



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“APLICACIÓN DE GnRH EN INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN
PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médica Veterinaria y
Zootecnista

Autor:

Coronel Acuña Mayra Cleofe

Tutor:

Chicaiza Sánchez Luis Alonso Dr. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Mayra Cleofe Coronel Acuña, con cédula de ciudadanía No. 0503146136, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “Aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas”, siendo el Doctor Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez 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, certificado que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 05 de agosto del 2021

Mayra Cleofe Coronel Acuña
Estudiante
C.I. 0503146136

Dr. Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez
Docente Tutor
C.I.: 050130831-6

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 **MAYRA CLEOFE CORONEL ACUÑA**, identificada con cédula de ciudadanía **0503146136**, de estado civil casada, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. 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 **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Octubre 2016 – Marzo 2017

Finalización de la carrera: Abril 2021 – Agosto 2021

Aprobación en Consejo Directivo: 20 de mayo del 2021

Tutor: Dr. Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez

Tema: “Aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA 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, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** 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 **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** 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.

e) 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 **LA CESIONARIA** no se halla obligado a reconocer pago alguno en igual sentido **LA 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 **LA CESIONARIA** 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 **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

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

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuarta, 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 05 días del mes de agosto del 2021.

Mayra Cleofe Coronel Acuña

LA CEDENTE

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“APLICACIÓN DE GNRH EN INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS”, de Mayra Cleofe Coronel Acuña de la carrera Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 05 de agosto del 2021

Dr. Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez

DOCENTE TUTOR

C.I.: 050130831-6

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos 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; por cuanto, la postulante: Coronel Acuña Mayra Cleofe, con el título del Proyecto de investigación: **“APLICACIÓN DE GNRH EN INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 05 de agosto de 2021

Lector 1 (Presidente)
Dr. Mg. Xavier Cristóbal Quishpe
Mendoza
CC: 0501880132

Lector 2
Dr. PhD. Rafael Alfonso Garzón Jarrín
CC: 0501097224

Lector 3
PhD. Edilberto Chacón Marcheco
CC: 1756985691

AGRADECIMIENTO

Mi gratitud primero es para Dios, por darme su Bendición y poder culminar mis estudios universitarios.

Agradezco a toda mi familia, en especial a mi esposo Xavier, mis padres Rebeca y Oswaldo, por el apoyo en el trayecto de mi educación, de igual forma agradezco a mis hermanos y sobrinos por acompañarme en todos los momentos, siempre dándome ánimos para seguir adelante.

Finalmente, agradezco a la Universidad Técnica de Cotopaxi por haberme abierto sus puertas y permitirme una educación de calidad, a todos mis docentes, quienes me guiaron en mi formación académica y en especial a mi tutor por su apoyo y colaboración en el desarrollo de mi proyecto de investigación.

Mayra Cleofe Coronel Acuña

DEDICATORIA

Alisson Camila Tapia Coronel, hija eres mi orgullo y mi gran motivación, libras mi mente de todas las adversidades que se presentan, y me impulsas a cada día superarme en la carrera de ofrecerte siempre lo mejor. No es fácil, eso lo sé, pero tal vez si no te tuviera, no habría logrado tantas cosas, tal vez mi vida sería un desastre sin ti. Le agradezco a mi Padre Santo por ponerme en frente este hermoso ser, que me ha enseñado muchas sabias lecciones para la vida, es por eso que este proyecto va dedicado para ti mi niña linda te amo.

Mayra

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “APLICACIÓN DE GnRH EN INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS”.

AUTOR: Coronel Acuña Mayra Cleofe

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Centro Experimental Salache, Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia Cotopaxi, con el objetivo de evaluar la aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas cuyos factores de estudio fueron recuento folicular, medidas de diámetro folicular, valoración ecográfica del útero, niveles de estrógeno y progesterona, número de animales preñados, dosis de GnRH, obteniendo como resultados un máximo de 8 folículos con un promedio de 7.5 mm en la aplicación de 1.5 ml de GnRH. En lo referente a los niveles de estrógeno presenta un promedio de 36.5 pg/ml a 0 ml dosis y 23.4 pg/ml a dosis de 1.5 ml, en relación a la progesterona se obtiene 0.15 ng/ml con 0 ml y 0.09 ng/ml con dosis de 1.5 ml, de las mismas que se obtiene en el T2 un 100% de preñez. Concluyendo que no existe diferencia en el diámetro folicular y si en el número de folículos en los niveles de estrógenos y progesterona existe diferencia de sus niveles por la misma dinámica hormonal en su estado de gestación. En forma general en la investigación se alcanza un 75% de preñez, por tanto, se debe utilizar 1 ml o 1.5 ml del inductor de ovulación ya que así se tiene porcentajes ideales y aceptables en la ovulación.

Palabras Clave: Ovulación, GnRH, folículo, estrógeno, progesterona

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: “GnRH APPLICATION IN OVULATION INDUCTION FOR ARTIFICIAL INSEMINATION OF ALPACAS”

AUTHOR: Coronel Acuña Mayra Cleofe

ABSTRACT

This research was carried out at the Salache Experimental Center, Eloy Alfaro Parish, Latacunga Canton, Cotopaxi Province, with the objective of evaluating the application of GnRH in ovulation induction for artificial insemination of alpacas whose study factors were follicular count, measurements of follicular diameter, ultrasound evaluation of the uterus, estrogen and progesterone levels, number of pregnant animals, GnRH dose, obtaining as a result a maximum of 8 follicles with an average of 7.5 mm in the application of 1.5 ml of GnRH. Regarding estrogen levels, it presents an average of 36.5 pg / ml at 0 ml doses and 23.4 pg / ml at 1.5 ml doses, in relation to progesterone, 0.15 ng / ml is obtained with 0 ml and 0.09 ng / ml with doses of 1.5 ml, of the same ones that a 100% pregnancy is obtained in T2. Concluding that there is no difference in the follicular diameter and if in the number of follicles in the levels of estrogens and progesterone there is a difference in their levels due to the same hormonal dynamics in their state of pregnancy. In general, in the research, a 75% pregnancy is reached, therefore, 1 ml or 1.5 ml of the ovulation inducer should be used since this way there are ideal and acceptable percentages in ovulation.

Keywords: Ovulation, GnRH, follicle, estrogen, progesterone.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3
4.1 Beneficiarios Directos:	3
4.2 Beneficiarios Indirectos	3
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:	3
6. OBJETIVOS:	4
6.1 General	4
6.2 Específicos	4
7. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	4
7.1 Reproducción de los camélidos	4
7.1.1 Particularidades en la reproducción de la hembra	5
7.2 Anatomía reproductiva de los camélidos sudamericanos (CSA)	6
7.2.1 Hembra	6
7.2.2 Macho	7
7.3 Fisiología reproductiva de los camélidos sudamericanos	8
7.3.1 La pubertad	9
7.4 Dinámica folicular	11
7.5 Inducción a la ovulación	12
7.6 Medición del diámetro folicular	14
7.7 GnRH en la ovulación	15
7.8 Métodos de colección de semen	16

7.8.1 Colección de Semen por Aspiración Vaginal	16
7.8.2 Vagina Artificial	16
7.8.3 Electro eyaculación	16
7.9 Determinación de la calidad seminal.....	17
7.9.1 Examen macroscópico.....	17
7.9.2 Examen microscópico	18
7.10 Selección de animales para reproducción	19
7.10.1 Selección de machos	19
7.10.2 Selección de hembras	20
7.12 Chequeo ginecológico para detectar preñez en alpacas	22
8. HIPÓTESIS	23
9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	23
9.1 Localización.....	23
9.2 RECURSOS Y MATERIALES	23
9.2.1 RECURSOS	23
9.2.2 Materiales de campo	24
9.2.3 Materiales de Oficina.....	24
9.2.4 Materiales de laboratorio	24
9.3 METODOS.....	25
9.3.1 Factores en estudio.....	25
9.3.2 Análisis de la información.....	25
9.4 METODOLOGÍA	25
9.4.1 Información primaria	26
9.4.2 Información secundaria	26
9.4.3 Sondeo	26
9.4.4 Muestra.....	26
9.4.5 Descripción de datos utilizados en la investigación.....	26
9.4.6 Variables	27
9.5 METODOLOGÍA DE CAMPO.....	27
9.6 Diseño experimental.....	29
10. ANÁLISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	29
10.1 Relacionar el efecto de la aplicación de GnRH externo en el diámetro folicular.	29
Tabla 1: GnRH vs número y medida de folículos.....	30
10.2 Valorar la tasa de ovulación cuando se aplica GnRH.	30

Tabla 2: GnRH vs niveles de estrógeno y progesterona, grosor del endometrio y % de ovulación	31
10.3 Determinar la tasa de concepción en alpacas inseminadas con semen fresco.	31
Tabla 3: GnRH vs porcentaje de preñez	31
11. IMPACTOS	31
11.1 Impacto Técnico	31
11.2 Impacto Ambiental.....	32
11.3 Impacto Económico.....	32
11.4 Impacto Social	32
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	33
12.1 Conclusiones.....	33
12.2 Recomendaciones	33
13. BIBLIOGRAFÍA.....	34
17 ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: GnRH vs número y medida de folículos	30
Tabla 2: GnRH vs niveles de estrógeno y progesterona, grosor del endometrio y % de ovulación	31
Tabla 3: GnRH vs porcentaje de preñez.....	31

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Curriculum vitae - Alumno.....	43
Anexo 2. Curriculum vitae – Tutor.....	44
Anexo 3 Formación de grupos e identificación	45
Anexo 4 Extracción de semen con electroeyaculador.....	45
Anexo 5 Análisis de volumen, motilidad y concentración espermática.....	46
Anexo 6 Aplicación de GnRH e Inseminación Artificial.....	46
Anexo 7 Medición de folículos y Diagnóstico de gestación.....	47
Anexo 8 Resultados de análisis de estrógenos y progesterona	47
Anexo No. 9. Aval del Traductor.....	48

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas.

Fecha de inicio: 09 de diciembre del 2020

Fecha de finalización: agosto 2021

Lugar de ejecución: SALACHE CEASA

Unidad Académica que auspicia

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Mejoramiento Genético de alpacas en el CEASA

Equipo de Trabajo:

Mayra Cleofe Coronel Acuña (Anexo 1)

Dr. Alonso Chicaiza, Mg. (Anexo 2)

Área de Conocimiento:

Agricultura, silvicultura y pesca

Sub Área:

64 Veterinaria

Línea de investigación:

Análisis, Conservación y Aprovechamiento de la Biodiversidad Local.

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Fisiología Animal y Reproducción

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El Ecuador ha iniciado con el estudio de la reproducción de camélidos sudamericanos, tomando en cuenta la conducta del macho que muestra una actitud agresiva durante el apareamiento esto dificulta una eficiencia en la reproducción con una característica especial que es el tiempo prolongado de cópula, la eyaculación intracervical y continua, la extrema viscosidad del semen, la conducta de la hembra y de los machos que pelean entre ellos con la finalidad de hacer valer y respetar su dominio, sin embargo, desde las universidades presentan trabajos de grado basados en teorías y protocolos de estudios realizados en otros países especialmente en Perú.

La Inseminación Artificial (IA) se realiza pocas horas de la inducción de la ovulación con la debida asepsia y con semen diluido tomando como instrumento una pipeta de inseminación dirigida hacia el útero, las características del semen dependerán del método de colección tanto como la motilidad y el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos. La inducción de la ovulación es una etapa crítica en el proceso reproductivo, por tanto, estos protocolos son objeto de investigaciones durante mucho tiempo.

En los camélidos el celo no se manifiesta de manera cíclica repetitiva y predecible, la fase folicular no termina en la ovulación y no existe la fase luteal que determina el correcto ritmo de eventos, la liberación de la hormona ovuladora LH por la hipófisis anterior a la circulación sanguínea es normalmente producida por la cópula a través de las vías neurales produciendo la receptividad de la hembra. Por tanto, se propone la aplicación de la GnRH exógena para estimular la inducción en la hembra, antes de la inseminación artificial, por ende, se aplicará esta herramienta reproductiva después de la inducción a la ovulación.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Las especies de ovulación inducida como los camélidos sudamericanos, necesitan un estímulo para la ovulación que generalmente es la cópula, donde luego de causar la liberación de la hormona luteinizante da lugar a la ovulación. Sin embargo, esta no es la única manera para inducir ovulación, también se ha reportado el uso de hormonas como la GnRH que mejoren la posibilidad de alcanzar mayores diámetros de los folículos (1). Se justifica este trabajo de gran importancia ya que se busca optimizar el aspecto reproductivo, desarrollo de las técnicas de biotecnologías reproductivas y también por beneficio económico. La inseminación artificial en alpacas con semen colectado es muy importante ya que contribuye a incrementar los porcentajes de concepción y natalidad.

