



UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

**“OBTENCIÓN DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE
FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILÍ”**

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

AUTOR:
YANQUI CHICAIZA SEGUNDO JAIME

DIRECTOR:
DR: CHICAIZA SANCHEZ LUIS ALONSO

LATACUNGA – ECUADOR


FEBRERO-2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Segundo Jaime Yanqui Chicaiza** declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **“OBTENCION DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILI”** Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez, siendo el tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

También, certifico que la fundamentación de las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

19 de Julio de 2014



.....
SEGUNDO JAIME YANQUI CHICAIZA
C.I. 050332014-5

CANTÓN DE LLAMAS (Lama glama)
FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DE SAQUISILI

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 **Segundo Jaime Yanqui Chicaiza**, identificada con C.C. N° **050332014-5**, de estado civil Soltero y con domicilio en Poalò, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. -EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“OBTENCION DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILI”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. - Octubre 2010 - Febrero 2018.

Aprobación HCA. - 19 de Julio del 2016.

Tutor. – Dr. Chicaiza Sanchez Luis Alonso

Tema: **“OBTENCION DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILI”**

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, **EL 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 **EL 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.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **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 **EL 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 **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula 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, 25 días de Febrero 2017

19 de Julio

.....
SEGUNDO JAIME YANQUI CHICAIZA

EL CEDENTE

.....
Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO



AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“OBTENCIÓN DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTON SAQUISILI” de Yanqui Chicaiza Segundo Jaime, de la carrera de Medicina Veterinaria considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, Febrero 2017

TUTOR

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg.

CC: 050130831-6



www.utc.edu.ec

Av. Simón Rodríguez s/n Barrio El Ejido /San Felipe. Tel: (03) 2252346 - 2252307 - 2252205

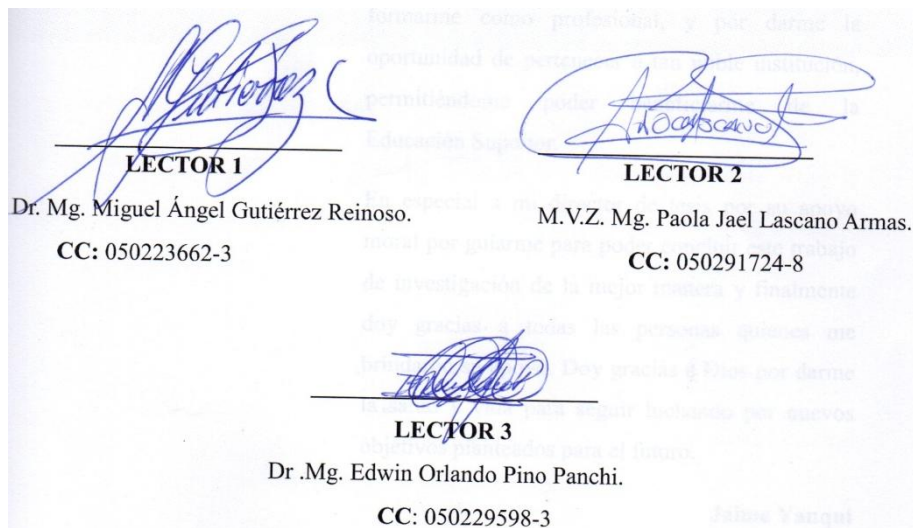
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Segundo Jaime Yanqui Chicaiza con el título de Proyecto de Investigación **“OBTENCIÓN DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILI”** Han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

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

Latacunga, Febrero 2018

Para constancia firman:



Expreso un profundo agradecimiento primero a Dios por mantenerme con salud, vida y por darme el don de la sabiduría, fortaleza y la suficiente confianza para alcanzar el gran sueño propuesto en mi vida.

Extiendo mi más sincero y afectuoso agradecimiento a mi madre por ser el eje fundamental de esta meta lograda, a mi hermana por llenarme de valor y por brindarme su apoyo incondicional y a toda mi familia por estar a mi lado en los buenos y malos momentos.

Mi gratitud a la Universidad Técnica de Cotopaxi, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales y de manera especial a mi Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por llenarme de conocimiento satisfactorio, para formarme como

profesional, y por darme la oportunidad de pertenecer a tan noble institución, permitiéndome poder beneficiarme de la Educación Superior.

En especial a mi director de tesis por su apoyo moral por guiarme para poder concluir este trabajo de investigación de la mejor manera y finalmente doy gracias a todas las personas quienes me brindaron su apoyo. Doy gracias a Dios por darme la salud y vida para seguir luchando por nuevos objetivos planteados para el futuro.

Jaime Yanqui

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación va dedicado a mi Dios quien con su bendición me ha guiado durante todo este tiempo de vida, ayudándome a alcanzar los objetivos propuestos, por darme la oportunidad de tener a mi madre a mi hermana y a mis hijos junto a mí los cuales fueron el motor principal para cumplir esta meta importante en mi vida.

A mis abuelitos Manuel Yanqui, Carmen Chicaiza por enseñarme a ser una persona respetuosa, y luchadora para lograr alcanzar los propósitos y metas que se desea alcanzar, a mi Madre Teresa

Yanqui por darme la vida, por ser el pilar fundamental para llegar a estas instancias de logro y satisfacción de mi sueño hecho realidad.

Gracias.

