a las señales de las neuronas somatosensoriales, estas señales son generadas por la introducción del órgano copulatorio del macho durante la monta. ⁽¹⁸⁾

7.3.2 Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos

La hembra alpaca y llama no tienen ciclos estrales como otras especies domésticas. Cuando las hembras no son expuestas al macho, presentan largos períodos de receptividad y cortos períodos de no receptividad (48-72 hs); esto está relacionado con los niveles plasmáticos estrógenicos, reflejando las ondas sucesivas de maduración y atresia de los folículos ováricos. Por otro lado, la tasa de reemplazo de folículos dominantes que prevalecen por largos períodos, es probable que asegure niveles ininterrumpidos de estrógenos que facilite una casi continua receptividad al macho. ⁽⁴³⁾

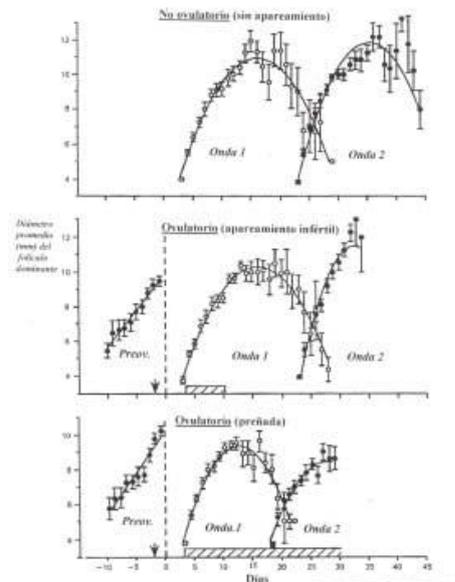
El desarrollo de la onda folicular se inicia con el agrupamiento de folículos (reclutamiento) precedido de la emergencia de un folículo. Cada onda folicular consiste en un grupo de folículos antrales reclutados por un pico de FSH, en donde los folículos de 3mm que son observados primero tienen un crecimiento similar, hasta un momento en que uno se vuelve dominante y continúa creciendo, mientras que los demás sufren atresia. El folículo dominante tiene tres fases de desarrollo: crecimiento (incrementa su diámetro), estática (cambios mínimos en el diámetro) y regresión (disminuye su diámetro). ⁽¹⁹⁾

La FSH tiene una función importante en el inicio de la formación del antro folicular. Esta gonadotropina (FSH) estimula la mitosis de las células de la granulosa y la formación de líquido folicular, mientras que la LH actúa sobre las células de la teca para producir testosterona que pasa a la granulosa para transformarse en estradiol 17β . Además, la FSH induce la sensibilidad

de las células de la granulosa hacia la hormona luteinizante al incrementar el número de receptores para esta última. ⁽²⁰⁾

En alpacas se reporta un intervalo entre ondas de 12 a 15 días, se ha determinado que en llamas, el desarrollo de un subsecuente folículo de una nueva onda folicular, usualmente comienza en 2-3 días después del inicio de la regresión del folículo dominante de la onda anterior. La presencia de un folículo igual o mayor a 7 mm, determina la conducta de receptividad de la hembra llama y alpaca al macho, sugiriendo que la capacidad de ovular de alpacas y llamas ante un estímulo de la cópula, está determinado por el estado de desarrollo folicular, crecimiento o estático, al momento de la monta. ⁽²¹⁾

Figura N° 2: Dinámica folicular en diferentes estados reproductivos.



La flecha indica el día del apareamiento (Día-2) y la barra rayada indica los días de detección del cuerpo lúteo para los grupos ovulatorios.

7.3.3 Factores que influyen en la Dinámica Folicular

Los factores estudiados que pueden afectar la dinámica folicular en camélidos son la estacionalidad o temporada del año, la edad y el estado de lactación. ⁽²⁶⁾

7.3.3.1 Efecto de la Temporada

Alpacas hembras muestran períodos prolongados de receptividad sexual (hasta 36 días) con intervalos cortos de rechazo al macho. Los CSA no son estacionales y la actividad folicular

ovárica se produce durante todo el año. Sin embargo, las lluvias de temporada y por lo tanto la disponibilidad de buenos pastos, en los meses de verano en los Andes han llevado a la creación de un sistema de manejo de los servicios con macho durante una temporada. ⁽²²⁾

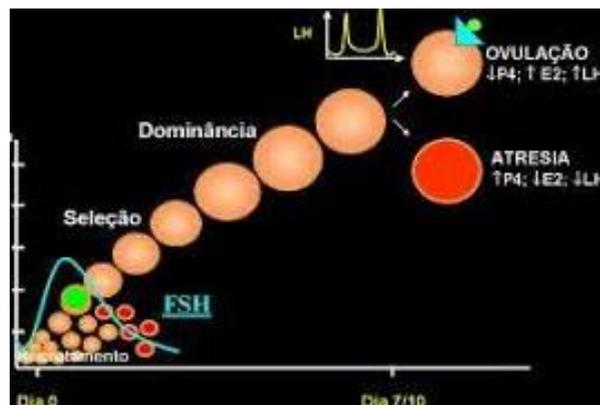
7.3.3.2 Efecto de la Edad

El efecto de la edad y la madurez sexual ha sido estudiado por Sumar. No se observó ninguna diferencia significativa en el patrón de receptividad o el tamaño folicular en el apareamiento entre primerizas y hembras adultas. Sin embargo, es importante señalar que la tasa de falla de la ovulación después de apareamiento fue significativamente mayor en hembras primerizas que en hembras adultas. ⁽²³⁾

7.3.3.3 Efecto de la lactancia

La lactancia afecta fuertemente la actividad folicular en alpacas que resulta en intervalos entre ondas foliculares cortos, reduce el diámetro máximo de los folículos dominantes, así como una mayor tasa de falla de la ovulación. En lactantes llamas, el intervalo es desde el apareamiento hasta la ovulación y la tasa de crecimiento de los folículos preovulatorios no se observa afectada por el estado de lactancia. ⁽⁴⁴⁾

Figura N° 3: Dinámica Folicular



Fuente ⁽³²⁾

7.3.4 Ovulación

Los camélidos sudamericanos son clasificados dentro de la categoría de animales conocidos como “ovuladores inducidos o reflejos. La ovulación ha sido descrita como un evento ocurrido como consecuencia de la cópula en la alpaca y en la llama. Los CS presentan ovulación refleja

o inducida por el apareamiento. Un único apareamiento por un macho intacto o vasectomizado es suficiente para inducir la ovulación, ocurriendo a los 1,8 días o a las $34,2 \pm 12,8$ hs después de la cópula. ⁽²⁰⁾

Hay un aumento en la hormona luteinizante (LH) 15 minutos después del comienzo de la cópula, seguido por un pico a las 2 hs y un retorno a niveles basales a las 72 hs. La ovulación en los camélidos sudamericanos es dependiente de la liberación de LH en respuesta a la cópula y es común que las hembras reciban más de un servicio natural en 24 hs. ⁽¹⁷⁾

Las ovulaciones ocurren con similar frecuencia en ambos ovarios en alpacas y la respuesta ovulatoria en llamas y alpacas varía dependiendo si el folículo está creciendo, maduro o en regresión. ⁽²⁰⁾

7.3.5 Cuerpo Lúteo

Producida la ovulación se da inicio a la organización estructural y funcional del cuerpo lúteo (CL) por acción de la LH. Las células tecales se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas, además se produce la hipertrofia y luteinización de las células de la granulosa dando lugar a las células luteales grandes; ambas células luteales son responsables de secretar progesterona (P4). ⁽¹⁷⁾

Al producirse la ovulación como consecuencia del estímulo coital, el folículo roto da lugar a la formación del cuerpo lúteo, independientemente de la fertilización del óvulo liberado. El cuerpo lúteo se forma por hiperplasia e hipertrofia de las células de la granulosa y por posible hiperplasia de las células de la teca interna. ⁽⁴⁴⁾

7.3.5.1 Cuerpo lúteo en alpacas

El cuerpo lúteo en la alpaca se desarrolla de manera rápida después de ocurrida la ovulación alcanzando su máximo tamaño y actividad secretora entre los días 8-9 post servicio. En ausencia de preñez, el cuerpo lúteo declina claramente en tamaño y actividad secretora para el día 12 completando su regresión hasta el día 18. Sin embargo, en hembras preñadas, el tamaño del cuerpo lúteo permanece casi inalterado después de alcanzar el máximo desarrollo, el cual ocurre después del día 8 post servicio para el mantenimiento de la preñez. ⁽²⁸⁾