Los primeros trabajos de colección de semen en camélidos se realizaron con el uso de fundas vaginales luego con vagina artificial que tiene que ser mantenida a temperatura corporal de la hembra con el apoyo de una frazadilla eléctrica para permitir que el macho no interrumpa la cópula y también se puede utilizar el electroeyaculador.

La inseminación artificial es una técnica reproductiva ampliamente utilizada en diversas especies domésticas, donde el semen previamente procesado es depositado en el aparato reproductor de la hembra. El uso y ventajas de esta técnica se aprecian más en el desarrollo de la industria vacuna, los trabajos de IA en camélidos sudamericanos (CSA) son escasos, debido a que la colección de semen es laboriosa por el tipo y duración de la cópula.

Por varios trabajos investigativos realizados especialmente en el Perú y pocos trabajos en Ecuador por algunos autores, se propone un manejo reproductivo denominado inseminación artificial con inducción de la ovulación como estrategia de técnica de inseminación y la transferencia de tecnología a las productoras de la Provincia de Cotopaxi y el País.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1 Beneficiarios Directos:

- Docentes y estudiantes del Campus Salache.
- El investigador principal del proyecto, requisito previo a la obtención del Título en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

4.2 Beneficiarios Indirectos

- Productores de alpacas de la provincia de Cotopaxi.
- Estudiantes de la Carrera de Medicina Veterinaria.

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

En Latinoamérica los trabajos de reproducción asistida en los camélidos sudamericanos han tenido un avance significativo especialmente en Perú, Chile, Bolivia y Argentina lo que no sucede en Ecuador donde no existe estudios ni reportes aplicados en este tema.

Las alpacas son animales con una conducta reproductiva diferente por la cual no es aprovechado al máximo las bondades de esta especie por la falta de conocimientos de estos animales, dificultando el adecuado manejo reproductivo, sobre todo la inseminación artificial en vista que los Camélidos Sudamericanos son animales de ovulación inducida por la cópula.

Esto implica que los machos tengan un trabajo sexual intenso durante los primeros días del empadre, la inseminación artificial constituye la principal herramienta para la diseminación de genes de alta calidad; sin embargo, en camélidos sudamericanos se limita a la utilización de semen fresco y semen refrigerado presentando resultados muy variables; una de las posibles causas de esta variabilidad podría ser la utilización de semen viable.

En camélidos, una limitante en el desarrollo de la inseminación artificial es la dificultad para la colección y conservación de semen. El tiempo prolongado y la posición adoptada por la hembra durante la cópula son factores que dificultan el desarrollo de protocolos de colección de semen (2).

6. OBJETIVOS:

6.1 General

- Evaluar la aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas.

6.2 Específicos

- Comparar el efecto de la aplicación de GnRH externo en el diámetro folicular.
- Valorar la tasa de ovulación cuando se aplica GnRH, para determinar la fertilidad.
- Determinar la tasa de concepción de las alpacas inseminadas con semen fresco, para él hasta alcanzar el término de preñez.

7. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

7.1 Reproducción de los camélidos

Los Camélidos Sudamericanos presentan una serie de características biológicas, que los diferencian del resto de los mamíferos, que les permiten adaptarse a ecosistemas áridos y a la altura. La fisiología cardiovascular y respiratoria presenta condiciones propias, que permite enfrentar situaciones extremas, compensando eficazmente la hipoxia a la que están sometidos,

tienen el mismo gasto cardíaco que los animales ubicados a nivel del mar, sin embargo su frecuencia cardíaca es menor; disponiendo además de una gran superficie de intercambio y transporte de gases, Por otra parte, los camélidos poseen glóbulos rojos elípticos y de pequeño tamaño y no circulares como los demás mamíferos, presentando un elevado recuento de células rojas totales con una vida media de 60 días, es decir, la mitad del tiempo estimado para el glóbulo rojo humano (3).

Diversos estudios han confirmado el importante rol de la nutrición en el inicio de la pubertad, señalándose que una inadecuada nutrición resulta en un retraso de la pubertad, por un efecto atribuido a una deficiente secreción de la Hormona Luteinizante (LH) derivada de la inadecuada secreción de la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH). Una reproducción eficiente es el resultado de complejos e integrados procesos anatómicos, desarrollo, fisiológicos y conductuales (4).

7.1.1 Particularidades en la reproducción de la hembra

La reproducción es fundamental para determinar el número de unidades productivas por cada hembra en el rebaño, de ella depende el grado de progreso genético en términos de intervalo generacional en donde los problemas reproductivos en los sistemas reproductivos de un sexo a otro, en ambos sexos existen los órganos sexuales primarios y los centros regulatorios primarios, el estudio de la fisiología reproductiva debe por tanto enfocarse desde diferentes puntos de vista, todos los cuales presentan altos grados de complejidad (5).

Los camélidos sudamericanos tienen características especiales como: temperamento, sociables, tranquilas, se comunican por medio de sonidos cortos cuando están juntos, en peligro y durante el empadre emiten un sonido especial. En situación de agresividad voltean las orejas hacia atrás y levantan la cara y la cola, especialmente los machos durante la época de celo. Si se les molesta su característica es patear y escupir saliva fétida. Son longevos, rústicos y se adaptan hasta los 5000 msnm (6).

En ausencia de macho, la actividad ovárica ocurre en ondas de crecimiento y regresión folicular. Si no son servidas, pueden permanecer en celo por periodos de hasta 35 - 40 días. También resulta peculiar la corta sobrevivencia del cuerpo lúteo en animales vacíos y el transitorio descenso y posterior restablecimiento de las concentraciones plasmáticas de progesterona a partir de los días 8 - 10 postservicio en llamas y alpacas preñadas, en asociación con intensa liberación de PGF₂. Las elevadas tasas de mortalidad embrionaria y la baja eficiencia reproductiva

condicionan la eficiencia y rentabilidad de los sistemas, es particular en su hábitat natural. Estas y muchas otras particularidades determinan la necesidad de profundizar en el conocimiento de la fisiología reproductiva de la especie (7).

7.2 Anatomía reproductiva de los camélidos sudamericanos (CSA)

7.2.1 Hembra

Existen descripciones generales acerca de la anatomía macroscópica del aparato reproductor femenino, dispone de una mención descriptiva en sentido cuando craneal así mismo, se tiene un cuadro de medidas de las diferentes estructuras macroscópicas que componen el aparato reproductor, presentan el cuerno uterino izquierdo más irrigado, y que hay una cierta similitud con el canino y el camello sobre el patrón de origen de las arterias que irrigan al útero (8).

7.2.1.1 Anatomía de la alpaca hembra.

Está constituido por vulva, vagina, cérvix, útero, ovarios iniciando desde, la vulva de las aplacas posee una hendidura con dirección oblicua ventro caudal de 2,5 cm de longitud, los labios vulvares son poco prominentes con borde redondeado generalmente pigmentados y escasa presencia de pelos, la comisura labial dorsal es redondeada y se encuentra a 2,5 cm de del ano, la comisura labial ventral es aguda y termina en una corta proyección cónica (9).

La vagina de la alpaca es un órgano muscular compuesto por tres capas: mucosa, muscular y adventicia; revestida por epitelio estratificado plano no queratinizado. Los cambios hormonales tienen efecto sobre el epitelio que ocasionan muerte y descamación de las células de las capas superficiales. Los cambios en la estructura histológica de la vagina, que incluyen el aumento de la irrigación sanguínea, se deben a la edad y el número de partos del animal (10).

El cérvix es una estructura corta y dura que actúa como entrada y salida del útero, se dilata para recibir el semen del macho y permitir la salida de la cría en el momento del alumbramiento, el resto del tiempo se mantiene cerrado para evitar que ingresen agentes contaminantes al útero (11).

El útero consiste en dos cuernos donde desembocan los oviductos, el cuerpo tiene una marcada bifurcación de los cuernos y cuando está en relajación tiene una forma característica de T. Desde la bifurcación a la extremidad distal, el cuerno izquierdo mide $7,9 \pm 1,3$ cm y el derecho $7,4 \pm 0,9$ cm. Internamente está compuesto de una pared medial, o velo uterino, de aproximadamente 2 cm de largo, el que divide ambos cuernos. El cuerpo uterino es pequeño y mide 1,5 cm de

largo por 2 cm de ancho (12). En las alpacas y llamas el cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho, ésta diferencia era atribuida al hecho de que del 95 al 98,4 % de las gestaciones ocurren en el cuerno uterino izquierdo (13).

Los oviductos son dos conductos delgados y tortuosos, de 15 a 20 cm de longitud, que comunican la superficie del ovario con el útero, cada oviducto se une a un cuerno uterino a través de un estrecho orificio que forma una papila protuberante denominada istmo, que actúa como un esfínter con la finalidad de evitar movimientos retrógrados de los fluidos existentes en el útero. Varias son las funciones, pero se destaca la captación del óvulo que proviene del ovario, transporte y almacenamiento de los espermatozoides depositados en el útero, proveer un microambiente adecuado para la fecundación y el desarrollo embrionario (14).

El ovario de una hembra sexualmente madura tiene una superficie irregular, con surcos, grietas, depresiones son cicatrices de folículos maduros que llegaron aocular, relieves semiesféricos de los folículos maduros, quistes foliculares llenos de líquido. Los ovarios presentan dos zonas bien definidas: la corteza y una zona central o medular, en la corteza se reconocen folículos ováricos en diferentes estadios de desarrollo, a nivel de la médula es notoria la presencia de vasos sanguíneos, sistema linfático y nervioso. (15)

7.2.2 Macho

En camélidos machos existe la presencia de adherencias pene-prepuciales (fenómeno normal en el macho inmaduro) que impiden una cópula eficiente. liberado de estas adherencias, a los dos años el porcentaje alcanza al 70%, llegando al 100% a los 3 años. Al alcanzar el macho un 70% del peso adulto se produciría un incremento en los niveles de testos-terona y se liberarían las adherencias pene prepuciales (14 meses de edad en promedio). La madurez del sistema reproductivo comienza a producirse a partir de los 12 meses de edad en la alpaca (presencia de espermatozoides, maduración de células de Leydig testiculares, etc.) (16).

7.2.2.1 Anatomía de la alpaca macho.

Los testículos son los principales órganos de la reproducción de los machos puesto que producen gametos masculinos (espermatozoides) y hormonas sexuales masculinos (andrógenos). Están localizados en un escroto, formando una protuberancia sub anal, la orientación es caudodorsal, craneoventral, ambos testículos son elípticos, similares en tamaño, turgente a la palpación y se mueve libremente en el escroto. El testículo de alpaca adulto mide aproximadamente de 4-5 cm de longitud por 2,5 – 3,0 cm de ancho y pesa 15-18. Los túbulos

seminíferos tienen un diámetro de 174- 237 μm . y la producción de espermatozoides es correlacionado con el tamaño testicular, los túbulos seminíferos y la cola del epidídimo son distendidos con espermatozoides y fluido dando tono y resistencia a la palpación, estas características o excesiva firmeza sugiere anormalidades testiculares y función del epidídimo (17).

El prepucio tiene forma triangular, morfológicamente está aplanado de lado a lado, es no pendular y se sitúa en la línea media de la región inguinal, ubicado a 15 cm en dirección caudal al ombligo, posee músculos bien desarrollados (músculos prepuciales laterales, prepuciales craneal y caudal) que pueden orientar al prepucio hacia delante para la erección y hacia atrás para orinar (18).

Las glándulas anexas la próstata tiene forma de H; se encuentra en posición dorso lateral de la uretra, cerca del triángulo vesical y descansa dorsal y lateralmente sobre el cuello de la vejiga. Las dos glándulas bulbouretrales son ovoides y situadas lateralmente sobre la uretra, a nivel de la porción pélvica terminal, a la altura de la raíz del pene y a una distancia de 7 u 8 cm tras la próstata el diámetro es de 1 cm en la alpaca, y cada una de ellas está parcialmente recubierta por el músculo bulbocavernoso. Los camélidos sudamericanos no presentan vesículas seminales (19).

El pene la raíz del pene se ubica a la altura de la tuberosidad isquiática en el punto donde se incorpora la uretra, se dirige por la región de la ingle hacia adelante y presenta la flexura sigmoidea o S peniana, por debajo de la tuberosidad isquiática y termina en un prepucio péndulo con una posición retroflexa (apunta hacia atrás). Esta característica es típica de los camélidos y la forma del glande del pene, que tiene una estructura cartilaginosa con una ligera rotación hacia la derecha, donde desemboca la uretra (20). En la alpaca adulta, la adherencia pene-prepucial desaparece a los tres años esta condición limita el inicio más temprano de la actividad reproductiva del macho, sin embargo, existe la presentación de libido sexual en algunos machos de un año de edad (21).