Jaime Yanqui



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “OBTENCIÓN DE OVOCITOS DE LLAMAS (*lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILÍ”

Autor: Segundo Jaime Yanqui Chicaiza

RESUMEN

La presente investigación se llevó en el laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi, se utilizaron 8 pares de ovarios de llamas de descarte las cuales se adquirió post mortem de la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí, los ovarios obtenidos fueron identificados y transportados en una funda hermética más cloruro de sodio al 0,9% a una temperatura de 37°C. Se emplearon dos técnicas para extraer los ovocitos, la aspiración folicular, y de slicing. Los ovocitos obtenidos en las dos técnicas se clasifico en cuatro grupos de tipo A, B, C y D, de acuerdo al criterio de la integridad de las capas de células del cúmulo y las características del citoplasma del ovocito, por el método de aspiración folicular se obtiene 9 ovocitos de tipo A. lo cual significa el 33% y 4 ovocitos de tipo A por el método de slicing folicular del total utilizando el método de aspiración

folicular se recolecta mayor cantidad de ovocitos en cantidad y calidad que el otro método. Concluyendo que la eficacia de la técnica de aspiración folicular, ya que se obtuvo mayor cantidad de ovocitos de tipo A que presentan con células de cúmulos con capas múltiples y con un citoplasma homogéneo y transparente, son ovocitos visibles formados con una corona no irradiada que pertenecen a la calidad madura

Palabras claves: Ovarios, Faenamamiento, Holding, Slicing, Aspiración, Ovocitos,



TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

THEME: EXTRACTION LLAMAS' OOCYTES (lama glama) IN THE MUNICIPAL GAD FACILITY OF SAQUISILI CANTON

Author: Yanqui Chicaiza Segundo Jaime

ABSCTRACT

This investigation was carried out in the Biotecnología Laboratory of Reproduction which belongs to the Veterinary Medicine Major of the Technical University of Cotopaxi. Eight pairs of ovaries of discarded llamas were used which were acquired post-mortem at the plant of slaughter of the municipal GAD from Saquisili Canton, the ovaries obtained were identified and transported in a hermetic bag with 0.9% sodium chloride at a temperature of 37 ° C. Two techniques were used to extract the oocytes: follicular aspiration, and slicing. The oocytes obtained by the two techniques were classified into four groups of type A, B, C, and D, according to the integrity criterion of the layers of cells in the cluster and the characteristics of the cytoplasm of the oocyte, by the method of follicular aspiration, 9 type A oocytes are obtained, which means 33% and 4 type A oocytes by the follicular slicing method of the total using the follicular aspiration method, it is collected more quantity of oocytes in quantity and quality than the other method. Concluding that

the effectiveness of the technique of follicular aspiration, since a more significant amount of type A oocytes were obtained that present with cumulus cells with multiple layers and with a homogeneous and transparent cytoplasm, they are visible oocytes formed with a non-irradiated crown that belongs to mature quality.

Key words: Ovaries, Slaughtering, Holding, Slicing, Aspiration, Oocytes.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	i
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	ii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSCTRACT.....	x
ÍNDICE DE PRELIMINARES.....	xi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xii
ÍNDICE DE IMAGENES.....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS:.....	xv
INDICE DE GRAFICOS.....	xv

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. TITULO DEL PROYECTO:	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO:	2
3.1. Beneficiarios directos:	2
3.2. Beneficiarios indirectos:	3
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:	3
5. OBJETIVOS:	3
5.1. General:	3
5.2. Específicos:	3
6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:	4
7. MARCO INVESTIGATIVO:	5
7.1. Origen de los camélidos sudamericanos	5
7.1.1. Llamas	5
7.2. Razas de llamas	6
7.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.	6
7.4. CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A LA EDAD Y SEXO.	6
7.5. PUBERTAD	7
7.6. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA	7

7.6.1. Ovarios	7
7.6.2. Vulva	7
7.6.3. Oviducto	7
7.6.4. Útero.....	8
7.6.5. Ligamento ancho o uterino.....	8
7.6.6. Vagina	8
7.7. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA	9
7.7.1. Estación Reproductiva	9
7.7.2. Ciclo Sexual.....	9
7.7.3. La Ovulación	10
7.7.4. Deficiencias en la ovulación.....	10
7.7.5. Manipulación de los ciclos foliculares	10
7.7.6. Ciclo ovárico de la llama	11
7.8. OVOGÉNESIS.....	11
7.9. OVULACIÓN	12
7.10. FOLICULOGENESIS	12
7.10.1. Dinámica folicular	13
7.10.2. Fases del desarrollo folicular	13
7.10.3. Maduración del Óvulo.....	16
7.11. OVOCITO	17
7.11.1. Característica Morfológicas del Ovocito	18
7.11.2. Estado Madurativo de los Ovocitos.....	19
7.12. DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA	19
7.13. METODOS DE RECOLECCIÓN DE OVOCITOS DE CAMELIDOS	20
7.13.1.Punción folicular trans-vaginal y recuperación de ovocitos:	20
7.13.2.Slicing folicular.....	20
7.13.3. Aspiración folicular post-mortem	21
7.13.4. Disección-ruptura folicular	21
7.14. CLASIFICACIÓN DE LOS OVOCITOS	21
7.14.1. Los ovocitos pueden ser clasificados en cuatro etapas	21
7.15. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS OVOCITOS	22
7.15.1. Holding.....	23
8. METODOLOGIA	23

Características del Lugar de Ejecución del Proyecto.....	23
Ubicación geográfica	23
Características climáticas.....	23
8.1. Recursos materiales	23
Materiales de campo:.....	23
Materiales de oficina:	24
Material de laboratorio:	24
Material biológico	24
8.2. METODOLOGÍA	25
8.3. Método de Observación directa.....	25
8.4. Método de Observación Indirecta.....	25
8.5. Método de fichaje	25
8.6. Duración del proyecto.....	25
9. DESARROLLO.....	26
9.1. Ensayo en la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí	26
9.2. Ensayo en el laboratorio	26
9.3. Aplicación de técnicas.....	26
9.3.1. Método de Aspiración	26
9.3.2. Método de Slicing	26
9.2. Evaluación de la cantidad y calidad de maduras de los ovocitos.....	27
10. PREGUNTAS CIENTIFICAS O HIPOTESIS	27
11. TIPOS DE VARIABLES:.....	27
11.1 Variable dependiente.	27
11.2 Variable independiente.	27
12. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.	27
12.1. Numero de ovocitos obtenidos por la técnica de aspiración folicular:.....	28
12.2. Número de ovocitos obtenidos por la técnica de slicing folicular:	30
12.3. Número de ovocitos obtenidos por la técnica de Aspiración yslicing folicular:	32
12.4. Discusión	33
13. IMPACTOS (TECNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONOMICOS):	34
14. PRESUPUESTO PARA LA PROPUESTA DEL PROYECTO:	35

15. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:	36
15.1. Conclusiones	36
15.2. Recomendaciones	36
16. BIBLIOGRAFIA:	37
Libros	37
17. ANEXOS	42

ÍNDICE DE IMAGEN

Imagen N° 1 Estructura del aparato reproductor.	9
Imagen N° 2 Desarrollo de un folículo ovárico.....	12
Imagen N° 3 Folículo Primordial	13
Imagen N° 4 Folículo Primario.	14
Imagen N° 5 Folículo Secundario	15
Imagen N° 6 Folículo Terciario.....	15
Imagen N° 7 Estructuras Ováricas.....	16
Imagen N° 8 Estructura del ovocito.....	17
Imagen N° 9 Tipos de Ovocitos por su Calidad	22

ÍNDICE DE ANEXOS:

ANEXO N° 1 AVAL DE TRADUCCIÓN	42
ANEXO N° 2 HOJA DE VIDA DE TUTOR DE TITULACIÓN.....	43
ANEXO N° 3 HOJA DE VIDA DEL AUTOR DEL PROYECTO.....	44
ANEXO N° 4 FICHA DE REGISTRO DE OBTENCION DE OVOCITOS DE LLAMAS	45
ANEXO N° 5 Fotografías de Obtención de Ovocitos.....	46

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Objetivos planteados	4
Tabla N° 2 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS	28
Tabla N° 3 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS	29
Tabla N° 4 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS	30
Tabla N° 5 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS	31
Tabla N° 6 Total de ovocitos obtenidos	32
Tabla N° 7 Presupuesto	35

INDICE DE GRAFICOS

Grafico N° 1 CALIDAD DE OVOCITOS	28
Grafico N° 2 CALIDAD DE OVOCITOS	29
Grafico N° 3 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS	30
Grafico N° 4 CALIDAD DE OVOCITOS	30
Grafico N° 5 CALIDAD Y PORCENTAJE DE OVOCITOS	32
Grafico N° 6 CALIDAD Y PORCENTAJE DE OVOCITOS	33

1. INFORMACIÓN GENERAL

TÍTULO DEL PROYECTO: Obtención de ovocitos de llamas (*lama glama*) en la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí.

Fecha de Inicio:

Octubre 2017

Fecha de Finalización:

Febrero 2018

Lugar de Ejecución:

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Facultad Académica Que Auspicia:

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que Auspicie:

Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Nuevas Alternativas Pecuarias y de Salud Publica

Área de Conocimiento:

Epidemiología y Salud Animal

Línea de investigación:

Salud animal

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Mejoramiento Genético y Reproducción – Epidemiología Animal

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Mediante este proyecto de investigación se podrá observar el tipo de ovocitos que se encuentran en diferentes estadios de desarrollo. Por esta razón se hace necesario conseguir una fuente alternativa que permita la observación de ovocitos mediante la aplicación de las técnicas de Slicing folicular y aspiración folicular post-mortem y poder así seguir avanzando en el desarrollo de las biotecnologías de la reproducción.

Una de las vías alternativas para la obtención de ovocitos es precisamente el empleo de ovarios de llamas sacrificadas en la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí, los mismos que serán extraídos de forma técnica y conservada de manera correcta hasta llegar al laboratorio.

Se debe considerar que para la extracción de los ovarios deben ser animales que presenten una muy buena conformación reproductiva como peso, edad y que sean libres de cualquier enfermedad zoonótica, y así exista un diagnóstico de laboratorio de forma clara y precisa sobre la observación de ovocitos de camélidos sudamericanos.

Una de las principales causas de este proyecto es demostrar la calidad de ovocitos extraídos mediante la aplicación de las técnicas de slicing folicular y aspiración folicular: por lo que la investigación se realizara con el objeto de determinar cómo afectan las técnicas del slicing folicular y aspiración folicular en la categorización, calidad y rendimiento de ovocitos recuperados de los ovarios de llamas: y así establecer cuál de estas técnicas es la más efectiva para la de obtención de ovocitos, maximizar el número total de ovocitos obtenidos mediante la aplicación de la técnica de observación microscópica.

Las principales metas de este proyecto es aportar un conocimiento de solución a un problema de la biotecnología de la reproducción al determinar la validez de las técnicas de extracción de ovocitos post mortem, además se cuenta con la información necesaria para el desarrollo del proyecto como la actuación de docentes capacitados en la especialidad de biotecnología de la reproducción, además permitirá ostentar con el siguiente paso previo al desarrollo del proyecto de titulación uno por parte del estudiante.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO:

3.1. Beneficiarios directos:

- La Universidad Técnica de Cotopaxi.

- Carrera de Medicina Veterinaria.
- Segundo Jaime Yanqui Chicaiza.

3.2. Beneficiarios indirectos:

- Varias comunidades dedicadas a la crianza de camélidos sudamericanos.

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

Los camélidos sudamericanos, como las llamas son especies económicamente importantes en las zonas altoandinas principalmente por su producción de fibra y carne. Sin embargo existen factores que afectan a la producción de estos camélidos entre los que se puede señalar la baja eficiencia reproductiva como una importante limitante.

En las diversas especies domésticas se emplean biotecnologías reproductivas para mejorar los índices reproductivos y productivos. En camélidos sudamericanos los estudios sobre biotecnología reproductiva son limitados. En tal sentido, la obtención de ovarios provenientes de llamas hembras beneficiadas en el camal es una fuente importante para la recuperación de complejos ovocito-cúmulo facilitando gran disponibilidad de ovocitos a bajo costo, los que podrían ser recolectados, trasladados de forma correcta hasta llegar al laboratorio y ser aplicados las 2 técnicas de obtención y de esta manera nos permitirá calificar la validez de los ovocitos para así poder crear fuentes de conocimiento en biotecnología reproductiva de camélidos sudamericanos.