7.4 PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN Y SINCRONIZACIÓN

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, siendo necesario la cópula para que tenga lugar la descarga de LH desencadenante de la ovulación. Por ello, en ausencia del estímulo desencadenante de la ovulación, se producen sucesivas oleadas de crecimiento folicular, maduración y regresión. ⁽²⁶⁾

Los tratamientos de súper estimulación ovárica se fundamentan en la administración de gonadotropinas (eCG o FSH) luego de sincronizar el crecimiento folicular durante una fase luteal natural (inducción de la ovulación) o una fase luteal artificial (mediante la administración exógena de progesterona). Para que los tratamientos hormonales de estimulación ovárica cumplan con los objetivos previstos, es necesario iniciarlos durante una fase luteal y en ausencia de un folículo dominante. ⁽²⁷⁾

El tratamiento con eCG es usualmente dado como una simple dosis por vía IM de 500-1500 UI. Altas dosis han sido relacionadas al desarrollo de quistes foliculares (2.000 UI) ⁽³⁹⁾

La FSH porcino es administrado por vía IM en un parámetro decreciente cada 12 horas por 4-5 días. FSH ovino también ha sido usado exitosamente para la inducción del crecimiento folicular en llamas usando un régimen de dosis decrecientes. ⁽⁴¹⁾

7.4.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

También conocida como hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), es una hormona peptídica responsable de la liberación de hormona estimulante del folículo (FSH) y de hormona luteinizante (LH) de la pituitaria anterior. La GnRH es sintetizada y liberada en las neuronas del hipotálamo. Se considera una neurohormona, es decir, una hormona producida en una célula neuronal y liberada en sus terminales neuronales. ⁽⁴²⁾

7.4.1.1 Funciones

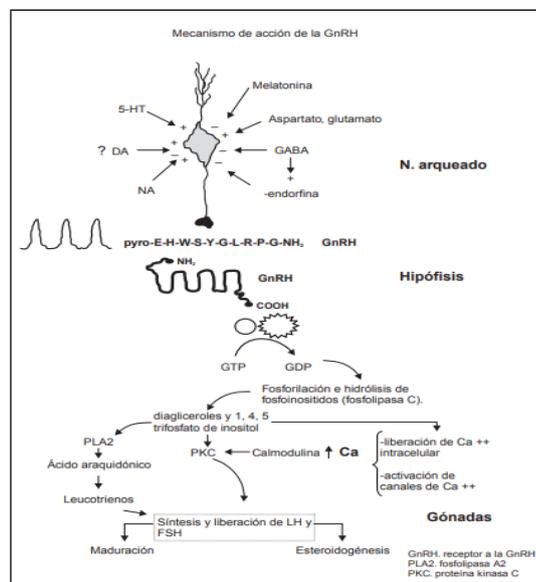
En la hipófisis, la GnRH estimula la síntesis y secreción de las gonadotropinas: la hormona folículo-estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estos procesos son controlados por el tamaño y frecuencia de los pulsos de GnRH, así como por la retroalimentación de andrógenos y estrógenos. La baja frecuencia de pulsos de GnRH conduce a la liberación de FSH, mientras que la alta frecuencia de pulsos de GnRH estimula la liberación de LH. ⁽²⁶⁾

La secreción de GnRH es pulsátil en todos los vertebrados, y es necesaria para una correcta función reproductora. Por lo tanto, una sola hormona, GNRH1, controla un proceso complejo de crecimiento folicular, la ovulación y el mantenimiento del cuerpo lúteo en la hembra, así como la espermatogénesis en el macho. ⁽²⁷⁾

7.4.1.2 Vida media

La vida media de la GnRH, se ha calculado ser menor de 10 minutos. Dado que, la vida promedio de esta hormona es muy corta, resulta difícil medir su actividad, por lo que ésta es valorada a través de la concentración de la hormona luteinizante circulante. ⁽⁴²⁾

Figura N° 4: Hormona Liberadora de Gonadotropinas



Fuente ⁽⁴¹⁾

7.4.2 Hormona gonadotropina coriónica equina (eCG)

La eCG es una hormona producida por las copas endometriales de la yegua preñada (30 a 140 días de gestación), que tiene la capacidad de unirse a los receptores FSH y LH de los folículos y a los receptores LH del cuerpo lúteo. En equinos, su función es la de causar la ovulación o luteinización de los folículos durante la gestación con el consecuente aumento de la progesterona (P4) circulante. ⁽³⁹⁾

Fue descrita por primera vez en los años 30 y su uso se estandarizó en medicina humana en técnicas de reproducción asistida. En medicina veterinaria esta hormona ha sido ampliamente

estudiada y se ha visto que a diferencia de en los équidos, la eCG administrada en otras especies tiene una actividad tipo LH y FSH y como consecuencia tiene una gran afinidad por ambos tipos de receptores en los ovarios. La eCG tiene un efecto de larga duración sobre los receptores de las células de la granulosa y de la teca lo que estimula la secreción de estradiol y progesterona. Por ello, esta hormona se ha convertido en una sustancia de gran utilidad en programas reproductivos, utilizándose con cada vez más frecuencia en protocolos de reproducción bovina. ⁽³⁰⁾

El efecto de la eCG en bovinos se debe a su doble actividad tipo FSH y LH. Su administración estimula el desarrollo de los folículos de tamaño medio y grande e induce la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, siendo su efecto dosis dependiente (mayor respuesta ovárica con dosis elevadas). Se ha observado que al aumentar el tamaño del folículo preovulatorio, el cuerpo lúteo que se desarrolla posteriormente es de mayor tamaño, produciéndose una mayor concentración de progesterona. Pero la eCG no solo puede aumentar los niveles de progesterona por este mecanismo, sino que si se aplica días después de la ovulación también incrementa dichos niveles hormonales. En este caso, la eCG no aumenta el diámetro del cuerpo lúteo sino que actúa sobre las células luteales grandes aumentando su capacidad de secreción. En ambos casos, ya se aplique pre o postovulación, se produce un aumento de progesterona en sangre durante la fase luteal. ⁽⁴⁰⁾

Aunque los protocolos de sincronización a tiempo fijo que combinan GnRH, progesterona, y prostaglandinas normalmente alcanzan resultados reproductivos óptimos, en casos de animales comprometidos metabólicamente estos resultados pueden verse alterados. El impacto de factores externos (estrés por calor) o momentos fisiológicos concretos, como pueden ser el posparto temprano, una nutrición deficiente, una baja condición corporal, el anestro o incluso su uso en vacas primíparas, pueden reducir drásticamente las tasas de preñez de estos animales sincronizados. Es en este tipo de situaciones donde la administración de eCG ha cobrado especial importancia a nivel de explotación. ⁽³⁷⁾

7.4.3 Prostaglandinas

7.4.3.1 Aspectos fisiológicos

Las PGs causan contracciones del útero de varias especies, incluso del útero humano embarazado y son luteolíticas en muchas especies de subprimates. Las concentraciones de PGs

en sangre y líquido amniótico son elevadas en muchas especies, incluso la humana, durante el parto. Esto ha llevado a sugerir, que una mayor síntesis intrauterina de una PG (F-2 alfa) inicia y mantiene las contracciones uterinas durante el parto. Además como las PG-2 que contraen el útero se han hallado en el endometrio humano, se ha sugerido que la mayor síntesis de PG-2 explica la fisiopatología de la dismenorrea. Esta sugerencia está reforzada por la comprobación de que los inhibidores de la ciclooxigenasa disminuyen el dolor en estas circunstancias. ⁽⁸⁾

7.4.3.2 Usos en otras especies

- Como inducción de parto en cerdas (Prostaglandinas o análogos) : mediante la aplicación de una dosis simple de 10mg de Pg2alfa a los 111 - 113 días de gestación en la cerda se consigue la inducción del parto en un periodo dentro de las 36 hs posteriores a la aplicación del fármaco. ⁽²⁷⁾
- Para sincronización de celo en ovinos: las Pg2alfa y sus análogos actúan como potentes luteolítico luego del 4to o 5to día del ciclo astral (solo tiene aplicación práctica con ovejas en época de cría o estación reproductiva). ⁽¹⁵⁾
- La sincronización se obtiene con una dosis en ovejas que no entraron en celo , los primeros días anteriores a la inyección , cuando no se conoce el estado del ciclo astral se , obtiene la sincronización con doble dosis a los 8 y 14 días ; con respuestas entre el 40 y 100 % de los casos. ⁽³²⁾
- Para aumento en la fertilidad de la I.A: luego de la dilación del semen con 10mg de prostaglandina se produce un aumento del 10 % en la fertilidad del mismo, mejorando además el transporte, la supervivencia en el tracto genital, la motilidad y la penetración del espermatozoide; la precaución que se debe tomar en estos casos está dada en que el exceso del producto produce lesiones en el acrosoma del espermatozoide. ⁽¹⁵⁾
- Para el tratamiento de piómetra bovinas o metritis en los cuales muchas veces no se observa descarga por vulva, el tratamiento con dosis entre 25 -30 mg de Pg2alfa o 500 mg de cloprodtenol i/m o i/v da como resultado la evacuación del útero en la mayoría

de los casos a las 24 hs post-tratamiento, ocurriendo el estro con ovulación a los 3 o 4 días (es conveniente dejar el primer celo e inseminar al 2do).⁽²⁷⁾