7.3 Fisiología reproductiva de los camélidos sudamericanos

El mecanismo fisiológico regido por el sistema nervioso central (SNC), que regula la iniciación mediante la síntesis y secreción en el hipotálamo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Durante la etapa prepúber, la secreción de GnRH está bloqueada como consecuencia de la sensibilidad del hipotálamo frente al efecto inhibitor (retroalimentación negativa)

originado por la baja concentración de estrógenos que secreta el ovario prepúber. Para que se inicie la pubertad en las hembras, es necesaria la disminución gradual en la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa provocada por las bajas concentraciones de estrógenos, el hipotálamo comienza a secretar GnRH, que estimula la liberación de la hormona foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) permitiendo a los folículos avanzar de la fase de folículo preantral y transformarse en folículo antral. Este efecto positivo estimula la secreción del pico de LH necesario para desencadenar la ovulación y luteinización folicular, y la actividad cíclica ovárica. La retroalimentación positiva se establece gradualmente durante el periodo de transición de la pubertad (4).

7.3.1 La pubertad

Resulta de importancia conocer el momento de iniciación de la pubertad. Esto se puede dividir en dos fases: la primera cuando se inicia el cortejo y puede ser seguido de intentos de cópula con hembras en celo, pero sin intromisión y la segunda es ya cuando el macho está en condiciones de realizar una cópula completa, además de su madurez fisiológica, debe tener liberado el pene del prepucio completamente, esta separación está mediada por niveles de testosterona. En general se estima que cuando el macho llega al 70 % del peso corporal adulto se ha completado su desarrollo fisiológico y anatómico y ya está en la pubertad. El tamaño testicular es un signo mensurable que se relaciona tanto con la aparición de la pubertad como con la fertilidad del macho. Aproximadamente un tamaño de 3.5-4 cm de largo significa desarrollo y aparición de la pubertad, como así mismo la tonicidad de los testículos (22).

La pubertad es el proceso por el cual el animal adquiere su capacidad reproductiva. Su aparición depende de la habilidad de neuronas hipotalámicas específicas para producir GnRH en suficientes cantidades para promover y mantener la gametogénesis. La hormona responsable del inicio de la actividad ovárica es la hormona luteinizante (LH). En el estadio prepuberal los pulsos de la LH son similares a los adultos en cuanto a su amplitud, pero mucho más bajo en su frecuencia. Como consecuencia, el crecimiento folicular es insuficiente para activar el pico preovulatorio de LH y no ocurre la ovulación (23).

La mayoría de alpacas hembras son sexualmente receptivas a los 12-14 meses de edad, a pesar que la actividad ovárica comienza a los 10 meses, con el crecimiento de folículos ováricos de 5 mm o más de diámetro, alcanzando tasas de ovulación y fecundaciones similares a las hembras adultas, además una práctica generalizada de las comunidades campesinas es empezar con el empadre a la edad de 2 años en alpacas (24).

Las alpacas tienen la capacidad de reproducirse desde el año de edad, afectan varios factores como la alimentación y la fecha de nacimiento que pueden alterar esta manifestación. El peso vivo y la edad influyen en los porcentajes de ovulación, fertilidad y natalidad, los cuales se incrementan cuando se sobrepasan los 33 kilos de peso vivo. Con los actuales sistemas de alimentación y crianza, solo el 50 % de las alpacas primerizas alcanzan un peso superior a los 33 kg al momento del empadre, que se efectúa cuando las hembras tienen 12 meses de edad, se puede mejorar con manejo adecuado, por cada kilogramo de incremento de peso corporal se puede incrementar 5% en el porcentaje de natalidad (4).

La secreción cíclica de FSH en espacios de 5-6 días de niveles altos y 5-6 días de niveles basales, determina el desarrollo folicular dentro del ciclo ovárico de una hembra. El pico de FSH coincide con el estado máximo de desarrollo folicular (10-12 mm). El ciclo folicular dura en un 59% de los casos: 16-18 días, 21% entre 18-21 días y el 12% entre 21-23 días. Y sucesivamente se van desarrollando folículos que van reemplazando a los anteriores en la producción de niveles de estrógenos lo suficientemente altos para mantener la receptividad en forma permanente. Sin embargo, hay casos en que se produce rechazo al macho en el punto de transición de un ciclo al otro. Esta ausencia de receptividad es de solo 1-2 días, en la curva de desarrollo folicular que el tamaño máximo está alrededor de 10 mm, donde si recibe estímulo coital puede llegar a ovular y si no se atrofia (22).

Los camélidos sudamericanos no presentan un patrón continuo del ciclo estral como en otras especies de producción, en su efecto, muestran períodos prolongados de receptividad sexual, donde la hembra acepta al macho y se efectúa la monta y cópula. En los CSA la ovulación no ocurre espontáneamente, sino que es inducida por el acto de la cópula, a medida que los folículos se desarrollan la hembra se vuelve sexualmente receptiva, en la dinámica folicular existe varios folículos pequeños en el ovario y que generalmente solo uno madura (folículo de Graaf) y permanece en ese estado por 10 a 12 días, si durante ese período ocurre la cópula con la consecuente ovulación; existe evidencia que las hembras ovulan en respuesta a la presencia del macho (sensaciones visuales, olfativas y auditivas) sin que ocurra la monta. Si no se produce la cópula existe la regresión del folículo, pero normalmente otro folículo ya está madurando (frecuentemente en el ovario opuesto), lo que resulta en períodos casi continuos de receptividad sexual de hasta 36 días (25).

Se considera que la hembra que recibe servicio ovula y de esa manera se presenta una leve modificación del ciclo ovárico, si se produce la cópula, aproximadamente entre 1,5-2 horas

post-coito se produce un pico de LH, la cópula a través del semen produce liberación de LH, la cual vuelve a sus niveles basales a las 5-7 horas post-coito. En el ovario donde se produce la ovulación continúa con el desarrollo de un cuerpo lúteo en el mismo sitio que ocupaba el folículo que ovuló, el cuerpo lúteo empieza a desarrollarse a partir del tercer día y se secreta la progesterona (P4) que tiene la función de preparar el aparato reproductor para recibir una probable gestación, la interrupción del ciclo ovárico a través de un "feed back" negativo sobre hipotálamo e hipófisis. Esta hormona llega a su máximo nivel 8-11 días post-coito en coincidencia con el máximo desarrollo del cuerpo lúteo. A partir del día 12-13, si no hubo fecundación empieza la regresión del cuerpo lúteo, disminuye su tamaño hasta el día 18, el nivel de P4 baja y un nuevo ciclo se inicia. Pueden pasar dos cosas: la hembra no queda preñada ya sea por falla en la fecundación o se produjo una reabsorción embrionaria, o efectivamente hay un embrión nadando en la leche uterina y en ese caso el cuerpo lúteo continúa desarrollándose y los niveles de progesterona aumentan. El día 21 aproximadamente se produce la fijación del embrión (22).

7.4 Dinámica folicular

La dinámica folicular (DF) ocurre en forma de ondas, siendo descritas dos o tres ondas de crecimiento folicular (CF) durante el ciclo estral. Las ondas foliculares se observan durante el ciclo estral (CE), pero pueden también presentarse previas a la pubertad, durante la gestación y durante el periodo postparto. En CE de dos ondas, la primera onda emerge el d 2 del ciclo y la segunda onda el d 11, siendo el intervalo entre emergencia de las ondas de 9 d. En ciclos de 3 ondas, las mismas emergen los d 2, 9 y 16 del ciclo con intervalos entre ondas de 7 d. La concentración de P4 en plasma influye sobre el número de ondas foliculares durante el CE, por lo que ciclos de tres ondas tienen la fase luteal más larga, y por ende intervalos inter estrales más largos, en comparación con ciclos de dos ondas de CF (26).

Las alpacas presentan ondas de desarrollo folicular ovárico y son de ovulación inducida, por lo tanto, no presentan ciclos de celo con ovulación de manera espontánea. Las ondas foliculares del ovario se ha confirmado la falta de consistencia en la información sobre la dinámica de la onda folicular ovárica en alpacas, esto nos conlleva a seguir investigando. Siendo necesario conocer estos eventos fisiológicos en sus diferentes fases de desarrollo del folículo en las alpacas, para luego desarrollar protocolos para controlar el estado folicular ovárico y posteriormente poder manipular y aplicar las diferentes técnicas reproductivas eficientemente (27).

En alpacas se presentan ondas de desarrollo folicular ovárico y son de ovulación inducida, por lo tanto, no presentan periodos de celo con ovulación de manera espontánea como sucede en ovinos y vacunos. Siendo necesario conocer estos eventos fisiológicos en las diferentes fases de desarrollo del folículo en las alpacas; emplear protocolos para controlar el estado folicular ovárico, manipular y aplicar las diferentes técnicas reproductivas. (28).

El hipotálamo es un órgano que produce neurosecreciones con ayuda de hormonas liberadoras e inhibitoras de la liberación, rige la secreción de las hormonas adenohipofisarias. En el hipotálamo las células neuronales parvocelulares producen GnRH, la cual es secretada en forma pulsátil, regulando, controlando la liberación y secreción de hormonas gonadotróficas como FSH y LH de la hipófisis, que son responsables del control de la actividad ovárica, de la secreción de hormonas esteroides y la ovulación (29).

La acción principal de la secreción de LH es la inducción de la ovulación, una vez ocurrido esto las células del folículo ovulatorio se luteinizan y se inicia la secreción de progesterona, que tiene un efecto de retroalimentación negativa en el hipotálamo, al evitar la secreción de GnRH y desensibilizar a los gonadotrófos a la acción de la GnRH. La retroalimentación positiva de la cascada de oxitocina desde el cuerpo lúteo al útero y de la prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) desde el útero al cuerpo lúteo sirve como un mecanismo que asegura la luteolisis, donde los niveles de progesterona decrecen junto con el efecto inhibitorio de la progesterona sobre el hipotálamo y la hipófisis permitiendo el reinicio de los niveles de GnRH para continuar con un nuevo ciclo (30).

7.5 Inducción a la ovulación

En los camélidos se diferencia 4 regiones anatómicas de caudal a craneal: infundíbulo, ampolla o ámpula, istmo y unión útero-tubal (UUT) que termina en el útero formando una papila, tiene un esfínter muscular que protruye dentro del cuerno uterino. En la ultra estructura, se observa que tanto el oviducto de llama como de vicuña poseen un epitelio pseudoestratificado con células ciliadas y secretoras. Las células secretoras poseen abundantes microvellosidades (31).

Se estudió la formación de reservorios espermáticos por la adhesión de espermatozoides a la mucosa oviductal. Se observaron espermatozoides en contacto con el epitelio de la UUT a las 6, 18, 24 y 28 hs post-cópula, atrapados en una sustancia distribuida en parches sobre la mucosa, 35 horas después de la cópula no se encontraron espermatozoides en contacto con la mucosa. En istmo no se detectaron espermatozoides adheridos; es muy probable que la interacción

oviducto-espermatozoides sea importante para proteger la integridad de las membranas impidiendo la capacitación y la reacción acrosómica. De esa forma podrán esperar hasta la ovulación, momento en que por otro mecanismo aún desconocido se desvincularían de la mucosa para ascender hasta el ampulla y fertilizar el ovocito (31).

Muchas teorías mencionan que las especies de ovulación espontánea evolucionaron de las de ovulación inducida, otras hipótesis sugieren que la ovulación inducida evolucionó en ciertas especies como alternativa de asegurar la conservación a través de un estado de receptividad constante que permite la máxima posibilidad de concebir cuando está sometido a condiciones medioambientales extremas, posiblemente podría ser el caso de los camélidos, quienes se originaron en América del Norte, pero se vieron obligados a cruzar el Estrecho de Bering durante la última glaciación (32).

En todas estas especies, la fase folicular se caracteriza por el reclutamiento de varios folículos de los cuales solo uno se convierte en el dominante e inhibe a los folículos restantes y crece, en el caso de los ovuladores espontáneos llegará a ovular; en el caso de los ovuladores inducidos, en los cuales de no haber el estímulo de la monta no se producirá la ovulación y el folículo dominante entrará en regresión (33).

En Camélidos Sudamericanos se produce la ovulación si existe un folículo dominante de 7 mm o mayor al momento del coito, si los folículos son más pequeños de 6 mm o se encuentran en fase de regresión la ovulación no se produce; durante la fase luteal, las hembras no son receptivas al macho, pero si no hay preñez se produce la luteolisis (34).