5. OBJETIVOS:

5.1. GENERAL:

- Obtener ovocitos post-mortem de llamas de la planta de faenamiento del GAD municipal del Cantón Saquisilí.

5.2. ESPECÍFICOS:

- Valorar las técnicas de slicing y aspiración folicular para obtención de ovocitos en llamas.
- Evaluar la calidad de ovocitos obtenidos de ovarios post - mortem.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:

Tabla N° 1 Objetivos planteados

Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Descripción de la actividad (técnicas e instrumentos)
<p>Valorar las técnicas de slicing y aspiración folicular para la obtención de ovocitos de llamas.</p>	<p>Selección de técnicas para la observación de los ovocitos por Slicing folicular y aspiración folicular.</p>	<p>Recolectar los ovocitos mediante la técnica de Slicing folicular y aspiración folicular.</p>	<p>Técnica de aspiración: realizar la aspiración del material genético en el ovario con una jeringa y aguja de 21G x 11/2 pulgadas y depositar en una caja Petri con solución Tampón Fosfato Salino.</p> <p>Técnica de Slicing folicular: realizar un corte transversal del ovario con un bisturí y proceder el lavado con la solución Tampón Fosfato Salino sobre una caja Petri.</p>
<p>Evaluar la calidad de ovocitos obtenidos de ovarios post-mortem.</p>	<p>Recolectar 16 unidades de ovarios de llamas sacrificadas, semanalmente durante un periodo de un mes.</p>	<p>Observación de los ovocitos de mayor y menor calidad.</p>	<p>Agregar los ovocitos en una caja Petri acompañado de 4ml de solución de Holding y seguidamente colocar la placa preparada en el stereomicroscopio.</p>

7. MARCO INVESTIGATIVO:

7.1. Origen de los camélidos sudamericanos

7.1.1. Llamas

La llama (*Lama glama*) es el animal más dócil de todos los camélidos, también se caracteriza por ser rústica, mansa, versátil, tímida y por reconocer fácilmente al dueño; su uso es preferentemente como animal de carga y tiene excelentes perspectivas como animal carnicero por su alto rendimiento y peso. **(Wheeler, 2006)**

Es la forma doméstica del guanaco y fue posiblemente el primer animal que domesticó el hombre andino hace unos 8 000 años es uno de los más importantes de épocas pre-hispánicas; cuando los españoles llegaron quedaron admirados con la llama (*Lama glama*), pues a diferencia del caballo, que necesita una ración diaria de comida bien balanceada, herrajes, arnés, y silla para transportar carga, la llama posee una fisonomía apropiada para ello y puede alimentarse tan sólo con hierba que crece en cualquier lugar de los Andes; vive desde Colombia hasta Bolivia, norte de Argentina y noreste de Chile, la mayoría habita los Altos Andes, a más de 3 800 msnm., se estima que existen aproximadamente 2.5 millones de llamas a nivel mundial. **(Urrutia A, 2006)**

La llama es el camélido sudamericano de mayor tamaño pudiendo llegar entre 100 y 129 kilogramos aproximadamente. Produce una fibra más gruesa que la de la alpaca; existen dos razas de llamas C´cara (pelada) produce mayor cantidad de fibra, pero muy quebradiza; la fibra se extiende desde la frente hasta el tren posterior, sin llegar a cubrir sus extremidades. El segundo raza es Ch´aku (lanuda) se caracteriza por tener un cuello largo y fuerte, la cara y la cabeza son limpias sin pelos. **(Sepúlveda, 2011)**

Los camélidos sudamericanos poseen ciertas características reproductivas que los hacen diferentes de otros animales de granja. Por ejemplo, las hembras en edad reproductiva muestran periodos extendidos de receptividad sexual al macho y pueden copular en cualquier época del año. La hembra es de ovulación inducida, la gestación dura aproximadamente 11,5 meses y la placenta es de tipo difuso; el macho copula entre 5 a

50 minutos emitiendo un sonido gutural característico y deposita el semen en los cuernos uterinos. (Cardozo A, 2005)

7.2. Razas de llamas

Se reconoce tres razas fenotípicas de llamas denominadas khara, Tamphulli y Wakaya. y se diferencia el primero por tener mayor alzada, mayor peso vivo y pecho profundo, la segunda se diferencia por ser de tamaño más pequeña que la khara es portadora de fibra fina y la tercera es de menor resistencia para labores de carga, pero de buena producción de lana, más larga y fina que las dos anteriores. (Lamo, 2011)

7.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Las alpacas y llamas pertenecen a la familia de los Camélidos Sudamericanos, y se clasifican según lo menciona (Sepulveda, 2011) en:

Clase: Mamíferos

Orden: Artiodáctilos

Familia: Camélidos; comprende llamas, alpacas, guanacos, vicuñas y también camellos.

Tribu: Lamini; incluye llamas, alpacas, guanacos y vicuña.

Géneros:

- Lama; incluye llamas, alpacas y guanacos.
- Vicuña; incluye sólo vicuñas

7.4. CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A LA EDAD Y SEXO.

De acuerdo a (Mena, 2012), se las puede clasificar de la siguiente manera:

- **Crías:** Del nacimiento hasta 8 meses de edad (destete).
- **Tuis menores (extremos):** Del destete hasta 1 año de edad.
- **Tui mayor:** Alpaca hembra o macho de 1 - 2 años de edad.
- **Ancutas:** Se las denomina así hasta que tengan el primer parto.
- **Madres:** Alpacas hembras con crías.
- **Padres o reproductores:** Alpacas machos que ingresan al empadre.
- **Hembras vacías (urhuas):** Son aquellas que a los dos años ingresan recién al empadre o aquellas que durante el empadre no fueron fecundadas.

- **Capones:** Alpacas tuis de descarte (castrados).