- Para el tratamiento de endometritis con acumulo de fluidos y ciclos anormales, involución uterina retardada o puerperios prolongados, el tratamiento contribuye a la recuperación del endometrio.⁽¹⁴⁾

7.4.4 Protocolos de superovulación

La ovulación en alpacas y llamas puede ser inducida por la administración de hormonas exógenas como la Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), Hormona Liberadora de las Gonadotropina (GnRH) u Hormona Luteinizante (LH). La ovulación ocurre alrededor de las 30 horas después de la aplicación de GnRH, LH o por estímulo de monta.⁽²³⁾

En un estudio realizado han comparado la respuesta ovulatoria a la estimulación con PMSG aplicada en fase folicular versus fase luteal inducida. Se usaron 15 alpacas Huacaya vacías, que fueron divididas en tres grupos iguales, los que recibieron al azar los siguientes tratamientos: T1, (testigo): día 0, 2 ml de agua destilada; T2, (fase folicular): día 0, 1000 UI PMSG; día 6, 1000 UI hCG; T3 (fase luteal inducida): día 7, aplicación vaginal de Progesterona (CIDR); día 0, 1000 UI PMSG; día 2, retiro del dispositivo CIDR; día 6, 1000 UI hCG. La respuesta ovulatoria fue medida verificando el número de cuerpos lúteos (CL) mediante laparotomía y determinando los niveles de progesterona plasmática con la prueba de RIA. El número y tamaño de los cuerpos lúteos formados en T3 ($17,8 \pm 8,3$ CL y $13,6 \pm 2,0$ mm) fueron mayores ($P < 0,05$) a los registrados en T2 ($8,2 \pm 2,3$ CL y $10,5 \pm 0,8$ mm). Con respecto a los niveles de progesterona plasmática (nmol/L), el día 0, fueron basales en T1 y T2 ($0,96 \pm 0,76$ y $1,17 \pm 1,03$ nmol/L, respectivamente) y ligeramente elevadas en T3 ($3,51 \pm 0,97$ nmol/L); mientras que en el día 16 mostraron un incremento marcado tanto en T2 como en T3 ($44,27 \pm 30,17$ y $46,98 \pm 22,91$ nmol/L, respectivamente), en cambio T1 continuó con niveles basales ($1,09 \pm 0,39$ nmol/L). La correlación entre el número de cuerpos lúteos formados y los niveles de progesterona plasmática medida al finalizar el experimento (día 16) fue prácticamente inexistente ($r = -0,78$; $P > 0,05$).⁽¹⁴⁾

En un estudio realizado se evaluó la respuesta ovárica a dos dosis superovulatorias de eCG en alpacas Suri en fase luteal, en época de empadre: T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug

de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 α (clorprostenol), cuyos resultados para T1= 5.83 \pm 2.04, T2=4.33 \pm 1.51 folículos preovulatorios \geq a 7 mm; T1= 4.83 \pm 2.48, T2=3.6 \pm 1.14 cuerpos lúteos respectivamente; T1= 2.4 \pm 1.14, T2=1.0 embriones respectivamente. ⁽¹⁵⁾

En otra investigación se usa un protocolo de tratamiento con administración de benzoato de estradiol, seguida de la aplicación de un CIDR durante 8 días, al final de este periodo se administraron 1200 UI de eCG obteniéndose respuesta ovárica en un 80% de las llamas tratadas. El número promedio de folículos, cuerpos lúteos y embriones recuperados fue de 4,2 \pm 1,9; 2,1 \pm 1,4 y 1,8 \pm 2,0, respectivamente, considerando únicamente las hembras que respondieron al tratamiento. ⁽³¹⁾

Se han obtenido resultados al administrar pFSH (220 mg en dosis decrecientes), eCG (500 UI) o la combinación de eCG y pFSH (500 UI y 156 mg); los mayores porcentajes de ovulación se obtuvieron en los animales tratados con pFSH en dosis decrecientes (7,3 \pm 3,1), mientras que en los animales tratados con eCG sola o combinada con pFSH se observaron numerosos folículos con un diámetro superior a los 10 mm en el momento del lavado del útero. ⁽³²⁾

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

7.5 PRINCIPIOS GENERALES SOBRE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

7.5.1 Selección de donadoras

Estos animales son seleccionados según sus cualidades o rasgos genotípicos y fenotípicos, las donadoras son alojadas en grupos con el objetivo de tener un mejor control sobre las actividades que se realizan a diario. Las donadoras deben estar en un ambiente confortable, con alimento, agua y minerales permanentemente. ⁽²⁴⁾

Los aspectos más importantes en la selección de donadoras son los siguientes:

- Edad: La edad de la donante es un aspecto importante en el cual no hay coincidencias entre autores, sin embargo se considera que esta debe ser comprendida entre los 4 a 8 años. ⁽¹³⁾

- Estado fisiológico: las donadoras además de ser sobresalientes dentro de un rebaño deben ser fértiles y con actividad cíclica. ⁽²⁶⁾
- Sanidad: las hembras donantes deben estar libre de enfermedades, en especial aquellas que afectan la reproducción. ⁽¹³⁾
- Condición corporal: es recomendable que la donadora se encuentre en una condición corporal ideal, 3,5. La alimentación de las donadoras debe controlarse y se deben corregir las deficiencias nutricionales para cubrir por completo sus requerimientos. ⁽¹⁴⁾
- Fenotipo: las hembras donadoras a seleccionar deben reunir las características propias según su raza o aptitud. ⁽¹⁷⁾
- Evaluación genética: se debe tomar en cuenta los datos existentes en los registros, pueden realizarse estimaciones de los valores de cría dentro del rebaño y seleccionar como donadoras solo a hembras que sean de producción comprobada superior a la media del rebaño. ⁽¹⁵⁾

Una vez seleccionadas, a las hembras se les efectúa un chequeo reproductivo, ginecológico; también ecografía a los ovarios y del útero para ver si está en condiciones de ser tratada.

7.5.2 Selección de Receptoras

Desde el punto de vista reproductivo una buena receptora es la hembra capaz de recibir un embrión y llevarlo a término. Más aún, la receptora deberá ser capaz de parir sin grandes dificultades y luego alimentar a la cría de manera que le permita expresar su potencial genético. En consecuencia, deberá ser de buen tamaño, tanto general como reproductivamente sano y de buena capacidad productiva. ⁽¹²⁾

Las receptoras que forman parte del programa deben reunir las siguientes características:

- Identificación: Deben estar identificadas de forma única, visible fácilmente y permanente para facilitar el programa desde el comienzo. ⁽¹¹⁾
- Edad y desarrollo corporal: en este caso se seleccionaran hembras que ya hayan sido madres, con una condición corporal mayor a 3,5. ⁽²⁴⁾

- Sanidad: el plan sanitario al cual son sometidas las receptoras debe ser riguroso para minimizar las pérdidas embrionarias a causa de enfermedades generales y reproductivas. Todos los estados que alteren la salud de la receptora afectan negativamente la viabilidad del embrión. Por ello es necesario adaptarlo a las condiciones propias según la incidencia de enfermedades. ⁽¹³⁾
- Aptitud reproductiva de las receptoras: el éxito de la TE dependerá de que las receptoras posean un aparato reproductivo con desarrollo normal, sin alteraciones anatómicas en el cérvix y útero. Así mismo, deben estar ciclando correctamente porque todo el proceso de TE va de la mano con el programa de sincronización de celo que aunque se basa en hormonas exógenas, es deseable que las hembras no tengan alteraciones del ciclo astral para garantizar una buena respuesta al protocolo. ⁽²⁹⁾

7.5.3 Estimulación ovárica

Se induce en alpacas y llamas mediante la administración de la hormona eCG o FSH por vía intramuscular profunda. ⁽³⁰⁾

7.5.4 Fecundación de hembras superestimuladas

Se realiza con machos seleccionados de probada fertilidad o mediante inseminación artificial (IA) con semen fresco, con la finalidad de inducir ovulación y fecundación. ⁽²²⁾

7.5.5 Sincronización de hembras receptoras

Se sincronizan en el tiempo las receptoras con las donadoras, de tal forma que coincida el momento de la recuperación de los embriones con la transferencia del mismo en fresco, la finalidad es lograr que ambas hembras estén en el mismo día de la fase luteal. ⁽²⁰⁾