La existencia de la proteína denominada “Factor Inductor de Ovulación” (FIO) que se encuentra presente en el plasma seminal de los camélidos, con capacidad de inducir ovulación ha generado muchas interrogantes sobre el mecanismo de acción. Se ha determinado que la aplicación intramuscular de plasma seminal estimula un potente efecto luteotrópico en alpacas y llamas e induce una tasa de ovulación del 100%, lo cual lleva a la formación de un cuerpo lúteo de mayor tamaño con secreción de progesterona superior en comparación con animales que fueron inducidos la ovulación con GnRH. Estos estudios fueron realizados midiendo las concentraciones de LH plasmática y se observó la vascularización formada en el cuerpo lúteo posterior a la ovulación (23).

El FIO es una proteína presente en el plasma seminal de llama que se ha identificado recientemente como factor de crecimiento del nervio β (NGF) e induce no solo una alta tasa de ovulación, sino que también parece tener propiedades luteotróficas en esta especie (35).

7.6 Medición del diámetro folicular

La Medición de volúmenes Automatizado de folículos en técnicas de reproducción asistida para estimar los volúmenes de los folículos ováricos, ofrecen una alta precisión, en la modalidad del modo inverso se colorean cada uno de los folículos de un color diferente y se obtienen de forma inmediata mediciones y volúmenes. De esta manera, un volumen de 1cc. corresponde a un diámetro $> 12\text{mm}$, un volumen de 4cc corresponde a un diámetro $>18-20\text{ mm}$ correspondiendo un volumen de 7cc con un diámetro $> 24\text{mm}$. las medidas automatizadas proporcionan resultados que son al menos tan precisos como las realizadas por un ecografista con experiencia considerable. Muchas de estas limitaciones están en relación con la influencia del Índice de Masa Corporal (IMC) de la paciente sobre la calidad de la imagen, pues la cantidad de tejido adiposo de la paciente afecta a la calidad de la imagen (36).

Los transductores de uso común en ultrasonografía reproductiva en humanos como en otras especies domésticas son los lineales (transrectal) y microconvexos endocavitarios (transvaginal). Ambos tienen la disposición lineal de los cristales piezoeléctricos; sin embargo, los microconvexos se caracterizan por presentar un campo de visión más amplia, además que generan imágenes de mayor calidad. Esta característica de ultrasonografía transvaginal permitiría evaluar eficientemente los fenómenos y comportamientos de la dinámica folicular en llamas (37).

Estudios demuestran que el número de folículos por cohorte se contabilizaron al momento que existía en uno de los ovarios folículos con tamaños entre 2 y 3 mm. Folículos de este tamaño indican, además, el inicio de la fase de reclutamiento y se considera como el día 0 o inicio de la onda folicular. Intervalo interonda: Número de días entre el momento en que se diferencian los folículos reclutados y uno de ellos alcanza 6.5 mm aproximadamente y termina cuando el FD disminuye su diámetro hasta los 5-6 mm. Diámetro máximo del folículo: El diámetro máximo del FD alcanzado durante la onda folicular (en mm). El desarrollo sincrónico de un número determinado de folículos pequeños de 2-3 mm (fase de reclutamiento), continúa cuando uno de ellos aumenta su tamaño de forma diferenciada (fase de desviación folicular) y se hace dominante aumentando su diámetro (fase dominancia), momento en que se hace el registro para

su evaluación. Luego, el folículo comienza una fase de regresión donde disminuye su diámetro hasta alcanzar aproximadamente los 6.5 mm (37).

7.7 GnRH en la ovulación

El hipotálamo forma la base del cerebro, y sus neuronas producen la hormona liberadora de gonadotropina o GnRH; en la eminencia media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisiario y de aquí a las células de la adenohipófisis en donde su función es estimular la síntesis y secreción de las hormonas hipofisiarias, FSH y LH (38).

La GnRH regula la liberación de LH y FSH en células gonadotropas en la adenohipófisis, tanto los estrógenos y la progesterona circulan por el torrente sanguíneo totalmente unidos a las proteínas plasmáticas, la acción principal es estimular los órganos diana del aparato reproductor (39).

El principal mecanismo en la liberación preovulatoria de GnRH en los ovuladores inducidos, incluyendo los conejos, hurones, gatos y camellos; implica la activación de las neuronas noradrenérgicas del cerebro medio y del encéfalo en respuesta a las señales somatosensoriales genitales generadas por la introducción del órgano copulatorio de un macho durante la monta (40).

En alpacas, especie doméstica de ovulación inducida, han sido estudiadas las variaciones de los niveles plasmáticos de FSH y LH, así como la respuesta endocrina normal frente a diferentes estímulos inductores de la ovulación (41).

En los camélidos sudamericanos, se observa el desarrollo de ondas foliculares cíclicas, relacionado con el crecimiento, maduración y atresia del folículo dominante, en alpacas se encontraron que la duración del intervalo interondas depende del tamaño del folículo dominante al momento de la cópula, siendo el promedio de 15.8 – 0.6 días. Las ondas foliculares se dan de manera alternada en ambos ovarios en un 81 %; donde uno de los ovarios presenta folículos de tamaño ovulatorio mientras que en el otro van creciendo otros folículos que rápidamente adquieren el tamaño ovulatorio cuando en el anterior se vuelvan atrésicos, explicándose con esto, los largos periodos de aceptación de la hembra frente al macho. La receptividad se observa cuando el folículo tiene diámetro = 6mm. El crecimiento del folículo dominante está relacionado con la regresión de los folículos subordinados, estando la inhibina relacionada con la inhibición de los folículos pequeños. Si no ocurre la cópula el folículo dominante se atresia

y el nuevo folículo dominante puede ser reconocido 2 a 3 días después de que se da el descenso de tamaño del folículo dominante presente inicialmente (42).

7.8 Métodos de colección de semen

7.8.1 Colección de Semen por Aspiración Vaginal

Según Virgilio Alarcón (43), seleccionó 10 alpacas vacías adultas, con tres semanas postparto, sin infecciones uterinas, y sexualmente receptivas al macho. Cada hembra fue empadrada con un macho entero. La frecuencia de colección de semen fue dos veces por semana y el tiempo de cópula fue 17 ± 6 minutos. Luego de la monta, sujetó y limpió la zona perineal con agua jabonosa, insertó un espéculo vaginal y localizó el hocico de tenca de esta forma el semen fue colectado con el espéculo y depositado en un tubo de vidrio graduado y mantenido a 37 °C.

7.8.2 Vagina Artificial

El maniquí fabricado con un marco de metal semejante a la grupa de llamas y a su vez forrado con cuero de llama para adaptar la vagina artificial de uso en ovinos que funcionó muy bien, se llenó con agua caliente necesaria, la temperatura del agua al armar la vagina fue de 41°C por lo que se considera que se pierde cerca de 3°C hasta colocar la vagina artificial en la frazada térmica, mediante la bomba se puso aire para generar presión (1 bar), se colocó el cono de látex y en su extremo terminal se ubicó el tubo falcon el cual viene graduado en ml, donde se colectó el eyaculado, se cubrió al tubo falcon con papel para mantener la temperatura, luego se procedió a envolver toda la vagina artificial armada con la frazada térmica la cual ya estuvo previamente encendida y caliente; luego para protección se cubrió todo con una franela y se ubicó con ligas y correas de velcro las cuales sujetan y posesiona con mayor seguridad y facilidad todo el paquete en el maniquí de grupa, se utilizó una hembra vacía cíclica para la estimulación de los machos y sobre esta se colocó el maniquí de grupa (44).

7.8.3 Electro eyaculación

Con este método se puede extraer semen de los animales sin previo entrenamiento, es importante para evaluar a los reproductores. Consiste en la aplicación rítmica de un estímulo eléctrico por vía transrectal sobre el sistema nervioso autónomo y somático, que conduce a la obtención de secreciones de las glándulas accesorias y la consecuente eyaculación (45).

Para la colecta de semen por este método implica tranquilizar al animal por vía intravenosa con una mezcla de xylacina, en dosis de 0,2 mg/kg y de ketamina, 1,5 mg/kg. La colección se realiza

con el animal acostado; la sonda del electroeyaculador consta de tres electrodos, la cual es introducida y colocada sobre la próstata, cuya profundidad es evaluada por medio de un transductor ecográfico. La estimulación ocurre mediante impulsos eléctricos de 0,2 voltios inducidos a intervalos de 1 segundo durante 3 segundos; el voltaje se va incrementando progresivamente de 2 a 10 V en 6 a 12 minutos. Este método permitió recolectar semen en el 100% de oportunidades de las 110 tentativas de colección y sin presencia de orina. En esta colección se evita la formación de espuma, como ocurre con la vagina artificial (46).

7.9 Determinación de la calidad seminal

El éxito reproductivo está determinado por una serie de factores entre los que se incluyen la calidad de los gametos masculinos y femeninos, el espermatozoide realiza un largo y aparatoso viaje en búsqueda del óvulo, sin embargo, éste no va sólo, lo acompañan una gran cantidad de componentes que forman el vehículo a través del cual se desplaza; a este conjunto se le denomina semen, el cual es motivo de análisis tanto en laboratorios clínicos como de investigación empleando un elevado número de pruebas. En la actualidad existen diferentes metodologías para evaluar la calidad seminal, siendo la valoración de la movilidad y de la morfología espermática los indicadores comúnmente utilizados en el análisis seminal (47).

Los métodos conocidos que se usan en la comprobación de la calidad seminal y la fertilidad del esperma pueden valorar los procesos vitales (metabolismo o movimiento), así como las características morfológicas y composición química, tanto de los espermatozoides como del plasma seminal (48).

7.9.1 Examen macroscópico

En alpacas existe una variabilidad del volumen del eyaculado entre individuos aún en el mismo individuo de una colecta a otra, encontrándose cifras 0.5 – 2 ml, los machos de 3 a 4 años de edad muestran mayor actividad sexual, así como también varía según el método de colección (48), en el semen es predominante de color blanquecino aunque va desde blanco lechoso a blanco cristalino, puede depender de la concentración espermática y la proporción de la secreción de las glándulas sexuales accesorias (49), se reporta un pH promedio de 7.2 que a pesar de diferencias entre las condiciones de crianza de las alpacas, ésta variable no se afectan en forma significativa (50), la viscosidad del semen se debe a las mucoproteínas secretadas por las glándulas bulbouretrales que constituyen el 80 % del eyaculado, se atribuye al fosfato de espermina y proteínas, estas son secretadas por la glándula prostática (51).

7.9.2 Examen microscópico

Mayorga (52), en su investigación determina la concentración espermática de los grupos en cada colecta que se realizó se obtuvo los valores de 47,5 hasta 80,5 x10⁶/ml, con la siguiente fórmula: Suma de las cuadrículas de la cámara de Neubauer para determinar el promedio de la concentración espermática.

$$C1 + C2 = \frac{?}{2} = X$$

C1= cuadrícula 1

C2= cuadrícula 2

X= promedio

Para calcular la concentración espermática aplicó la siguiente fórmula

$$\text{Concentración} = X * Fd * Ac * Fc$$

Donde: X = Promedio

Fd= Factor de dilución 1:100 (100)

Ac= Atura de la cámara 0.0050 (50)

Fc= Factor de concentración (1000).

La motilidad se ve comprometida por la presencia de viscosidad y filancia, se muestra por medio de la contracción del flagelo y en un solo sitio, como un movimiento oscilatorio, el espermatozoide incrementa su motilidad progresiva cuando el eyaculado se vuelve más líquido; la motilidad masal es un movimiento de superficie que refleja la proporción de espermatozoides que presentan algún tipo de movimiento; la motilidad individual se observa rectilíneo y progresivo, se requiere para un eyaculado un mínimo progresivo de 70%; la observación del movimiento se realiza en tres o cuatro campos, cuyo porcentaje se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Motilidad} = \frac{\text{Espermatozoides móviles}}{\text{Total espermatozoides}} \times 100$$

La lectura se realiza en la siguiente escala:

- 80 % de motilidad = Buena calidad
- 60 % de motilidad = Regular calidad
- 40 % de motilidad = Pobre calidad
- 20 % de motilidad = Muy pobre calidad (53),

En el examen morfológico se puede encontrar anomalías primarias que se refiere a cabeza gigante, microcéfalo, colas enrolladas, colas rotas, cabezas dobles, doble cola, colas torcidas alrededor de la cabeza de los espermatozoides y anomalías secundarias que incluye cabeza suelta o sola, cola sola, colas en gancho, cola doblada, para su determinación en porcentaje, se aplica la siguiente fórmula (54).

$$\% \text{ EPZ. ANORM} = \frac{\text{N}^\circ \text{ Epz. Anormales}}{\text{N}^\circ \text{ Epz. Contados}} \times 100\%$$

$$\% \text{ EPZ. ANORM} = \text{Porcentaje de espermatozoides anormales}$$

7.10 Selección de animales para reproducción

En programas de mejoramiento genético que son a largo plazo se debe ordenar las actividades pertinentes, en algunos países las actividades van en función de los reglamentos y leyes que rigen al país, donde los organismos de control que suelen ser los ministerios de agricultura son los que regulan las actividades de reproducción y mejoramiento genético, las asociaciones y criadores tanto públicas como privadas coadyuvan los programas establecidos, donde los programas en las diferentes especies de producción deben expresar los objetivos, finalidad e intenciones muy bien establecidas (55).