7.5. PUBERTAD

El comienzo de la pubertad de los camélidos sudamericanos es alrededor de los 12 a 13 meses, mientras que en el macho pareciera estar determinada alrededor de los 2 años de edad. La presencia de la pubertad está relacionada con el estado nutricional, alcanzándola con un 60% del peso adulto. **(Estudio FAO, 2013)**

7.6. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

7.6.1. Ovarios

Son órganos pares localizados en la cavidad abdominal, están fijados por el mesovario y envueltos por la bolsa ovárica, son de forma ovalada en hembras pre-púberes, la superficie ovárica es lisa; en cambio, en hembras en estado reproductivo, es irregular debido a la presencia de folículos en varios estadios de desarrollo, mide de (1,3 - 2,5 x 1,4 - 2,5 x 0,5 - 1,0 cm), con la presencia del cuerpo lúteo, con pequeños folículos que no se pueden ser detectados por palpación (1 a 3 mm) el peso ovárico se incrementa, ya que pesa de 1,2 a 1,7 g lo que representa la mayor proporción del peso total del ovario. **(Garcia, 2014)**

7.6.2. Vulva

Externamente es el órgano más visible es una apertura orientada verticalmente de 2,5 a 3,0 cm de longitud; tiene labios externos bien definidos, que en la parte inferior terminan con una protuberancia, no se observan cambios marcados en el aspecto de la vulva en relación a los ciclos foliculares, se le puede notar tumefacta y algo hinchada en hembras muy próximas al parto y en algunas hembras están predispuesta a sufrir infecciones del tracto reproductivo por un problema de conformación, cuando la vulva esta demasiado inclinado hacia adelante (en vez de vertical) las heces contaminan la vagina; esto lleva a infecciones que reducen la fertilidad de la hembra. **(Estudio FAO, 2013)**

7.6.3. Oviducto

Son tubos delgados y sinuosos que unen el ovario con el útero tienen un diámetro es de 2 a 3 mm, su extremidad próxima al ovario se ensancha a manera de embudo, formando una verdadera bolsa que envuelve el ovario; esta estructura sirve para recibir los óvulos liberados del ovario la porción ovárica del oviducto tiene mayor importancia en la fertilidad, ya que allí se efectúa la fecundación. **(Sepúlveda, 2011)**

7.6.4. Útero

El aspecto general del útero hace acordar al de la oveja, no obstante existe una diferencia importante, tiene una marcada bifurcación de los cuernos y cuando está en relajación tiene una forma de T típica, el útero está conformado por los cuernos uterinos, el cuerpo uterino y el cérvix o cuello; el cuerno izquierdo es más largo que el derecho de 10-12 cm vs 7-8 cm y tiene un grosor de 4-5 cm en la base y 3 cm en la punta el cuerpo uterino derecho es pequeño, con no más de 2.5 cm de largo y alrededor de 5 cm de ancho, el cuello o cérvix presenta de 23 anillos y la parte vaginal del cérvix no supera el cm de largo y presenta pliegues radiales, cuya imagen al espéculo recuerda a una evaginación de la mucosa (ectopión) esta no posee tapón mucoso y está cerrado, aunque no consistentemente en la hembra no grávida, teniendo esto un significado adaptativo de la estructura cervical al hecho de que la hembra no grávida presenta celo permanente; la afirmación de algunos autores de que la forma del cérvix uterino se debe a su adaptación a la forma del glande del pene, en una supuesta analogía con la especie porcina y asumiendo una eyaculación intra cervical, no parece ser muy consistente. **(García, 2014)**

7.6.5. Ligamento ancho o uterino

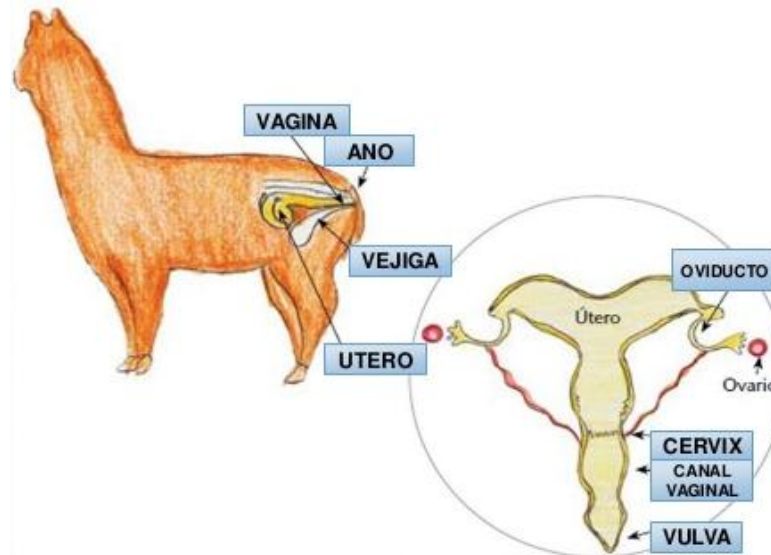
El ligamento ancho o ligamento uterino es una formación del mesenterio que mantiene al aparato reproductor en su posición predominantemente pelviana en la hembra no grávida, la parte izquierda del ligamento es ligeramente mayor que la derecha y esta diferencia de tamaño ya se verifica en el recién nacido; dado que la porción izquierda es grande, cuando se produce una contracción del cuerno izquierdo, se genera un pliegue en el ligamento y el ovario se coloca encima de dicho pliegue, el pedículo del ovario es largo y la ubicación del ovario izquierdo no es estable y en esa forma no siempre es fácil de palparlo como el derecho; la bolsa ovárica es mayor que la de los otros animales y está dividida por un septo en dos cámaras la lateral y la medial, la primera corresponde al infundíbulo. **(Frank N, 2010)**

7.6.6. Vagina

La vulva da entrada a la vagina, un órgano de forma tubular, a través del cual penetra el pene del macho durante la cópula y sale la cría en el momento del parto; normalmente la vagina es de 12 a 18 cm de largo y 2 a 4 cm de diámetro, esta se dilata para permitir la salida de la cría, pero los partos difíciles a menudo provocan lesiones en la vagina; si durante la monta se observa que el macho tiene dificultad en penetrar la hembra, puede

ser debido a algún defecto anatómico en la vagina, a insuficiente desarrollo de ésta, o a un himen (membrana) robusto y persistente. (Estudio FAO, 2013)

Imagen N° 1 Estructura del aparato reproductor.