7.5.6 Colección de embriones

La colección de embriones se realiza mediante la técnica no quirúrgica, utilizando el catéter FOLEY, por donde se inyecta un medio líquido para producir una corriente de arrastre (lavado) a través de los cuernos uterinos con una solución a b a s e d e P B S (Solución Buffer por Fosfato) a 32 °C., la solución recuperada se filtra y coloca en una placa Petri para la identificación y clasificación de los embriones. ⁽¹⁸⁾

Figura N° 5: Colección de embriones



Fuente ⁽²⁵⁾

7.5.7 Búsqueda de embriones

La localización, manipulación y evaluación de los embriones se debe realizar lo más rápido posible y en estricta esterilidad. A medida que se ubican los embriones, estos son aspirados y colocados en una placa petri pequeña con medio de mantenimiento a una temperatura de 32 °C. ⁽⁸⁾

7.5.8 Clasificación de embriones

La clasificación de los embriones se realiza en base a su aspecto morfológico, se debe de observar su esfericidad, el embrión debe tener un desarrollo acorde con el día de colecta, las células deben ser claras de contorno regular y de tamaño uniforme. ⁽²³⁾

Figura N° 6: Clasificación de embriones



Fuente ⁽²⁷⁾

8. HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis Nula

Ho: La aplicación de dos protocolos de actividad ovárica (eCG) modifica la repuesta ovulatoria respecto al número de folículos, cuerpos lúteos y fecundación.

8.2 Hipótesis alternativa

Ha: La aplicación de dos protocolos de actividad ovárica (eCG) no modifica la repuesta ovulatoria respecto al número de folículos, cuerpos lúteos y fecundación.

9. METODOLOGÍA

9.1 Ubicación de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el Centro de Experimentación Salache (CEASA), del Cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi.

La Provincia de Cotopaxi es una de las 24 provincias que conforman la República del Ecuador, situada al centro del país, en la zona geográfica conocida como región interandina o sierra. Su capital administrativa es la ciudad de Latacunga, la cual además es su urbe más grande y poblada. En el territorio cotopaxense habitan 458.581 personas, según el último censo nacional (2010). Según el último ordenamiento territorial, la provincia de Cotopaxi pertenece a la región centro 3 comprendida también por las provincias de Pastaza, Chimborazo y Tungurahua.

9.2 Límites

- **Norte:** Pichincha
- **Sur:** Tungurahua y Bolívar
- **Este:** Napo
- **Oeste:** Pichincha y Los Ríos

9.3 Pre selección de animales en estudio

Para este punto se procedió a realizar un chequeo ginecológico de las alpacas con un ecógrafo manual de tipo lineal a todos los animales con los que se cuenta en el CEASA con la finalidad de determinar los animales predisponentes para ser las donantes, las cuales iban a participar en la investigación.

Tabla N°1: Pre selección de animales

Identificador	Estado reproductivo
S/N Blanca	Preñada
S/N Café	Preñada
3113	Vacía
816	Vacía
811	Preñada
3053	Vacía
819	Preñada
Willa	Preñada

Fuente Directa

Elaborado por el Autor

9.4 Selección de los animales

En la investigación se realizó la selección de tres alpacas hembras vacías las cuales fueron consideradas como donadoras, con una edad aproximada de entre dos y tres años, con una condición corporal 3-4 que indica un balance nutricional ideal, con características fenotípicas deseables, libre de enfermedades y reproductivamente aceptables a las que se les realizó la identificación respectiva, y a la aplicación de vitaminas y desparasitantes previo al inicio de los protocolos, las cuales fueron:

- Alpaca N° 3113
- Alpaca N°816
- Alpaca N°3053

9.5 Sincronización de los animales

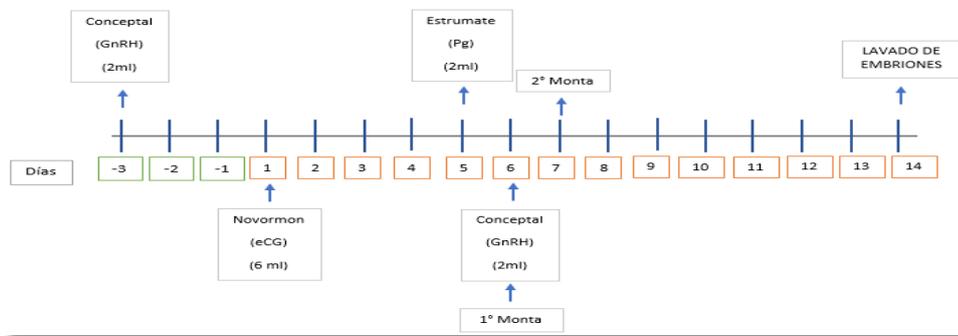
Para esto se aplicó los protocolos utilizando Conceptal (GnRH), Novormon (eCG) y Estrumate (Pg), para la estimulación ovárica en camélidos. Los tratamientos de los protocolos se aplicaron en el mismo horario en un lapso de 7:00 am a 8:00 am.

9.6 Protocolos de estimulación utilizados en la investigación

Se realizó dos protocolos de superovulación en tres alpacas las cuales se describen a continuación

9.6.1 Protocolo 1 Aplicación de dosis única de 1200 UI de eCG

Figura N° 7: Protocolo N° 1



Fuente Directa

Elaborado por el Autor

En el siguiente protocolo se realizó una pre sincronización con la aplicación de Conceptal (GnRH) en una dosis de 2 ml vía intramuscular tres días antes de iniciar el mencionado protocolo con la finalidad de mejorar la condición funcional de los ovarios en cada una de las alpacas debido a que se encontraban un tiempo sin tener servicio reproductivo.

A continuación de aquello se procedió al inicio del protocolo de superovulación con 14 días en total.

Día 1: Se aplicó 1200 UI (6 ml) de Novormon (eCG) una sola dosis.

Día 5: Aplicación de 2 ml de Estrumate (PGF2 α) una dosis.

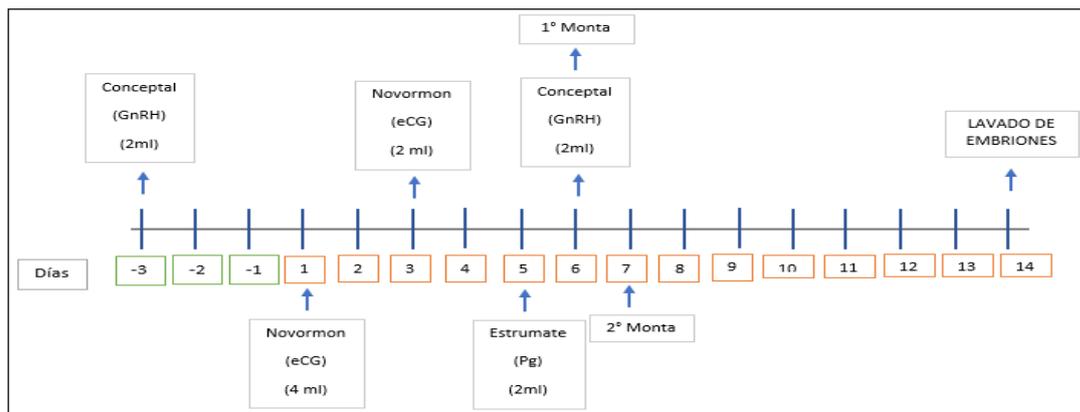
Día 6: Se aplicó 2 ml de Conceptal (GnRH) en una sola dosis más la primera monta.

Día 7: Se realizó la segunda monta debido a que las ovulaciones son progresivas y es necesario considerar que en los camélidos son animales de ovulación inducida por lo que el propósito del macho en este caso es inducir la ovulación.

Día 14: Después de lo escrito se procedió al respectivo lavado de embriones.

9.6.2 Protocolo 2 Aplicación de doble dosis de 800 UI y 400 UI de eCG

Figura N° 8: Protocolo N° 2



Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Al igual que en el protocolo N° 1 se realizó una pre sincronización con la aplicación de Conceptal (GnRH) en una dosis de 2 ml vía intramuscular tres días antes de iniciar el protocolo con el propósito de mejorar la condición funcional de los ovarios en cada una de las alpacas debido a que se encontraban un tiempo sin tener servicio reproductivo.

A continuación de lo dicho se procedió al inicio del protocolo de superovulación con 14 días en total.

Día 1: Aplicación de la primera dosis de 800 UI (4 ml) de Novormon (eCG).

Día 3: Segunda dosis de 400 UI (2 ml) de Novormon (eCG).