7.10.1 Selección de machos

La población de la majada puede clasificarse según la edad y sexo, para determinar el número adecuado de reproductores, determinado por los registros existentes, movilización de animales tanto de ingreso como de salida.

De los animales seleccionados como superiores divididos en edad se los puede clasificar de la siguiente manera:

- Clase S: Clase Súper. Son aquellos animales libres de defectos congénitos, poseer excelente conformación y uniformidad de rizos en los puntos de visualización: paleta, costillar medio y muslo, densa, excelente finura, sin canas, color blanco entero;
- Clase A: aquellos que cumplen con las características como libre de defecto congénito, poseer buena conformación, pero menor que la clase S, buena uniformidad en los puntos de visualización: paleta, costillar medio y muslo, buena densidad, buena finura, sin canas, color blanco entero;
- Clase B: Libre de defectos congénitos, conformación regular menor que la A, menor densidad, de color blanco entero, poseen canas casi invisibles, uniformidad del vellón, rizos y diámetro de fibra menos uniformes;
- Clase C: Libre de defectos congénitos, color blanco entero, mayor diámetro de fibra que las clases anteriores, menor densidad al tacto los machos son llevados a la majada;
- Clase R: Animales de rechazo, con defectos congénitos, vellón manchado, mala conformación, fibra demasiado gruesa y canosa;
- Clase RV: Animales de rechazo por vejez (56).

Para la selección de los machos como reproductores se debe considerar que desde los 12 meses presenta actividad sexual con 33 Kg de peso, muchos llegan a montar, pero no son efectivos por la adherencia del prepucio al pene esto es condicionado a la falta de secreción de testosterona, a los dos años aproximadamente el 70% ya no tienen adherencias pene-prepucial, a los 3 años de edad el 100% de los animales tienen el pene libre de adherencias y estarían aptos para la reproducción (57).

7.10.2 Selección de hembras

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

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

- Edad: es un aspecto importante para su selección y se considera la edad ideal comprendida entre los 4 a 8 años.
- Estado fisiológico: deben ser sobresalientes dentro de un rebaño, fértiles y con actividad cíclica.

- Sanidad: las hembras deben estar libre de enfermedades, en especial aquellas que afectan la reproducción.
- Condición corporal: es recomendable que se encuentre en una condición corporal ideal de 3,5. La alimentación debe controlarse y corregir las deficiencias nutricionales para cubrir por completo sus requerimientos.
- Fenotipo: las hembras a seleccionar deben reunir las características propias según su raza o aptitud.
- 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 solo a hembras que sean de producción comprobada superior a la media del rebaño.

Las hembras que son seleccionadas, se efectúa un chequeo reproductivo, ginecológico; también ecografía a los ovarios y del útero para ver si está en condiciones de iniciar o continuar con su período reproductivo (58).

7.11 Inseminación artificial

La inseminación artificial (IA) se utiliza principalmente para incrementar la producción de crías de un macho genéticamente superior, puede utilizarse en casos de incapacidad física del macho o la hembra; es una técnica reproductiva ampliamente utilizada en varias especies domésticas, donde el semen previamente procesado es depositado en el aparato reproductor de la hembra en el momento oportuno. Los trabajos de IA en alpacas son escasos, ya que la colección de semen es laboriosa por el tipo y duración de la cópula; en los últimos años se han dado avances importantes en el procesamiento y congelación de semen (59).

La inseminación artificial en camélidos es una técnica que comprende en el macho: la recolección, procesamiento y conservación del semen y en la hembra: la inducción de ovulación y la inseminación propiamente dicha. Los pasos para la inseminación propiamente dicha son: identificación de las hembras, inducción de la ovulación, determinar el tiempo óptimo para la inseminación y el procedimiento de inseminación. Las alpacas producen bajos volúmenes de semen por eyaculación en comparación con especies pequeñas como el ovino o el cerdo. En la práctica común, en los camélidos sudamericanos (CSA) aún se realiza la I.A. como en la vaca, por lo general en forma transcervical. Las experiencias sobre IA presentan tasas de preñez del 73% con semen fresco depositado en los cuernos uterinos y un 67% de preñez a la IA por laparoscopia (60).

En trabajos realizados en llamas en Argentina se colectó semen de 10 machos adultos entrenados, los eyaculados seleccionados para IA tuvieron un volumen de $1,6 \pm 0,8$ ml, concentración de $79,7 \pm 32 \times 10^6$ espermatozoides/ml y motilidad mínima de 30%. Las hembras tratadas con GnRH fueron inseminadas utilizando semen puro o diluido con un diluyente compuesto por TRIS-Ac. cítrico-Fruktosa a 37°C. La dosis promedio para IA fue de $28,9 \pm 18,7 \times 10^6$ espermatozoides y se inseminó a diferentes intervalos pos GnRH: 24, 24 y 48 (doble IA) y 48 hs. Para la IA se utilizó la técnica recto-vaginal con pipeta plástica depositando el semen dentro del cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo ovulatorio (61).

Ordóñez (62), utilizó 7 alpacas machos de raza Huacaya de entre 5 y 8 años de edad para la colección de semen. Para la colecta de semen se realizó por el método de electroeyaculación, para la anestesia general, utilizó ketamina 10% (2,5 ml/100 kgPV) y xilazina 2% (0,2 ml/20 kgPV). En el proceso de colecta se alternaron períodos de estimulación eléctrica y reposo, los eyaculados se produjeron a los 7 voltios.

Identificaron las hembras receptivas a las que se indujo la ovulación con 1 ml de GnRH, 24 horas después se efectuó la inseminación con 0,5 ml de semen fresco, refrigerado o descongelado con una concentración de 10 y 16 millones de espermatozoides por dosis, la inseminación fue vía transvaginal utilizando un espéculo vaginal de uso humano y una fuente de luz (62).

7.12 Chequeo ginecológico para detectar preñez en alpacas

Las alpacas suelen ser dóciles a un examen ecográfico, esta técnica sobre el aparato reproductivo puede hacerse transrectal o transabdominal, generalmente se realiza con el animal retenido de forma manual también en la manga con el animal en posición de pie o de monta. La sonda se introduce en el recto con una mano enguantada y lubricada como en palpación transrectal, en la mayoría de las alpacas adultas sobre todo si son multíparas; en las hembras jóvenes o pequeñas, el espacio pélvico intrarectal es estrecho para la introducción de la mano del examinador para esto se puede utilizar una extensión en la sonda rígida como un tubo PBC de 2,0 a 2.5 cm de diámetro y 40 cm de longitud; previo a introducir la sonda en el recto, debe ser lubricada con gel ecográfico. La ecografía transrectal se realiza con un transductor lineal de 7.5 MHz, y se coloca sobre los cuernos uterinos para determinar la presencia de la vesícula embrionaria confirmando así la preñez (63).

8. HIPÓTESIS

H1: La aplicación de GnRH influye en la inducción de la ovulación para programas en inseminación artificial de alpacas, lo que permitirá mejorar la reproducción asistida de esta especie.

H0: La aplicación de GnRH no influye en la inducción de la ovulación para programas en inseminación artificial de alpacas, lo que no permitirá mejorar la reproducción asistida de esta especie.

9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1 Localización

Característica del lugar experimental.

Ubicación: El lugar de estudio está ubicado en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Eloy Alfaro. CEASA Centro Experimental Académico SALACHE.

Facultad: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera: Medicina Veterinaria

Proyecto: Mejoramiento genético de alpacas

Ubicación

Provincia: Cotopaxi

Cantón: Latacunga

Parroquia: Eloy Alfaro

Altitud: 2850 msnm.

Temperatura Promedio: 16°C

Precipitación anual: 1626 mm.

9.2 RECURSOS Y MATERIALES

9.2.1 RECURSOS

- Tesista

- Transporte
- Registros
- Computadora
- Cámara

9.2.2 Materiales de campo

- Jeringas 5,10,20 ml
- Guantes ginecológicos y de manejo
- Termo de refrigeración
- Catéteres de lavado
- Catéteres de inseminación
- Gel Ecógrafo
- Ecógrafo
- Alcohol
- Diluyente (AndroMed)
- Termómetro
- Sogas
- Vagina artificial de ovino
- Gel lubricante

9.2.3 Materiales de Oficina

- Esferos
- Resma de papel
- Tabla de campo
- Marcadores permanentes
- Impresiones

9.2.4 Materiales de laboratorio

- Microscopio
- Esteromicroscopio
- Agua bidestilada
- Pipetas
- Estufa
- Cámara de Neubauer

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Baño María
- Tubos falcon
- Alcohol
- Tubos de centrífuga

9.3 METODOS

9.3.1 Factores en estudio

Recuento folicular Medidas de diámetro folicular, valoración ecográfica del útero, diámetro folicular antes y después, niveles de estrógeno y progesterona, número de animales preñados, dosis de GnRH Calidad seminal

9.3.2 Análisis de la información

Se realizó con la aplicación de estadística descriptiva y la utilización de software estadístico

F= frecuencia

%= porcentaje

\bar{x} = Media aritmética

Máximos

Minimos

Rangos

Los resultados se presentaron en gráficos de barras

9.4 METODOLOGÍA

Se realizó consulta bibliográfica para la fundamentación teórica con el objetivo de elegir los animales que serán objetos de estudio seguido de la formación de grupos y la identificación, de la misma manera se realizó la caracterización de los machos reproductores entrenados para la extracción seminal.

Los mismos que fueron utilizados para la extracción de semen basados en la técnica de electroeyaculación para medir las variables de calidad de semen como volumen, motilidad y

concentración espermática obteniendo como resultado la mejor técnica en la técnica de electroeyaculación un volumen de 0.5 ml para el procedimiento de evaluación luego de la dilución con AndroMet en una relación 1:1.

Posteriormente se realizó la inseminación artificial de acuerdo a la planificación en tres grupos, luego de la aplicación de GnRH 1, 1.5 y sin GnRH al grupo testigo, luego de tres horas se procede a la inseminación artificial.

9.4.1 Información primaria

Se realizó una matriz de consistencia para identificar las variables e indicadores de acuerdo a los objetivos para generar los instrumentos de recolección de datos de las prácticas realizadas.

9.4.2 Información secundaria

Se obtuvo la información de referencias bibliográficas de diferentes autores y de trabajos anteriores realizados referente al tema, en donde se selecciona la fundamentación científica que se seleccionó para aplicar en la investigación.

9.4.3 Sondeo

Se realiza un análisis de los registros de los animales existentes en el proyecto de mejoramiento genético de alpacas observando la salud y el estado de gestación de las hembras y la existencia de los machos disponibles para la extracción de semen, el mismo que se plantea las variables a evaluar en el trabajo de campo.

9.4.4 Muestra

Se utilizó un muestreo probabilístico ya que se refiere al estudio o el análisis de grupos pequeños de una población, se eligió a los animales en estudio con muestreo aleatorio simple en la cual todos los animales tienen la misma probabilidad de ser elegido utilizado 6 hembras que fueron identificadas con cintas de color por grupos de interés.

9.4.5 Descripción de datos utilizados en la investigación

Los datos de la investigación fueron tomados de las experiencias de campo basados en cuadros comparativos que se generó a partir de la matriz de consistencia ordenando para el análisis y discusión de los mismos.

9.4.6 Variables

- Dosis de GnRH
- Seguimiento de diámetro folicular
- Porcentaje de concepción
- Calidad de semen

9.5 METODOLOGÍA DE CAMPO

Las hembras seleccionadas para la investigación fueron aquellas que tengan un parto en adelante, además que no presenten problemas reproductivos y estén clínicamente sanas; aquellas alpacas que se escogieron que fue un total de seis animales que cumplen con los requisitos antes mencionados se congregaron en grupos de dos a las cuales se les asignó colores de cintas para su identificación de tal forma que el Tratamiento uno testigo tenía el collar de color azul, Tratamiento dos collar de color rojo y Tratamiento tres collar de color verde. La inducción a la ovulación para aplicación de la GnRH como inductor de la ovulación se utilizó un análogo sintético de la LH que para esta investigación fue el acetato de buselerina; por medio de ecografía se identificó la presencia de folículo dominante que se considera con un diámetro igual o superior a 7 milímetros y se aplicó el análogo de LH por vía intramuscular en las siguientes dosis: al grupo uno testigo 0 ml, al grupo dos 1 ml, y al grupo tres 1,5 ml la aplicación del acetato de buselerina se realizó tres horas antes de la inseminación artificial en los grupos de estudio.