Fuente.- (Fernanda B, 2014)

7.7. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA

Las actividades sexuales son estacionales (Diciembre- Marzo). Las tasas de ovulación y fertilización; al igual que la sobrevivencia embrionaria que es hasta los 60 días. Es posible que factores ambientales, tales como el mejoramiento de la temperatura y de la nutrición, junto a estímulos visuales u olfatorios, tengan gran influencia en la reproducción.

7.7.1. Estación Reproductiva

La ovulación es inducida o refleja. En ausencia del macho, la hembra presenta las llamadas “hondas foliculares”. Las alpacas muestran largos periodos de receptividad sexual o celo (hasta 36 días), con un periodo de anestro que tienen una duración que es no mayor a dos días. La hembra camélida puede admitir al macho durante la etapa de crecimiento y regresión. Solamente hay ovulación cuando ésta es servida y en el ovario tiene folículos (7 mm). (Hector B, 2009)

7.7.2. Ciclo Sexual

El tiempo mínimo entre monta y ovulación es de 26 y 24 horas. La ovulación se detecta ultrasónicamente, en promedio de dos días después del servicio pueden ovular sin

estímulo coital. Una segunda monta dentro de las 24 horas no provoca la liberación de la LH, después de un primer servicio.

7.7.3. La Ovulación

Las llamas no muestran signos exteriores de celo o receptividad. Si la hembra del rebaño no está receptiva, ella escapará del macho, escupiéndole. Los cambios en el comportamiento sexual son más evidentes en el macho que en la hembra. La cópula se realiza en posición “sentados”. La cópula es relativamente larga en todos los camélidos sudamericanos; en alpacas: 10 a 50 minutos, y en la llama varía de 10 a 60 minutos. **(Franco H, 2011)**

7.7.4. Deficiencias en la ovulación

Las investigaciones desarrolladas en permitieron determinar una de las más importantes características en la fisiología reproductiva de los camélidos, la condición de especies de ovulación inducida por lo que requieren de estímulos externos como la cópula para que ocurra el evento de la ovulación; las fallas en la ovulación pueden ser un factor importante en las deficiencias reproductivas de los centros de crianza. **(García, 2005)**

Investigaciones desarrolladas permitieron determinar que la ovulación no ocurre únicamente por el estímulo de la cópula sino por la presencia de una proteína, denominada Factor de la Hormona Luteinizante (LH) a partir de las células secretoras de la hipófisis, mediante un mecanismo de acción sistémico, recientemente se ha reportado su resistencia al calor y a la acción enzimática. **(Huanca, 2011)**

7.7.5. Manipulación de los ciclos foliculares

La hembra de los camélidos no presenta ciclos estrales como otras especies, pero en ausencia de cópula, permanecen en un estado de aceptación al macho hasta por 40 días de receptividad continua, con un corto periodo de rechazo, no mayor a las 48 horas; esta conducta de receptividad está determinada por el crecimiento folicular en forma de ondas, similar a otras especies domésticas, que se superponen; este crecimiento de las ondas foliculares ha sido reportada por diversos autores, con diferencias entre especie, señalándose un intervalo entre ondas de 12 a 16 días en alpacas o de 14 a 21 días en llamas dependiente de la condición de lactante o no lactante de la hembra, los estadios de desarrollo folicular presentan fases denominadas de crecimiento, estático o de regresión; en las condiciones del altiplano, las hembras de los camélidos presentan actividad de receptividad sexual durante los meses de Diciembre a Marzo o Abril, coincidiendo con la

época de lluvias y una mayor disponibilidad de pasturas, el corto periodo de servicio sugiere la necesidad de utilizar esquemas de manipulación ovárica, que permitan la sincronización de las ondas foliculares y realizar los servicios con presencia de folículos en fase de crecimiento o estática que posiblemente puedan ayudar a mejorar la tasa de preñez. **(Huanca, 2011)**

7.7.6. Ciclo ovárico de la llama

El ciclo ovárico se divide en dos eventos fisiológicos y que se suceden uno después del otro, la fase folicular y la fase lútea; la actividad folicular de las llamas inicia a los 6 meses, pero son estacionales además la ovulación es inducida por la copula del macho o mediante la administración de hCG; ya que esta no presenta celo y la hembra permanece receptividad al macho con periodos de no aceptación mayores a 48 horas. **(Ruiz, 2011)**

7.8. OVOGÉNESIS

Es el desarrollo de los óvulos tiene lugar en las gónadas femeninas: los ovarios; en este órgano, las células madres germinales sufren un complicado proceso en el que se pueden distinguir las siguientes fases. **(Flores, 2006)**

1^o) Fase de proliferación o multiplicación: las células madres germinales se multiplican por mitosis dando ovogonias.

2^o) Fase de crecimiento: las ovogonias atraviesan una fase de crecimiento y se convierten en ovocitos de primer orden (ovocitos I).

3^o) Fase de maduración: una vez que el ovocito primario ha completado su crecimiento está ya preparando para atravesar las dos divisiones de la meiosis y transformarse en una célula haploide con cromosomas; la ovótida.