Día 5: Administración de una dosis de 2 ml de Estrumate (PGF2 α).

Día 6: Se aplicó 2 ml de Conceptal (GnRH) una sola dosis seguida de la primera monta.

Día 7: Se realizó la segunda monta respectivamente, debido a que las ovulaciones son progresivas y es necesario considerar que en los camélidos son animales de ovulación inducida por lo que el propósito del macho en este caso es inducir la ovulación.

Día 14: Después de lo escrito se procedió al respectivo lavado de embriones.

9.6.3 Valoración Folicular y Embrionaria previo al Chequeo Ginecológico

Referente a la cantidad de folículos encontrados en el protocolo N° 1 fueron seis (alpaca N° 816), en el protocolo N° 2 alpaca N° 3113 y alpaca N° 3053 se encontraron cinco y seis folículos respectivamente.

Los tratamientos aplicados dieron como resultado una superestimulación en los tres animales en estudio presentándose así una cantidad de dos cuerpos lúteos en el protocolo 1 (alpaca N° 816), y en el protocolo N° 2 (alpaca N° 3113 y 3053) dos cuerpos lúteos, con dos CL en cada una respectivamente.

9.7 Lavado de embriones sobre la fecundación

La colección de embriones se realizó mediante el sistema cerrado de colecta de embriones empleado en bovinos; donde se siguieron los siguientes pasos secuenciales:

- Preparación de la solución Complete Flushing atemperada (mediante la plancha termica)
- Preparación de los materiales utilizados para el lavado respectivo (sonda Foley, estilete, tubo en Y, filtro emcon, complete flush, soporte universal, jeringas sin embolo)
- Sujeción de la donante (cabos de sujeción)
- Limpieza del recto y vulva (agua, alcohol)
- Evacuación de heces.
- Palpación, y estimación de los cuerpos lúteos y folículos para determinar la respuesta ovárica.
- Lubricación del recto (gel lubricante)
- Ubicación del catéter en el cuerno y fijación (sonda Foley mediante introducción de aire 10 cm hacia el balón)
- Lavado cuerno por cuerno
- Volumen de líquido en cada episodio de lavado 5-7 ml (complete flush)
- Observación en el estereomicroscopio.

- Evaluación de la calidad de embriones (placas cuadrículadas, holding)

9.8 Metodología Empleada

Metodología descriptiva.

9.8.1 Método descriptivo

Este método tiene como objetivo la descripción precisa del evento de estudio, asociándose al diagnóstico, se basa en exponer el evento estudiado, haciendo una enumeración detallada de sus características, de tal modo que en los resultados se pueden obtener dos niveles elemental y sofisticado, dependiendo del fenómeno y del propósito del investigador. En el caso de la investigación se describió los diferentes protocolos de superovulación en alpacas obteniendo niveles de calidad de embriones en dichos animales.

9.9 Variables Evaluadas Dependientes

- Cantidad de folículos
- Cantidad de cuerpos lúteos
- Cantidad de embriones

9.9.1 Cantidad de folículos

La cantidad de folículos se estableció mediante ecografía con la utilización de un ecógrafo manual de tipo lineal después de haber aplicado las dos montas a los animales, tiempo en el cual actúa la hormona ovulatoria encontrando así en gran número folículos Maduros o de Graf nominados así por el gran tamaño que presentaron.

9.9.2 Cantidad de cuerpos lúteos

La cantidad de cuerpos lúteos fue determinada siete días después de haber realizado las dos montas respectivamente a las alpacas, mediante utilización de un ecógrafo lineal rectal.

9.9.3 Cantidad de embriones

La cantidad de embriones no se logró evaluar debido a que no existió fecundación, considerándose esto por la presencia de algunos factores entre ellos la edad de las alpacas, condición corporal baja ya que las mismas no poseían de una alimentación adecuada que cubra con los requerimientos nutricionales.

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1 Cantidad de folículos encontrados en alpacas

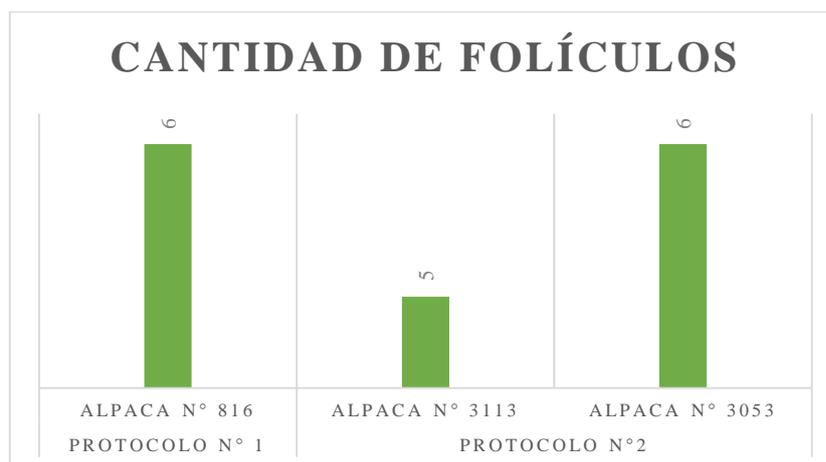
Tabla N° 2: Folículos encontrados en alpacas

Tipo de protocolos	PROTOCOLO N° 1	PROTOCOLO N°2	
Animales en estudio	Alpaca N° 816	Alpaca N° 3113	Alpaca N° 3053
Cantidad de folículos	6	5	6

Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Gráfico N° 1: Folículos encontrados en alpacas



Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Según la tabla N° 2 y el gráfico N° 1 establece la cantidad de folículos producidos post aplicación de los protocolos de superovulación en donde se indica o presenta una mejor

respuestas con el protocolo N° 1 en la alpaca 816 con 6 folículos y con la alpaca 3053 con el protocolo N° 2 en donde se encontró también 6 folículos.

Según la investigación realizada se evaluó la respuesta ovárica a dos dosis superovulatorias de eCG en alpacas Suri en fase luteal, en época de empadre: T1=400 UI de eCG y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 α (clorprostenol), cuyos resultados para T1 con 5.83 ± 2.04 , T2 con 4.33 ± 1.51 folículos preovulatorios. ⁽⁴¹⁾

10.2 Cantidad de cuerpos lúteos obtenidos en alpacas

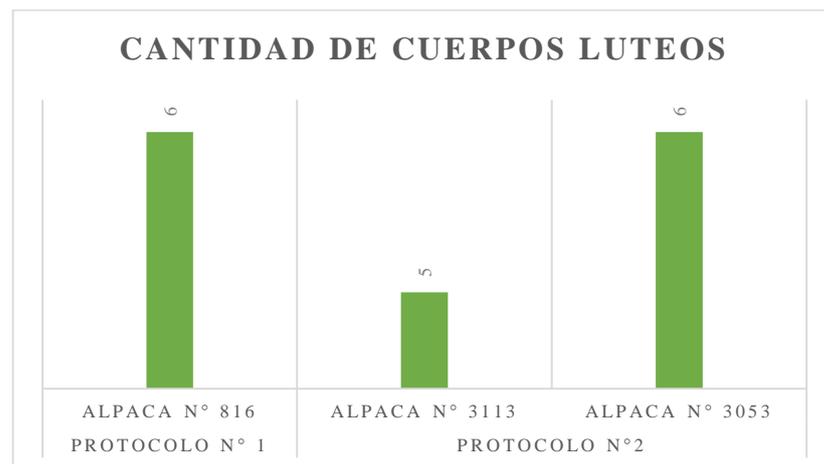
Tabla N° 3: Cuerpos lúteos obtenidos en alpacas

Tipo de protocolos	PROTOCOLO N° 1	PROTOCOLO N°2	
Animales en estudio	Alpaca N° 816	Alpaca N° 3113	Alpaca N° 3053
Cantidad de cuerpos lúteos	2	2	1

Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Gráfico N° 2: Cuerpos lúteos obtenidos en alpacas



Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Al observar la tabla N° 3 y el gráfico N° 2, esta indica la cantidad de cuerpos lúteos que se han formado después de la aplicación de los protocolos de superovulación existió una mejor

respuesta con el protocolo N° 1 alpaca 816 con cinco cuerpos lúteos a diferencia del protocolo N° 2 en donde se encontró 4 cuerpos lúteos en las dos hembras. Según un estudio realizado en el Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma en Perú los resultados obtenidos fueron los siguientes, el número de cuerpos lúteos fue mayor en el protocolo “A” con 5.83 ± 0.90 (500 UI de eCG) seguido del protocolo “C” con $4,42 \pm 0.55$ (con 200 UI de eCG) y por último el protocolo “B” con $4,17 \pm 0.82$ (con doble dosis de 500 UI de eCG).⁽³⁸⁾

10.3 Cantidad de embriones colectados en alpacas

Tabla N° 4: Embriones colectados en alpacas

Tipo de protocolos	PROTOCOLO N° 1	PROTOCOLO N°2	
Animales en estudio	Alpaca N° 816	Alpaca N° 3113	Alpaca N° 3053
Embriones encontrados	0	0	0

Fuente Directa

Elaborado por el Autor

Según la tabla N° 4 indica la tasa de recuperación embrionaria mostrando un número de 0 embriones recuperados, obteniendo así: en el protocolo N°1 y N° 2 la cantidad de 0 debido a que los procesos de recuperación embrionaria varían cuando se aplican este tipo de procesos de biotecnología reproductiva ya que van estrechamente relacionados desde el punto de vista fisiológico con la superestimulación ovárica, superovulación y la recuperación embrionaria.