Colección de semen por vagina artificial en los animales adiestrados del macho, se realizó la extracción de semen con vagina artificial utilizando a una hembra receptiva. El armado de la vagina artificial se realizó de la siguiente manera: dentro de la vagina se colocó la manga de látex y se sujetó en los extremos con ligas para mantener el agua y la presión adecuada; en un extremo de la vagina se colocó el cono de látex y el tubo colector, una vez armada la vagina por medio de la válvula de agua se introdujo agua a 40°C; por medio de la válvula de aire y con ayuda de la bomba se introdujo aire para darle presión a la vagina, una vez lista la vagina artificial que para la investigación se utilizó la vagina artificial de ovinos, se cubre con papel aluminio el cono y el tubo colector para proteger de los rayos solares, luego se colocó una manta y al final una manta térmica para mantener la temperatura constante ya que la eyaculación en los camélidos tiene un tiempo prolongado.

Se utilizó una alpaca y se sujetó en posición de monta con la finalidad que el macho adopte de igual manera la misma posición, una vez que el macho acepta a la hembra y desenvaina el pene para penetrar a la hembra se toma con la mano enguantada el pene y se coloca en la vagina artificial y se esperó entre 20 y 30 minutos tiempo en que eyaculó el macho.

Evaluación del Semen una vez que eyaculó el macho el semen colectado en el tubo falcon fue cubierto con papel aluminio se colocó en un termo con agua a 38°C para que no exista choque térmico y evitar la mortalidad de los espermatozoides; la muestra seminal se llevó al laboratorio para el análisis correspondiente.

Para obtener la motilidad espermática se colocó el portaobjetos y cubreobjetos sobre la platina térmica para que no exista mortalidad de los espermatozoides por el choque térmico, se coloca una gota de semen sobre un portaobjetos y se colocó el cubreobjetos, se llevó al microscopio para observar y contar los espermatozoides que se mueven al igual que el total de las células espermáticas, esto se realizó en cuatro campos y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Motilidad} = \frac{\text{Espermatozoides móviles}}{\text{Total espermatozoides}} \times 100$$

Inseminación Artificial una vez que se obtuvo la muestra seminal y después de analizar tanto la motilidad y la concentración espermática se preparó el semen para realizar la inseminación artificial, cabe recalcar que una vez que se identificó a las hembras con el folículo dominante tres horas antes se aplicó la dosis del inductor a la ovulación en las dosis que se aplicaron para la ejecución de la investigación.

En la preparación de la muestra seminal para la inseminación artificial se realizó lo siguientes: el diluyente que para efecto del trabajo de tesis se utilizó es AndroMet de acuerdo al volumen del eyaculado se realizó en relación 1:1 es decir de un macho se obtuvo 0,5 ml de semen y 0,5 ml del diluyente y se obtiene un centímetro de muestra seminal que es la dosis que se aplicó en la inseminación artificial.

Identificadas las hembras a las que se aplicó el inductor de ovulación a excepción del grupo testigo y después del tiempo de espera de tres horas se realizó la inseminación artificial de la siguiente manera: se colocó un macho en corral para que se estimulen las hembras, luego de la

estimulación, la hembra tomó la posición de cópula; se desinfectó la zona perineal, con la ayuda de un catéter de lavado y por vía recto-vaginal se introdujo el catéter en la vagina y con ayuda de la mano que se encuentra en el recto se introdujo hasta los cuernos uterinos donde se depositó el semen, y la misma metodología se utilizó en todas las hembras en estudio.

La evaluación de la ovulación y preñez en los grupos de estudio se realizó por medio de ecografía 60 días después de la inseminación, donde se evidenció la presencia de cuerpo lúteo y animales gestantes, valorando la presencia de miomas, adenomas malformaciones en el útero y grosor del endometrio.

9.6 Diseño experimental

Los cuadros comparativos consisten en la contraposición sistemática de elementos, es decir, en comparar dos o más elementos al colocarlos gráficamente uno al lado del otro, para así resaltar sus semejanzas, diferencias o características distintivas. Es una técnica donde se puede ordenar y comparar varios datos.

10. ANÁLISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

10.1 Relacionar el efecto de la aplicación de GnRH externo en el diámetro folicular.

La presente investigación destaca que en la dosis de 0ml de GnRH se observa un promedio de 6 folículos, con una dosis de 1ml se observa 6 folículos, en la dosis de 1.5ml se observa 8 folículos. En la aplicación del inductor de ovulación (GnRH) que se aplicó a las alpacas en estudio, si afectó la cantidad de folículos que se encuentran en crecimiento; lo que concuerda con la investigación realizada en el Perú, que, al sincronizar la nueva onda folicular, se obtiene en uno de los ovarios la formación de un cuerpo lúteo, por lo que afecta la cantidad de folículos en crecimiento (65).

En referencia a la dosis de GnRH, en el tratamiento testigo 0ml, tratamiento 1 y tratamiento 2 miden un diámetro folicular promedio de 7.5 mm como se puede observar en la tabla 1, esto significa que no existe diferencia entre los tratamientos en relación de la GnRH vs el diámetro folicular esto fue analizado por ecografía transrectal; en una investigación en la cual también se utilizó GnRH el diámetro folicular fue de 9.23 ± 1.29 mm (64). Se determina que no existe relación directa entre la dosis de GnRH aplicada en los animales de estudio no influye en el diámetro del folículo dominante.

Tabla 1: GnRH vs número y medida de folículos

TR	Dosis de GnRH	Nº de folículos	Med. De Folículo
T0	0 ml	6	7.5 mm
T1	1 ml	6	7.5 mm
T2	1.5 ml	8	7.5 mm
TOTAL		20	\bar{x} 7.5 mm

10.2 Valorar la tasa de ovulación cuando se aplica GnRH.

Según el análisis de la tabla 2, demuestra que a dosis de 0 ml los niveles de estrógeno presentan un promedio de 36.45 pg/mL; a dosis de 1 ml presenta un promedio de 32.65 pg/mL y con 1.5ml se obtuvo resultados de 23.4 pg/mL. El diámetro del folículo dominante tiene relación directa con la concentración de estradiol en la tabla 2 se puede observar los niveles de estrógeno altos, información que concuerda con Lázaro (68), quien reporta que los niveles de estradiol entre los diferentes tamaños foliculares, donde los dominantes (7 –10 mm) tienen niveles significativamente más altos de estradiol que los folículos atrésicos y en crecimiento ya que tres días antes de la ovulación el estradiol comienza un ascenso rápido. Como consecuencia de esta alza, se produce un aumento brusco de LH alcanzando esta hormona su pico máximo, el día previo a la ovulación.

En los niveles de progesterona, en sangre se analizó bajo los rangos de <0.05, 0.12 y 0.21, 0.08, Según la tabla 2, se especifica que a dosis de 0 ml el promedio de progesterona es de 0.15 ng/mL con 1ml 0.08 ng/mL, a dosis de 1.5ml de GnRH 0.09 ng/mL. Los niveles de progesterona en sangre de los animales de investigación están dentro de los rangos establecidos en especial de aquellos que se encuentran en periodo gestacional, resultados que son similares reportados por Reyna (69), que obtuvo niveles basales de progesterona sérica los días D0 y D3, la concentración de progesterona en los 4 primeros grupos comenzó a elevarse en D6 y llegó a los máximos valores en D9.

De las medidas del endometrio como se puede constatar en la tabla 2, se puede distinguir que a dosis de 0ml de GnRH se obtuvo un promedio de 2.4 mm, en la dosis de 1ml de GnRH un promedio de 2.9 mm y de 1.5 ml de GnRH un promedio de 2.5. Al medir la pared del endometrio se puede observar que tienen un grosor adecuado en los animales que se indujo la ovulación,

los resultados son menores que en investigaciones realizadas en el Perú donde las medidas son mayores de los cuernos uterinos (66).

Se reporta que el porcentaje de ovulación para la dosis 0ml es de 0%, con 1ml 50% y en la dosis 1.5ml presenta una ovulación de 100%. Comparando con los estudios realizados por Mamani (67), obtuvo tasas de ovulación, de 97.9% (47/48) y 93.8% (45/48) para plasma seminal y GnRH, respectivamente, y sin diferencia estadística. Obteniendo en la presente investigación datos inferiores a los reportados por Mamani.

Tabla 2: GnRH vs niveles de estrógeno y progesterona, grosor del endometrio y % de ovulación

TR	Dosis de GnRH	Niv. Estrógenos pg/mL	Niv. Progesterona ng/mL	Grosor del endometrio	% de ovulación
T0	0 ml	36.45	0.15	2.4	0
T1	1 ml	32.65	0.08	2.9	50
T2	1.5 ml	23.4	0.09	2.5	100

10.3 Determinar la tasa de concepción en alpacas inseminadas con semen fresco.

Para el análisis de la tasa de concepción después de la inseminación artificial, se realiza un chequeo ginecológico en el que indica un porcentaje de preñez en 0 ml de 0% con 1 ml 50% y con 1.5 ml 100%, obteniendo un porcentaje general de concepción de 75 %, Huanca (70), reporta que obtuvo un porcentaje de fertilidad del 68.75 % al utilizar GnRH, tabla 3.

Tabla 3: GnRH vs porcentaje de preñez

TR	Dosis de GnRH	% Preñez
T0	0 ml	0
T1	1 ml	50
T2	1.5 ml	100

11. IMPACTOS

11.1 Impacto Técnico

Este tipo de estudio, es de gran importancia en la parte técnico productiva de alpacas en la Provincia de Cotopaxi, tomando en cuenta su estructura funcionamiento y productividad con la

economía del sector por medio de los programas de producción y reproducción en la Provincia de Cotopaxi.

Los avances de la tecnología bio reproductiva aplicada en los camélidos nos permite mirar el futuro con optimismo aplicando técnicas como transferencia de embriones e inseminación artificial mejorando las limitaciones que existe en la extracción de semen en los machos haciendo necesario una capacitación permanente en el comportamiento reproductivo tanto del macho como de la hembra con el fin de iniciar con un programa básico que es el empadre controlado.

11.2 Impacto Ambiental

En referencia al impacto ambiental no requiere de estudios ya que forma parte de la categoría 2 es decir el proyecto no afecta al lugar de ejecución.

Mas al contrario la crianza de alpacas está diseñado para la crianza en los páramos por sus características fenotípicas que presentan las pezuñas por lo cual no destruye los bofedales conservando de esta manera las vertientes de agua y el medio ambiente en general.

11.3 Impacto Económico

Se analizará el impacto económico se puede fundamentar que la producción y reproducción en alpacas es el pilar fundamental en el interés económico de los beneficiarios para la ejecución de estas alternativas de explotación de alpacas y manejo de páramos.

Las técnicas de reproducción asistida es un instrumento para la mejora genética que permitirá obtener fibra de calidad que sea alcanzable a la exigencia del mercado las mismas que darán oportunidad a crear políticas de comercialización de fibra de calidad que es el cuello de botella en la producción alpaquera.

11.4 Impacto Social

Uno de los problemas sociales es el no aprovechamiento de los recursos naturales y tecnológicos en forma adecuada para solucionar las necesidades del entorno.

La actividad de crianza de alpacas en el sector rural ayuda a la organización de los productores con un enfoque empresarial fortaleciendo la capacidad de gestión y negociación del producto tanto lana como carne con iniciativas alpaqueras sustentables.

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 Conclusiones

- La aplicación del análogo sintético de GnRH no tiene efecto sobre el diámetro folicular ya que es una hormona específica para inducción de ovulación como se demuestra en los resultados. Sin embargo, existe diferencia en el número de folículos presentando un mejor promedio en el tratamiento 2 de la aplicación de 1.5 ml de GnRH.
- Las dosis aplicadas de GnRH en T0 (0 ml) no se obtuvo ovulación, y en T2 (1.5 ml) una ovulación del 100% como se observa en los resultados obtenidos en la investigación lo que implica que los animales si son inducidos en la ovulación a partir de la utilización de GnRH. En vista que se produce un aumento brusco de LH alcanzando esta hormona su pico máximo, el día previo a la ovulación.
- La tasa de concepción en T0 no se evidenció preñez, en T1 se obtuvo una preñez del 50% y en T2 presento un 100% de preñez, como se observó en los resultados obtenidos en la investigación ya que la dosis del inductor de ovulación tiene relación en la ovulación del folículo dominante y la consecuente concepción.