Una peculiaridad muy importante de la ovogénesis es que durante la meiosis el ovocito no se divide en cuatro células iguales sino que la mayoría del citoplasma queda en una sola de ellas, la que dará lugar al ovulo. Así, cada ovocito primario da lugar a un único ovulo; las otras tres células restantes, muy pequeñas, se denomina crepúsculos polares y se trata en realidad de gametos abortivos que permanecen un tiempo adosados al ovulo hasta terminar atrofiarse y desaparecer. **(Felipe, 2006)**

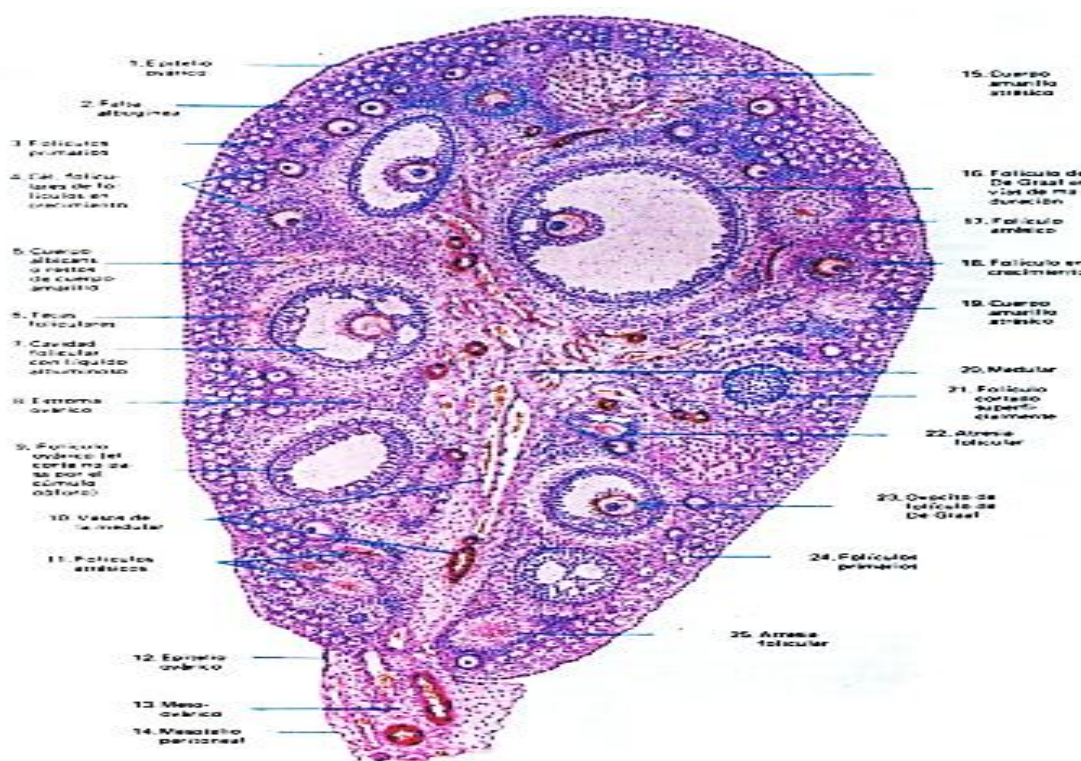
4^o) Fase de diferenciación: la ovótida se transforma en el óvulo. En general no se trata de una fase de transformaciones tan acusadas como las que suceden en el espermatozoide.

El ovulo es una célula haploide de gran tamaño, pues almacena sustancias nutritivas en forma de granos de vitelo. Como cualquiera otra célula está recubierta por la membrana plasmática. Pero en la mayor parte de los animales existen otras membranas de gran espesor envolviendo a la membrana plasmática. (Veeck, 2007)

7.9. OVULACIÓN

La ovulación es refleja o inducida y después de la copula con el macho a las 34,2 y 12,8 horas hay un aumento de la hormona luteinizante (LH) 15 minutos después de la copula seguido por un pico a las 2 horas y un retorno a los niveles basales a las 72 horas. (Rossi A, 2004)

Imagen N° 2 Desarrollo de un folículo ovárico



Fuente.- (Fiori, 2010)

7.10. FOLICULOGENESIS

El folículo es la unidad estructural y funcional de los ovarios. La foliculogénesis se define como el proceso de formación, crecimiento y diferenciación folicular; abarca desde el estadio de folículo primordial hasta el de folículo preovulatorio. La fase de crecimiento puede durar de 4 a 7 días, la fase de maduración puede durar de 7 a 21 días y la fase de regresión puede durar de 4 a 7 días. (Ruiz B, 2011)

7.10.1. Dinámica folicular

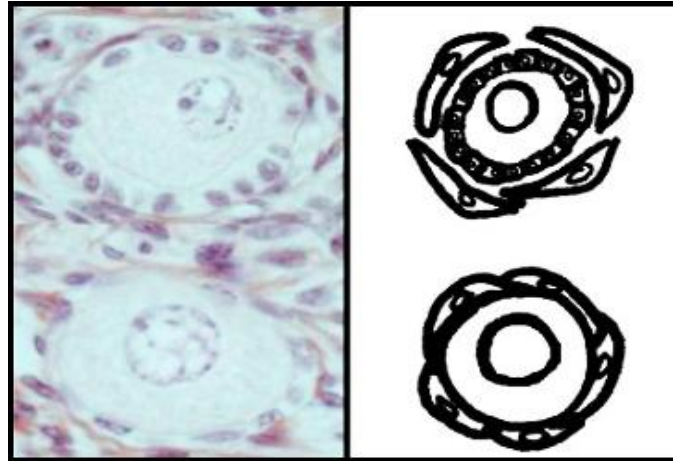
Las llamas no tienen ciclos estrales como otras especies domésticas. Cuando las hembras no son expuestas al macho presentan largos periodos de receptividad y largos periodos de no receptividad (48 a 72) horas, esto está relacionado con los niveles plasmáticos estrogénicos, reflejando las ondas sucesivas de maduración y atresia de los folículos ováricos; por lo tanto la tasa de remplazo de folículos dominantes que prevalecen por largos periodos, es probable que asegure niveles ininterrumpidos de estrógenos que facilite una casi continua receptividad al macho. **(Gigli, 2006)**

7.10.2. Fases del desarrollo folicular

Las células pre-granulosas, derivadas del epitelio ovárico, se diferencian en células granulosas, rodeando a los **ovocitos I**.

a) Folículos primordiales. Estos se caracterizan histológicamente por el ovocito I detenido en la profase de su primera división meiótica (diploteno) rodeado por una capa plana de células de la granulosa y no es hasta la pubertad bajo la acción de FSH que comienza el desarrollo folicular y termina allí en la corteza ovárica la primera división meiótica; es a partir de esta población estática y durmiente que se origina toda la población de folículos en crecimiento. La mayoría se atresian antes de adquirir las condiciones de folículo preovulatorio. **(Palma, 2007)**