Según el estudio donde se utilizó T1=400 UI y T2=500 UI de eCG, más 100 ug de GnRH, y 0.262 mg prostaglandina F2 α (clorprostenol) en alpacas, obtuvo T1= 4.66, T2=5.0 folículos preovulatorios \geq a 7 mm; T1= 3.0, T2=3.0 cuerpos lúteos respectivamente; con un total de embriones T1= 5, T2=1, respectivamente.⁽³⁹⁾

11. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO

Tabla N° 5: Presupuesto utilizado en la investigación

Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO			
	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	Valor Total \$
Hormonas				
eCG	2	Frascos	80,02	160,04
GnRH	2	Frascos	40,00	80,00
PGF2 α	1	1	48,80	48,80
Equipos lavado de embriones				
Complete Flushing 1lt	3	Litros	48,00	144,00
Copas ENCOM	4	Unidades	27,00	108,00
Plato petri redondo 35*10 mm	4	Caja	28,00	28,00
Plato cuadriculado 100 mm	4	Caja	21,00	21,00
Tubo en y	1	Unidad	21,00	21,00
Sonda Foley # 14	2	Unidad	20,00	40,00
Puntas de 5 a 10 microlitros	1	Caja	30,00	30,00
Solución holding plus	2	Frascos	13,50	27,00
Materiales varios				
Guantes ginecológicos	1	Caja	17,00	17,00
Guantes de manejo	1	Caja	13,00	13,00
Jeringas de 5ml	25	Unidades	0,15	3,75
Jeringas de 3ml	10	Unidades	0,15	1,50
Agujas 21G*1”	1	Caja	7,00	7,00
Gel lubricante	4	Litros	5,50	22,00
Transporte y salida de campo	15	Viajes	10,00	150,00
Suministros de oficina				
Resmas de papel bond	1000	Resma	0,01	10,00
Impresiones	500	Hojas	0,10	50,00
Copias	200	Hojas	0,03	6,00
CDs	5	Unidades	0,60	3,00
Flash memory	1	Unidad	10,00	10,00
Horas de internet	100	Horas	0,70	70,00

Esferos	5	Unidades	0,40	2,00
Carpetas	10	Unidades	0,30	3,00
Anillados	20	Unidades	6,00	12,00
Gastos varios				
Alimentación	20	Días	3,00	60,00
Sub Total				1033,29
10%				114,80
TOTAL				1148,09

Fuente Directa

Elaborado por el Autor

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 Conclusiones

- Al momento de evaluar la repuesta superovulatoria se determina que existió una gran cantidad de estructuras a nivel del ovario (folículos, cuerpos lúteos) con un aumento de tamaño de las mismas por lo que se demuestra una respuesta positiva a la aplicación de la eCG.
- Al evaluar la actividad ovárica post aplicación de los protocolos se demuestra que existe una mayor respuesta al utilizar a dosis única 1200 UI de eCG Novormon en los animales tratados.
- La valoración en la calidad de embriones no se consideró debido a que los protocolos utilizados no tienen un efecto sobre la fecundación.

12.2 Recomendaciones

- Se recomienda experimentar con una cantidad mayor de donadoras para que exista un equilibrio en la respuesta ovulatoria estándar, para que los protocolos establecidos sean exactos y más efectivos.

- Se debe utilizar a dosis única o doble dosis de ecG no más de 1000 o 1200 UI como dosis máxima y no menos de 800 UI como dosis mínima para que se presente una excesiva respuesta ovulatoria en todos los animales en estudio.
- Se podrían realizar otras investigaciones en las cuales se utilicen otras hormonas como pueden ser las luteinizantes que permitan obtener mayores resultados en la respuesta ovulatoria en lo referente a los picos de LH.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Hafez E. Llamas y alpacas. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México. 2002; 7ma. Edición: Pág. 519, 224-42.
2. Miragaya MH. Producción in vitro de embriones de llama (*Lama glama*) por la técnica de ICSI: resultados preliminares. Memorias del III Congreso Mundial sobre Camélidos. 2003. vol. 1: Pág. 267–270.
3. Ratto MH. Ovarian follicular wave synchronization and fixed-time natural insemination in llamas. *Theriogenology*. 2003. Pág. 60:1645-1656.
4. Aller J. Superovulación y transferencia de embriones de llamas en el altiplano argentino. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal. 2001.
5. Adams G. Ovulation inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biol Reprod*. 2005; Pág. 73:452-457.
6. Del Campo M. 12 Congreso Internacional de Reproducción Animal. Maduración in vitro de ovocitos de la llama (*Lama glama*). 1992. Pág. 1984
7. Gordon I. *Reproduction in Horses, Deer and Camelids*, CAB International. 1997.
8. Huanca W. Fertilización In Vitro en camelids: Recuperación de ovocitos vía transvaginal. Resumen XXIX Reunión Asociación Peruana de Producción Animal – Huancayo, Perú. 2006.
9. Huanca W. Embryo Transfer in Camelids: Study of a reliable superovulatory treatment in llamas. 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar, Germany. Abstracts. Ed. M. Gerken, C. Renieri, M. Gauly and A. Riek. 2004.
10. Taylor S. Successful commercial embryo transfer in the Llama (*Lama glama*). *Theriogenology*. 2001; 53, 1, 344.

11. FAO. Manual de prácticas de manejo de Alpacas y Llamas, 1996; Pág. 9-14, 30 – 34, 42- 47.
12. García W. Manual del Técnico Alpaquero. 2005; Pág. 9 – 30.
13. Sepulveda N. Manual para el manejo de camélidos sudamericanos domésticos, 2011; ISBN N° 978-956-328-089-0 Pág. 18
14. Fernández S. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. FAO. ONU. 1991; Pág. 1-3.
15. Sumar J. Reproduction in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science*. 1996; 42:405-415.
16. Sato A. Montoya L. Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*), Anatomía macroscópica. *Rev. Camélidos sudamericanos*. 1990; 7: 13.
17. Hafez ESE. Reproducción e inseminación artificial en animales. 6ta edición. Ed Interamericana, 2004; Pág. 542
18. Baker, TG. A quantitative and cytological study of germ cells in camelidos ovaries. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2000; 158: 417–433.
19. Stevenson J. Clinical reproductive physiology of the cow. En: *Current Therapy in large animal. Theriogenology*. Edit by Younquist, R. 1997.
20. Hafez E. Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7 ma edición. Editorial Mc graw hill. Madrid ,España. 2002.
21. García, W. Pezo, D. San Martin F. Olazabal J, Franco, F. Manual del Técnico Alpaquero, 2005; pág. 9 - 30

22. Tibary A. Semen preservation in Camelids. Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, September 12-1, Vancouver, BC, Canada, 2001; Pág. 369-78.
23. Sumar J. Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. Journal of Arid Environments. Volume 26 Issue 1, 1993; Pág. 39-45.
24. ABS. A.I. Management Manual. Fifth Edition. Volume 2. Wisconsin, USA. 2006.
25. Görlach A. Transferencia de embriones en el ganado vacuno. Ed. Acriba, S.A. Zaragoza, España. 1997; Pág. 130
26. Vaughan J. Tibary A. Reproduction in female South American Camelids: A review and clinical observations. Small Ruminant Research. 2006; Pág. 61, 259-281.
27. Bourke D C. Kyle T. Mcevoy and P Young. Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: Proceedings 12th Int Congress Animal Reproduction. 1992; Pág., 68:181-190.
28. Ratto M.H. Induction of superovulation in South American Camelids. Anim Reprod Sci. 2013; Pág. 136, 164-9.
29. Palomino, H. Biotecnología del Transplante y Micromanipulación de Embriones de Bovinos y Camélidos Sudamericanos. Editores Importadores, Perú. 2000.
30. Huanca W. Ovarian response and embryo production in llamas treated with equine chorionic gonadotropin alone or with a progestin-releasing vaginal sponge at the time of follicular wave emergence. 2004.
31. Palma G.. Transferencia De Embriones Y Biotecnología De La Reproducción En La Especie Bovina. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 2002; Pág. 503.
32. Pineda J. Recuperación sucesiva de embriones y retorno folicular post lavado en alpacas (Vicugna pacos) Huacaya donadoras naturales. Spermova. 2012; Pág 53-54.