12.2 Recomendaciones

- Para tener efecto sobre el diámetro folicular se debe aplicar una hormona específica (FSH) que cumpla esta función ya que el análogo sintético utilizado en esta investigación fue como inductor de la ovulación.
- Se debe utilizar 1 ml o 1.5 ml del inductor de ovulación ya que así se tiene porcentajes ideales y aceptables en la ovulación.
- La tasa de concepción tiene relación directa con la ovulación del folículo dominante por lo tanto se debe utilizar dosis de 1.5 ml del inductor de ovulación para asegurar la concepción y gestación de las alpacas.

13. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Rubén Mamani C. THM,JPC,RZVNCR. Tasa de ovulación utilizando liberador de gonadotropinas y plasma seminal en alpacas y llamas. [Online].; 2013 [cited 2021 julio 30]. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n2/a09v24n2>.
- 2 Wilfredo Huanca1 ACTHyGPA. Biotecnologías reproductivas en camélidos. [Online].; 2007 [cited 2021 febrero 15]. Available from: <http://www.bioline.org.br/pdf?la07052>.
- 3 M.V LARSEN, D.M.V. Características fisiológicas y productivas de los camélidos. [Online]. [cited 2021 mayo 25. Available from: [http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/31821/Caracteristicas%20fisiologicas.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Otra%20caracter%C3%ADstica%20fisiol%C3%B3gica%20que%20presentan,\(De%20Carolis%2C%201987\)](http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/31821/Caracteristicas%20fisiologicas.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Otra%20caracter%C3%ADstica%20fisiol%C3%B3gica%20que%20presentan,(De%20Carolis%2C%201987)).
- 4 Eulogio CEQ. Niveles de fósforo en la dieta y sus efectos sobre el crecimiento y performance reproductivo en alpacas hembras pos destete. [Online].; 2019 [cited 2021 febrero 15]. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4199/quispe-eulogio-carlos-enrique.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- 5 Chile Ud. Características biológicas y productivas de los camélidos sudamericanos. [Online].; 1991 [cited 2021 mayo 25. Available from: http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan_vet_simple/0,1423,SCID%253D9998%2526ISID%253D473%2526PRT%253D9975,00.html.
- 6 HEIFER. Camélidos Sudamericanos. [Online].; 2018 [cited 2021 mayo 25. Available from: <http://www.heifer-ecuador.org/wp-content/uploads/2018/03/22.-Camelidos-sudamericanos.pdf>.
- 7 Aba MA. Endocrinología reproductiva en camélidos sudamericanos domésticos. [Online].; 2008 [cited 2021 20 mayo. Available from: <https://www.produccion-animal.com.ar/produccion-de-camelidos/reproduccion/02-endocrinologia.pdf>.
- 8 León M. E, Sato S. A, Navarrete Z. M, Cisneros S. J. Anatomía macroscópica, irrigación y drenaje venoso del aparato reproductor femenino de la llama (Lama glama). [Online].; 2011 [cited 2021 mayo 20. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371838854001.pdf>.
- 9 Alberto Sato Sato RAVLLMO. Revisión anatómica del aparato reproductor de la alpaca hembra (Lama Pacos). [Online].; 1986 [cited 2021 enero 18]. Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rcs/n02_1986/pdf/a04.pdf.
- 10 C. JP. Caracterización de la Citología Exfoliativa Vaginal en Alpacas (Vicugna pacos). [Online].; 2017 [cited 2021 enero 20]. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n4/a13v28n4.pdf>.

1 H. NS. Manual para el Manejo de Camélidos Sudamericanos Domésticos. [Online].; 2011 [cited 2021 enero 15]. Available from: <http://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/1953/Manual%2526%2523095%253Bpara%2526%2523095%253Bel%2526%2523095%253Bmanejo%2526%2523095%253Bde%2526%2523095%253BCamelidos%2526%2523095%253BSudamericanos%2526%2523095%253BDomesticos.pdf?seque>.

1 Pérez NFP. Caracterización anatomopatológica del aparato reproductor de la alpaca hembra 2 (Vicugna pacos) en el matadero municipal de Huancavelica. 3676 m.s.n.m - 2016. [Online].; 2017 [cited 2021 enero 10]. Available from: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/2636/TESIS%20MV143_Pac.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

1 Cusi Ferradas GMCLCBACMG. Estudio de la diferenciación prenatal del útero de la alpaca 3 (Vicugna pacos) entre el primer y segundo tercio de gestación. [Online].; 2015 [cited 2021 enero 16]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/340507268_Estudio_de_la_diferenciacion_prenatal_del_uterode_la_alpaca_Vicugna_pacos_entre_el_primer_y_segundo_tercio_de_gestacion.

1 Paredes AFQ. Efecto de la transferencia embrionaria en la migración y localización del 4 embrión de alpacas (Vicugna pacos). [Online].; 2017 [cited 2021 enero 17]. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6574/Quispe_Paredes_Alfredo_Fredy.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

1 Eduardo DCAM. Descripción histológica de los ovarios de alpacas (Vicugna pacos) de la 5 raza Huacaya y Suri de siete años a más en el distrito de Nuñoa, Provincia de Melgar, Departamento de Puno 2014. [Online].; 2014 [cited 2021 enero 20]. Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3075/68.0753.VZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

1 Bonacic S. C. Características biológicas y productivas de los camélidos sudamericanos. 6 [Online].; 1991 [cited 2021 mayo 21]. Available from: http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan_vet_completa/0,1424,SCID%253D9975%2526ISID%253D473,00.html.

1 Choque LMI. Eficiencia reproductiva de alpacas machos en relación al tamañotesticular y 7 niveles hormonales durante época reproductiva en Puna Seca. [Online].; 2018 [cited 2021 enero 28]. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9757/Incahuanaco_Choque_Luis_Miguel.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

1 Dionisio IAD. Adherencia pene-prepucial y uso de alpacas macho Huacaya jóvenes en 8 empadre dirigido en la unidad de producción contadera, Tomas Yauyos - Región Lima. [Online].; 2017 [cited 2021 enero 23]. Available from:

<http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3387/Dionisio%20Dionisio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

1 Hanzen C. CDH,ACE,ORC,SKJ. Anatomía y fisiología de la reproducción del macho. 9 [Online].; 2014 [cited 2021 enero 28]. Available from: <https://www.ivis.org/library/principes-de-reproduction-des-petits-cam%C3%A9lid%C3%A9s-sud-am%C3%A9ricains/anatom%C3%ADa-y-fisiolog%C3%ADa-de-la>.

2 Lengua MFRM. Características biométricas testiculares e incidencia de anomalías genitales en alpacas. [Online].; 2015 [cited 2021 enero 30]. Available from: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1068/T-INDV_1502006.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

2 S. CSM, V. VLVyWG. Administración de testosterona en alpacas con adherencias peniles prepucales. [Online].; 2002 [cited 2021 enero 30]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172002000200004.

2 Frank EN. Curso de Manejo reproductivo de Camélidos Sudamericanos domésticos. 2 [Online].; 1999 [cited 2021 febrero 15]. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/libros_on_line/23-curso_camelidos_1999/05-manejo_reproductivo.pdf.

2 Mondragón CVM. Susceptibilidad del cuerpo lúteo a la acción de la prostaglandina F_{2α} en 3 alpacas inducidas a ovulación con plasma seminal. [Online].; 2014 [cited 2021 enero 30]. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/323349012.pdf>.

2 Fernández-Baca S. Manipulación de las funciones reproductivas en camélidos masculinos y 4 femeninos del Nuevo Mundo. [Online].; 1993 [cited 2021 mayo 22]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378432093901217>.

2 FAO. Manual de prácticas de manejo de alpacas y llamas. [Online].; 1996 [cited 2021 febrero 53]. Available from: <http://www.fao.org/3/w3341s/w3341s.pdf>.

2 Endel Enjoy PCIVyTD. Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas brahman. 6 [Online].; 2012 [cited 2021 mayo 23]. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762012000100005.

2 Durand MGP. Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (Vicugna pacos). 7 [Online].; 2015 [cited 2021 mayo 23]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/282463204_Dinamica_folicular_ovarica_en_alpacas_de_la_raza_suri_Vicugna_pacos.

2 E.G. Hanco (1) JL(YMQ(MGP(NL(UHP(. Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza Suri (Vicugna pacos). Spermova. 2015 agosto; 5(1).

2 E.S.E. Hafez BH. Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima ed. E.S.E. Hafez BH, editor. México: McGraw-Hill Interamericana; 2002.

3 Solórzano MGR. Caracterización de la dinámica folicular en alpacas de raza Huacaya (Vicugna pacos), Bajo condiciones de semiconfinamiento. [Online].; 2015 [cited 2021 enero 15]. Available from: <http://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/UNHEVAL/687/TMV%2000217%20R24.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

3 Apichela. SA. Reservorios espermáticos en el oviducto de llama y avances en el estudio de los sistemas proteolíticos involucrados. In XXII Reunión ALPA, Sección técnica: Camélidos Sudamericanos; 2011; Montevideo, Uruguay. p. 20-24.

3 Julie Bakker MJB. Regulación neuroendocrina de la liberación de GnRH en ovuladores inducidos. [Online].; 2000 [cited 2021 enero 10]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091302200901985?via%3Dihub>.

3 Adams GP. Application of the bovine model for the study of ovarian function in other species. [Online].; 2007 [cited 2021 enero 22]. Available from: https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs_files/article/view/2709/1141.

3 T. Huanca (1) JC(RHMC(JS(. Impacto de la inducción de la ovulación en la aplicación de inseminación artificial y múltiple ovulación en transferencia de embriones en camélidos. [Online].; 2018 [cited 2021 enero 28]. Available from: <file:///C:/Users/windows/Downloads/2018Spermova.pdf>.

3 M. Silva CULCNFGPAMHR. El factor inductor de la ovulación (OIF / NGF) de origen del plasma seminal mejora la función del cuerpo lúteo en llamas independientemente del diámetro del folículo preovulatorio. [Online].; 2014 [cited 2021 enero 30]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432014001584#!>

3 Verdú V, Villafañez VG, Lucas. V. Estudios ultrasonográficos diagnósticos y de control de los ciclos en reproducción asistida. [Online]. [cited 2021 mayo 23. Available from: <https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia5.pdf>.

3 Uri Perez G.. Comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en ondas sucesivas de llamas (Lama glama). [Online].; 2021 [cited 2021 mayo 24]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172021000100014&script=sci_arttext&tlng=en.

3 Sintex. Fisiología reproductiva del bovino. [Online].; 2005 [cited 2021 mayo 24. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/71-fisiologia_reproductiva_del_bovino.pdf.

3 Jennifer Knudtson JEM. Endocrinología reproductiva femenina. [Online].; 2019 [cited 2021 9 mayo 24. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-ec/professional/ginecolog%C3%ADa-y-obstetricia/endocrinolog%C3%ADa-reproductiva-femenina/endocrinolog%C3%ADa-reproductiva-femenina#:~:text=El%20hipot%C3%A1lamo%20secreta%20un%20peque%C3%B1o,hormona%20liberadora%20de%20hormona>.

4 López JWP. Inducción de ovulación con plasma seminal o análogo de GnRH (acetato de Buselerina) y su efecto sobre la tasa de concepción en alpacas (vicugna pacos), inseminadas con semen fresco. [Online].; 2010 [cited 2021 mayo 24. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/323348003.pdf>.

4 Paolicchi F,BOE,ARyU. Respuesta hipofisiaria en alpacas tratadas con GNRH: análisis de la concentración plasmática de hormona luteinizante mediante un radioinmunoanálisis heterólogo. [Online].; 1996 [cited 2021 mayo 24. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_de_camelidos/reproduccion/54-alpacas_tratadas_cpn_gnrh.pdf.

4 Cahuata OC. Efecto del uso del Ganarelix en la inducción de la ovulación en alpacas superovuladas. [Online].; 2017 [cited 2021 mayo 24. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7987/Oscar_Condori_Cahuata.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

4 Virgilio Alarcón B.1 WGV2PWB. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. [Online].; 2012 [cited 2021 febrero 3]. Available from: <http://www.produccion-animal.com.ar/>.

4 Cajas PAT. Evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática por edad (2-4 Y DE 4-6 años) en llamas (Lama Glama) en el Barrio Igshagua, Parroquia Juan Montalvo, Latacunga Ecuador. [Online].; 2015 [cited 2021 enero 30]. Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2861/1/T-UTC-00385.pdf>.