33. Moreno, J. Transferencia De Embriones En Bovinos. Texas, Eua. 2004; Pag 97.
34. Bisquerra, R. Clasificación de los Métodos de Investigación. Recuperado de: dip.una.edu.ve. 2004.
35. González Río, M.J. Metodología de la investigación social. Técnicas de recolección de datos: Aguaclara. 2007.
36. Hernández S, Metodología de la investigación. México: Mc Graw Hill. 2008.
37. Velásquez C. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. Rev Inv. Vet. Perú; 1999.
38. Hafez S. Reproducción e Inseminación Artificial de Animales Domésticos. Séptima edición, Editorial Interamericana-Mc Graw Hill-México. 2002.
39. Correa J. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. Animal Reproduction Science. 1997; Pág 46, 289-296.
40. Aller J. Successful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. Animal Reproduction Science. 2002; Pág 73, 121- 127.
41. Ancco E. Respuesta a dos Dosis Superovulatorias con eCG en Alpacas Suri en época de Empadre. Tesis Pregrado. FMVZ, UNA – Puno. 2013.
42. Prieto B. Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM. Rev Fac Med UNAM Vol.45 No.6 noviembre-diciembre, 2002
43. Bravo W. The Reproductive process of south American camels, Seagull Printing. United Status of America. 2002.

44. Sumar J. Effect of the recipient lactation status on pregnancy rate following embryo transfer in alpacas. Official Journal of The Society for Theriogenology. 2010; Vol. 2: 399.
45. IETS, Manual De La Sociedad Internacional De Transferencia De Embriones. 2010.

14. ANEXOS

ANEXO N° 1 DATOS INFORMATIVOS

HOJA DE VIDA

DATOS PERSONALES

APELLIDOS	Ushiña Alcocer
NOMBRES	Johnny Salvador
LUGAR DE NACIMIENTO	Sangolquí
FECHA DE NACIMIENTO	03 de octubre de 1990
NACIONALIDAD	Ecuatoriano
CÉDULA DE IDENTIDAD	171796174-0
ESTADO CIVIL	Soltero
EDAD	28 años
DOMICILIO	Latacunga
TELÉFONO	0979049538
CORREO ELECTRÓNICO	john_utc@hotmail.com



ESTUDIOS REALIZADOS

PRIMARIA

Escuela Fiscal Mixta “Gabriel Noroña”

SECUNDARIA

Colegio Nacional “General Píntag”

Colegio Técnico Agropecuario “Cotogchoa”

TÍTULO OBTENIDO

Bachiller Técnico Agropecuario

SUPERIOR

Universidad Técnica de Cotopaxi

TÍTULO OBTENIDO

Proceso de Médico Veterinario Zootecnista



Universidad
Técnica de
Cotacachi

Unidad de Administración de Talento Humano



SIITH
Sistema Informático
Integrado de Talento
Humano

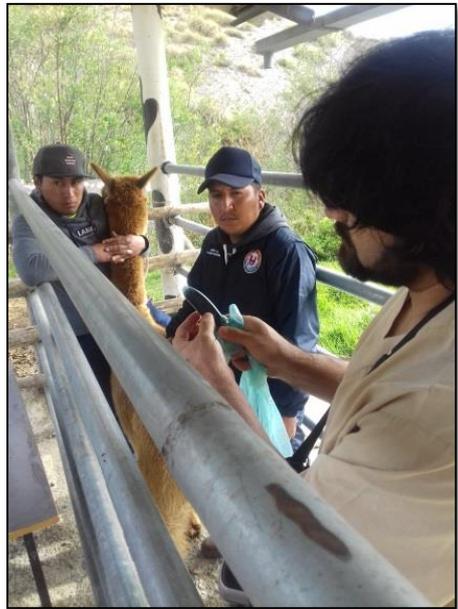
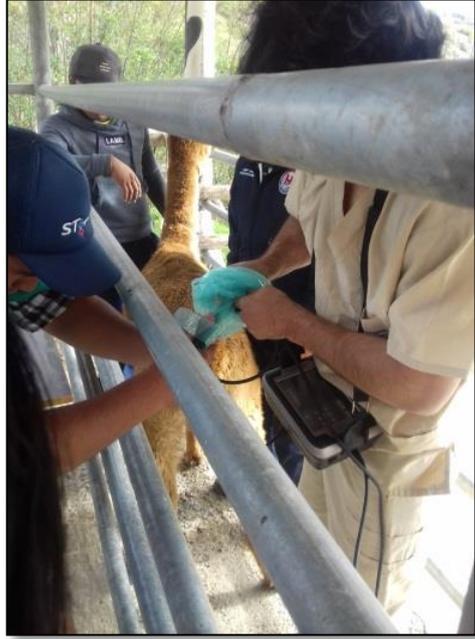
FICHA SIITH								
DATOS PERSONALES								
NACIONALIDAD	CÓDULA	PASAPORTE	AÑOS DE RESIDENCIA	NOMBRE	APELLIDO	FECHA DE NACIMIENTO	LIBERTAD MILITAR	ESTADO CIVIL
ECUATORIANO	001200124			LUIS ALONSO	CHICAIZA LANCHIZ	23/11/1988		SOLTERO
DISCAPACIDAD	N° CARNÉ CONADO	TIPO DE DISCAPACIDAD	MODALIDAD DE INGRESO	FECHA DEL PRIMER INGRESO AL SECTOR PÚBLICO	FECHA DE INGRESO A LA INSTITUCIÓN	FECHA DE INGRESO AL PUESTO	SINIERO	TIPO DE SANGRE
MODALIDAD DE INGRESO LA INSTITUCIÓN			FECHA INICIO	FECHA FIN	N° CONTRATO	CARGO	UNIDAD ADMINISTRATIVA	
CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES								
TELÉFONOS			DIRECCIÓN DOMICILIARIA PERMANENTE					
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	CALLE PRINCIPAL	CALLE SECUNDARIA	N°	REFERENCIA	PROVINCIA	CANTÓN	PARRROQUIA
0368791	9981232	Milón Jacome	Milón Pacho	3	Tres la Cruz Cota	Cotacachi	Larabunga	Soc. Alvaro
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL				AUTODENTIFICACIÓN ÉTNICA				
TELÉFONO DEL TRABAJO	EXTENSIÓN	CORREO ELECTRÓNICO INSTITUCIONAL	CORREO ELECTRÓNICO PERSONAL	AUTODENTIFICACIÓN ÉTNICA	ESPECIFIQUE NACIONALIDAD INDÍGENA	ESPECIFIQUE SI SE ACCIONÓ OTRA		
0368791		luis.alonso.chicaiza@cotacachi.edu.ec	luis.alonso.chicaiza@gmail.com	MESTIZO		0		
CONTACTO DE EMERGENCIA				DECLARACIÓN JURAMENTADA DE BIENES				
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	NOMBRE	APELLIDO	Nº. DE NOTARÍA	LUGAR DE NOTARÍA	FECHA		
0368791	9981232	Martha	Alonso Lanchiz					
INFORMACIÓN BANCARIA				DATOS DEL CÓNYUGE O CONVIVIENTE				
NÚMERO DE CUENTA	TIPO DE CUENTA	INSTITUCIÓN FINANCIERA	APELLIDO	NOMBRE	Nº. DE CÓDULA	TIPO DE RELACIÓN	TRABAJO	
0010011234	AHORRO	CADRECO	Alonso Lanchiz	María Emma martha	001200124	CONVIVIENTE	Hospital Alvarado	
INFORMACIÓN DE HIJOS				FAMILIARES CON DISCAPACIDAD				
Nº. DE CÓDULA	FECHA DE NACIMIENTO	NOMBRE	APELLIDO	NIVEL DE INSTRUCCIÓN	PARENTESCO	N° CARNÉ CONADO	TIPO DE DISCAPACIDAD	
000144025	02/02/1989	Carmen Liliana	Chicaiza Alonso	TERCER NIVEL				
000144026	02/06/1991	Vanessa Karina	Chicaiza Alonso	ESTUDIANTE UNIVERSITARIO				
000144028	23/06/1997	Alfonso Alonso	Chicaiza Alonso	ESTUDIANTE UNIVERSITARIO				
FORMACIÓN ACADÉMICA								
NIVEL DE INSTRUCCIÓN	Nº. DE REGISTRO (EN SU CASO)	INSTITUCIÓN EDUCATIVA	TÍTULO OBTENIDO	GRANDEZA	ÁREA DE CONOCIMIENTO	PERIODO APROBADO	TIPO DE PERIODO	PAÍS
BACHILLERATO		Colegio de Agricultura Simón Rodríguez	Bachiller Agrónomo				OTROS	Ecuador
TERCER NIVEL	1200-04-47666	Universidad Técnica de Cotacachi	Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia		Veterinaria		SEMESTRES	Ecuador
5TO NIVEL - MAESTRÍA	1200-10-89003	Universidad Tecnológica Ecuatoriana	Magister en Producción animal				SEMESTRES	Ecuador
EVENTOS DE CAPACITACIÓN								
TIPO	NOMBRE DEL EVENTO (TEMA)	EMPRESA / INSTITUCIÓN QUE ORGANIZA EL EVENTO	DURACIÓN HORAS	TIPO DE CERTIFICADO	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN	PAÍS	
CORNER	Reunión Académica en el Aula Universitaria	Universidad Técnica de Cotacachi	30		22-mar-23	23-mar-23	Ecuador	
SEMINARIO	Construcción de la Educación Superior con la Colectividad	Universidad Estatal del Cañar	30		02/05/2023	02/05/2023	Ecuador	

Anexo N° 2 Fotografías del proceso de investigación

Preselección de los animales



Chequeo ginecológico previo a la aplicación de los protocolos





Aplicación de los protocolos de superovulación

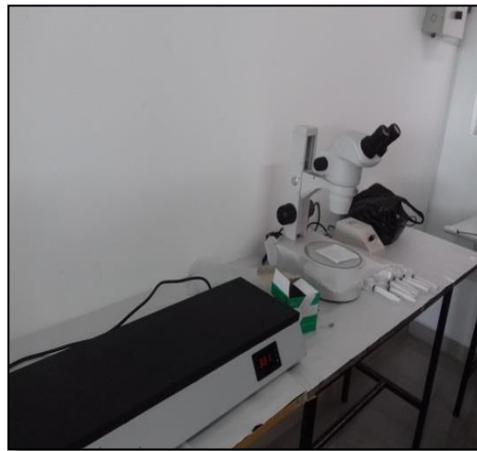
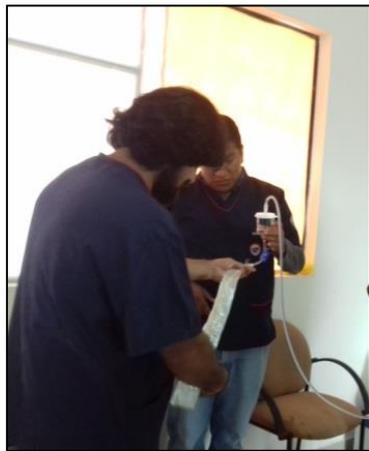


Monta natural en las alpacas en estudio





Lavado de embriones







Materiales utilizados en el lavado de embriones



Solución medio para lavado de embriones Complete Flush



Embryos tubo en Y

Embryos filtro
copa EMCON

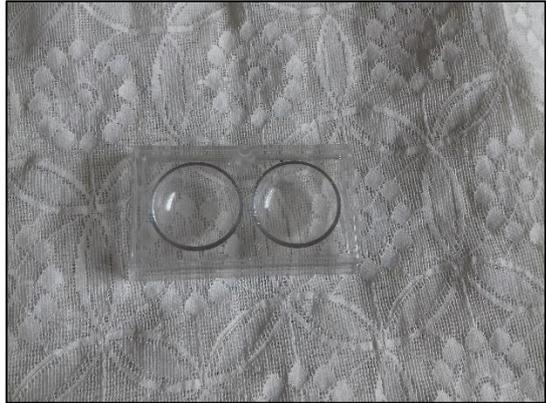


Sonda Foley



Plato petri
cuadrulado

Plato petri
redondo



Estereoscopio
y plancha
t rmica

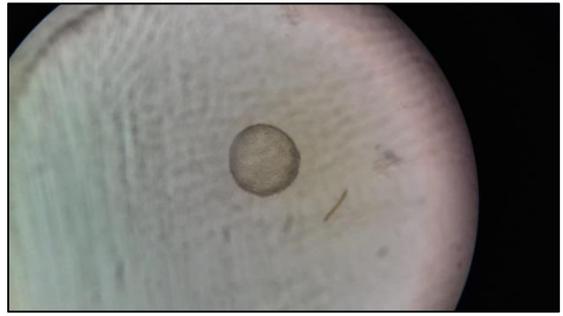
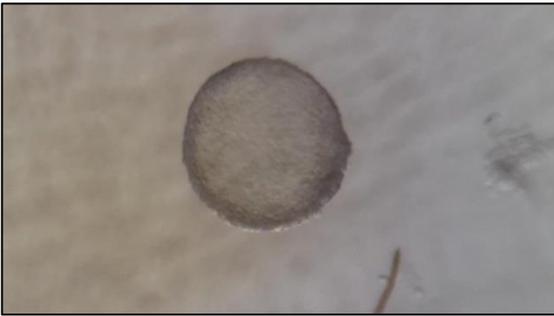
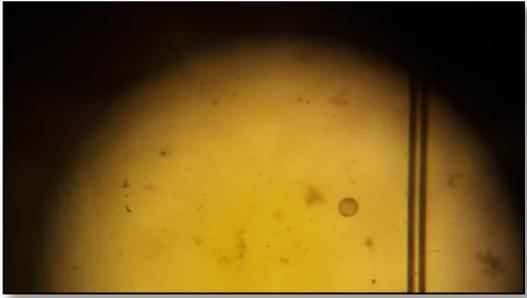


Resultados obtenidos

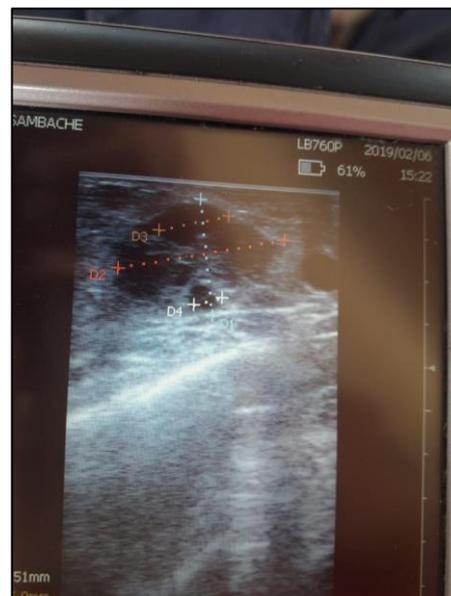
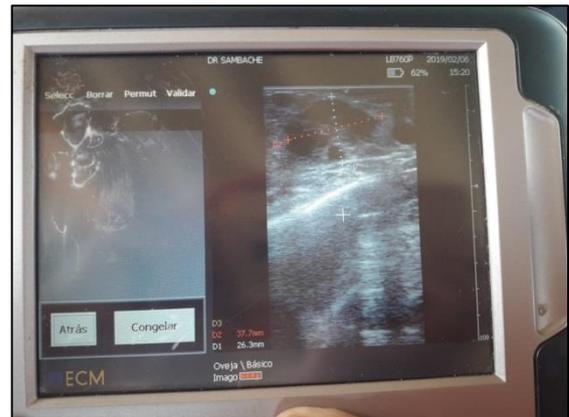
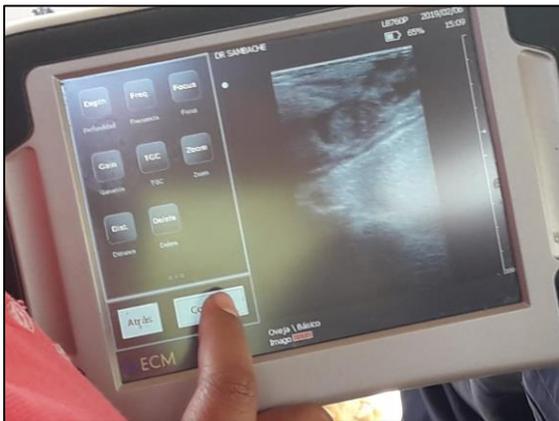


Micropipeta





Ecografía realizada post lavado de embriones







Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por el Egresado de la Carrera de **MEDICINA VETERINARIA** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES** **JOHNNY SALVADOR USHIÑA ALCOCER**, cuyo título versa “**APLICACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULACION Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE EMBRIONES DE ALPACAS**”, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, Febrero del 2019

Atentamente,


Lcdo. Collaguazo Vega Wilmer Patricio Mg.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 1722417571



CENTRO
DE IDIOMAS