4 Aguila RC. Estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de llama (Lama glama), por dos métodos de colección. [Online].; 2019 [cited 2021 febrero 2]. Available from: http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/3790/253T20190112_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

4S. Giuliano A. Director MGV TMM. Método de recolección, temporada y variación individual de las características seminales de la llama (Lama glama). [Online].; 2008 [cited

- 2021 febrero 2]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432007000851?via%3DIihub>.
- 4 Jenniffer Puerta-Suárez MB B. JMMTBLOMM,JBGMWCMP. La calidad espermática 7 evaluada mediante metodologías no convencionales. [Online].; 2014 [cited 2021 mayo 26]. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2014/myl1143-4d.pdf>.
- 4 Bravo JT. Estudio Histológico del Espermatozoide de Alpacas y su correlación con las 8 características microscópicas de calidad Seminal en el fundo Ucrucancha – Cerro de Pasco . 2019. [Online].; 2019 [cited 2021 mayo 5. Available from: http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/1490/1/T026_04080784_T.pdf.
- 4 Cabrera JEG. Evaluación de las características macroscópicas y microscópicas de semen 9 fresco de alpacas en la estación experimental Aña Moyocancha con la aplicación de . oligoelementos. [Online].; 2017 [cited 2021 mayo 8. Available from: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/8138/1/17T1505.pdf>.
- 5 Juan C. Villanueva M.1 WFHM1FHO1MUP1FRG2WHL. Efecto de la estación sobre las 0 características seminales de alpacas (Vicugna pacos) criadas a nivel del mar. [Online].; 2018 . [cited 2021 mayo 10. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000200019#:~:text=E1%20volumen%20de%20los%20eyaculados,las%20alpacas%2C%20estas%20variables%20no.
- 5 Apaza-Callisaya Blanca Nieves1* LMMG,QPCHMGRMANC. Parámetros cinéticos de 1 espermatozoides en semen fresco y crioconservado de alpaca (Vicugna pacos L.). [Online].; . 2020 [cited 2021 mayo 11. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2311-25812020000100003&script=sci_arttext&tlng=es.
- 5 Carvajal MGM. Caracterización morfológica de espermatozoides en alpacas machos de tres 2 edades diferentes en el laboratorio de biotecnología de la reproducción de Medicina . Veterinaria. [Online].; 2014 [cited 2021 mayo 12. Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2900/1/T-UTC-00424.pdf>.
- 5 Rojas AAR. Evaluación de tres tratamientos de semen sobre la filancia, motilidad y vitalidad 3 espermática en alpacas (Vicugna pacos) a 2736 m.s.n.m.. [Online].; 2017 [cited 2021 mayo . 13. Available from: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/3547/TESIS%20MV181_Ram.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- 5 Laruta-Limachi Felicidad1 2LMMGDCPÁ. Evaluación de características microscópicas de 4 semen de llama (Lama glama) crioconservados en dos dilutores. [Online].; 2016 [cited 2021 . mayo 14. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2311-25812016000100002.

- 5 JP M. Estrategias para el mejoramiento de camélidos sudamericanos. [Online].; 2015 [cited 2021 mayo 25]. Available from: https://produccion-animal.com.ar/produccion_de_camelidos/camelidos_general/156-estategias.pdf.
- 5 Eliet Amanca H. JCV,VRM,JMD,GGR. Esquema de reproductores macho de referencia para un núcleo genético disperso de alpacas (Vicugna pacos) Huacaya en la región Pasco, Perú. [Online].; 2018 [cited 2021 mayo 26]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000300020.
- 5 Rivas CFR. Efecto de cópulas post ovulación sobre la tasa de sobrevivencia embrionaria en alpacas Huacaya. [Online].; 2019 [cited 2021 mayo 27]. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/12193/Ramos_Rivas_Carla_Fabiola.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- 5 Alcocer JSU. Aplicación de dos protocolos de superovulación y su efecto en la calidad de embriones de alpacas. [Online].; 2019 [cited 2021 mayo 27]. Available from: <http://181.112.224.103/bitstream/27000/5401/6/PC-000536.pdf>.
- 5 Yanín MurilloC. BCC,THM. Tasa de fertilidad a la inseminación artificial y mérito económico en alpacas Huacaya. [Online].; 2018 [cited 2021 febrero 4]. Available from: <file:///C:/Users/windows/Downloads/342-Texto%20del%20art%C3%ADculo-2399-1-10-20180905.pdf>.
- 6 Isabel GTL. Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos. [Online].; 2019 [cited 2021 febrero 8]. Available from: http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/8704/Garc%C3%ADa_Tapia_Lizbeth_Isabel.pdf?sequence=4.
- 6 Aller JF, Ferré L, Alberio GRyRH. Iseminación artificial en llamas (Lama Glama). primera comunicación en Argentina. [Online].; 1997 [cited 2021 febrero 4]. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_de_camelidos/reproduccion/87-ia_en_llamas.pdf.
- 6 Ordóñez C. CH,AE,AW,CS. Iseminación artificial de alpacas con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por electroeyaculación. [Online].; 2013 [cited 2021 febrero 4]. Available from: [file:///C:/Users/windows/Downloads/OrdoezCucho2013Inseminacinartificialdealpacasconsemenfrescorefrigeradoydescongeladocolectadoporee%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/windows/Downloads/OrdoezCucho2013Inseminacinartificialdealpacasconsemenfrescorefrigeradoydescongeladocolectadoporee%20(1).pdf).
- 6 Sergio GEM. Comparación de técnicas para el diagnóstico de endometritis pos parto en alpacas. [Online].; 2017 [cited 2021 mayo 28]. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4983/Mamani_Sergo_Gloria_Estefany.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

6 Camilo Mamani M. WHL,LEC,ACR,WFHM,TLC. Susceptibilidad del Cuerpo Lúteo a la 4 Prostaglandina F2 α en Alpacas Inducidas a Ovulación con Plasma Seminal y GnRH. [Online].; 2016 [cited 2021 junio 12. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/1b8d/7eef570094d8c54cb2b6f5e892f420e3e7d4.pdf>.

6 Arana N. Hormona Antimülleriana y su relación con folículos, ovocitos y onda folicular en 5 alpacas. [Online].; 2019 [cited 2021 junio 10. Available from: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3986/zirena-arana-nathalie.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

6 Calsin HWD. Condición corporal en el periparto y su relación con capacidad inmune y 6 desempeño reproductivo en alpacas (Vicugna pacos). [Online].; 2019 [cited 2021 junio 15. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4147/dezacin-hugo-wenceslao.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

6 Camilo Mamani M. WHL,LEC,ACR,WFHM,TLC. Susceptibilidad del Cuerpo Lúteo a la 7 Prostaglandina F2 α en Alpacas Inducidas a Ovulación con Plasma Seminal y GnRH. [Online].; 2016 [cited 2021 julio 10. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371849372012.pdf>.

6 Asmat MÁL. Relación entre los Estadios Foliculares y los Niveles de Estradiol Intrafolicular 8 en Alpacas Vicugna Pacos. [Online].; 2016 [cited 2021 julio 2. Available from: <https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/570/Relaci%C3%B3n%20entre%20los%20estadios%20foliculares%20y%20los%20niveles%20de%20estradiol%20intrafolicular%20en%20alpacas%20Vicugna%20Pacos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

6 Iván Reyna W. WHL,AAB,THM. Efecto de Cuatro Diluciones de Plasma Seminal sobre la 9 Tasa de Ovulación, Tamaño de Cuerpo Lúteo y Perfil de Progesterona en Alpacas. [Online].; 2015 [cited 2021 julio 12. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172015000400008&script=sci_arttext&lng=en.

7 Teodosio Huanca RMCJSWH. Uso del plasma seminal de alpaca sobre la tasa ovulatoria y 0 sobrevivencia embrionaria. [Online].; 2016 [cited 2021 julio 12. Available from: <http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1100/1/Uso%20del%20plasma%20seminal%20de%20alpaca%20sobre%20la%20tasa%20ovulatoria%20y%20sobrevivencia%20embrionaria.pdf>.

7 Castellanos L. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN. [Online].; 2017 [cited 2021 1 febrero 11. Available from: <https://lcmetodologiainvestigacion.wordpress.com/2017/03/02/tecnica-de-observacion/>.

7 QuestionPro. ¿Qué es la Investigación Experimental? [Online].; 2021 [cited 2021 febrero 11. 2 Available from: <https://www.questionpro.com/blog/es/investigacion->

[experimental/#:~:text=La%20investigaci%C3%B3n%20experimental%20es%20cualquier,miden%20como%20sujeto%20del%20experimento.](#)

7 TERESA CANIVE RB. METODOLOGÍA CUALITATIVA. [Online].; 2020 [cited 2021 3 febrero 11. Available from: <https://www.sinnaps.com/blog-gestion-proyectos/metodologia-cualitativa/#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20de%20investigaci%C3%B3n%20cualitativa%20es%20la%20recogida%20de%20informaci%C3%B3n,la%20posterior%20interpretaci%C3%B3n%20de%20significados.>

7 Josías Ascencio S. WHL,JTV,CMM,ACR,FHO. Efecto del estadio de desarrollo de la onda 4 folicular sobre la respuesta ovárica y tasa de recuperación y calidad de embriones en alpacas. [Online].; 2019 [cited 2021 junio 30. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000200023&lng=es&nrm=iso.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000200023&lng=es&nrm=iso)

17 ANEXOS

Anexo No. 1. Curriculum vitae - Alumno

CURRICULUM VITAE

INFORMACIÓN PERSONAL

APELLIDOS:	CORONEL ACUÑA
NOMBRE:	MAYRA CORONEL
LUGAR DE NACIMIENTO:	PASTOCALLE – LATACUNGA – ECUADOR
FECHA DE NACIMIENTO:	03 /septiembre / 1987
EDAD:	33 AÑOS
DIRECCIÓN DE DOMICILIO:	LATACUNGA
NÚMEROS TELEFÓNICOS:	0984759224
DIRECCIÓN ELECTRÓNICA:	mayra.coronel6136@utc.edu.ec
CEDULA DE IDENTIDAD:	050314613-6
ESTADO CIVIL:	CASADA.

ESTUDIOS.

NIVEL PRIMARIO:	Escuela Fiscal “Elvira Ortega”
NIVEL SECUNDARIO:	Colegio Técnico a Distancia “Segundo Torres”

FIRMA

Anexo No. 2. Curriculum vitae – Tutor**CURRICULUM VITAE****INFORMACIÓN PERSONAL**

APELLIDOS: CHICAIZA SANCHEZ
NOMBRE: LUIS ALONSO
LUGAR DE NACIMIENTO: PASTOCALLE – LATACUNGA – ECUADOR
FECHA DE NACIMIENTO: 25 / noviembre / 1963
EDAD: 57 AÑOS
DIRECCIÓN DE DOMICILIO: NIAGARA
NÚMEROS TELEFÓNICOS: 0992661232
DIRECCIÓN ELECTRÓNICA: luis.chicaiza@utc.edu.ec
CEDULA DE IDENTIDAD: 050130831-6
ESTADO CIVIL: CASADO.

ESTUDIOS

NIVEL SECUNDARIO: Colegio De Agricultura “Simón Rodríguez”
NIVEL SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi
4TO NIVEL MAESTRÍA: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría
En Producción Animal.

FIRMA

Anexo No. 3. Formación de grupos e identificación



Anexo No. 4. Extracción de semen con electroeyaculador.



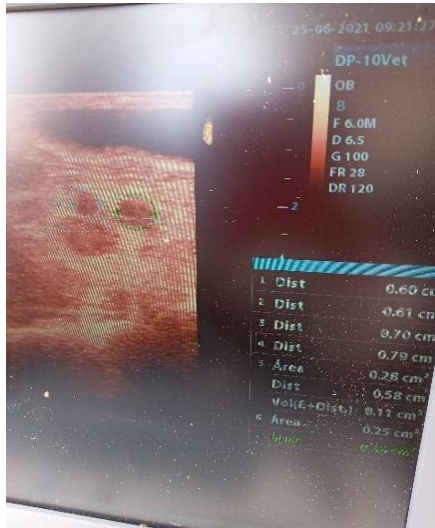
Anexo No. 5. Análisis de volumen, motilidad y concentración espermática



Anexo No. 6. Aplicación de GnRH e Inseminación Artificial



Anexo No. 7. Medición de folículos y Diagnóstico de gestación



Anexo No. 8. Resultados de análisis de estrógenos y progesterona



Anexo No. 9. Aval del Traductor



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 al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“APLICACIÓN DE GnRH EN INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS”** presentado por: **MAYRA CLEOFÉ CORONEL ACUÑA**, egresada de la Carrera de: **MEDICINA VETERINARIA**, perteneciente a la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**, 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 a la peticionaria hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, agosto del 2021

Atentamente,

Mg. Diana Karina Talpe Vergara

DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 1720080934