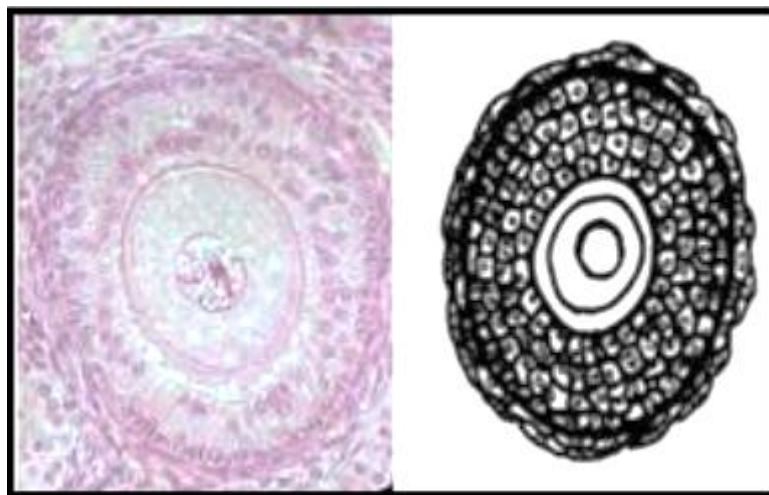
Imagen N° 3 Folículo Primordial



Fuente.- (Juarranz, 2012)

b) Folículo primario. Las células planas de la granulosa antes de comenzar a dividirse por mitosis se diferencian en una capa de células de forma cúbica que rodea al ovocito I, cuando esto sucede los folículos se clasifican en folículos primarios; en esta etapa el ovocito comienza a rodearse de una capa celular amorfa de glicoproteínas denominada zona pelúcida, las células de la teca interna comienzan a rodear por fuera a las células de la granulosa. (Gigli, 2006)

Imagen N° 4Folículo Primario.

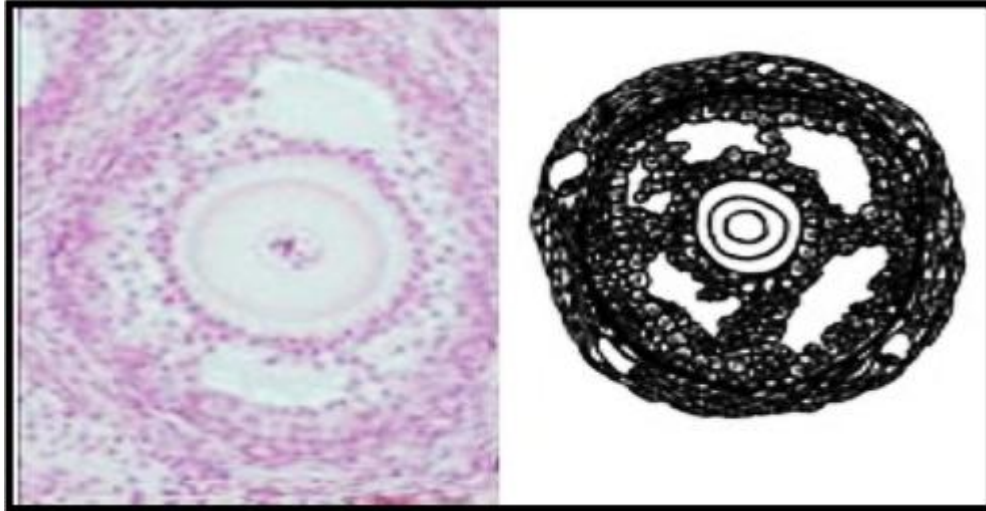


Fuente.- (Juarranz, 2012)

c) Folículo secundario. Las células de la granulosa aumentan de tamaño, número y se denomina folículo secundario al ovocito I rodeado por varias capas de células de la granulosa; las células tecaes se diferencian en una capa externa y otra interna rodeando

por fuera a las células de la granulosa, hasta este estadio los folículos se clasifican en preantrales debido a que aún no se ha formado la cavidad antral. (Gigli, 2006)

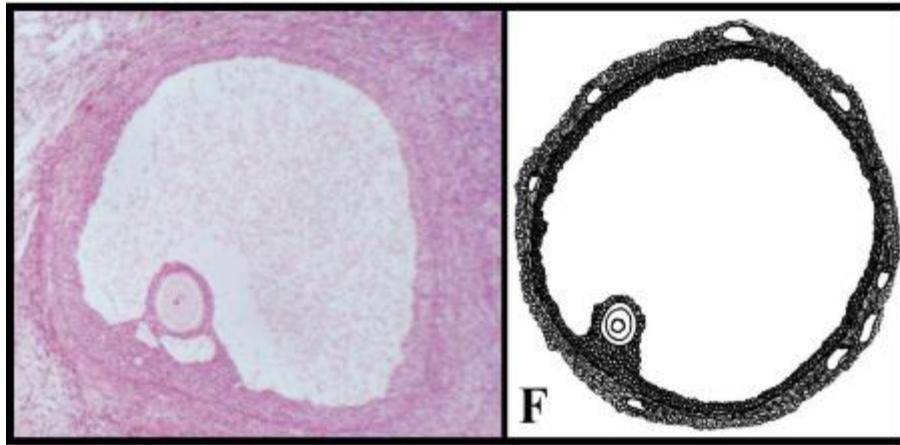
Imagen N° 5 Folículo Secundario



Fuente.- (Juarranz, 2012)

d) Folículos terciarios o folículos antrales.-se caracterizan histológicamente por la presencia de la cavidad antral y por estar rodeados de varias capas cúbicas de células de la granulosa que comienzan a secretar un trasudado que se denomina líquido folicular, que al acumularse produce un reordenamiento de las mismas en células del cúmulo y murales, los folículos terciarios se clasifican en dominantes y subordinados. (Gigli, 2006)

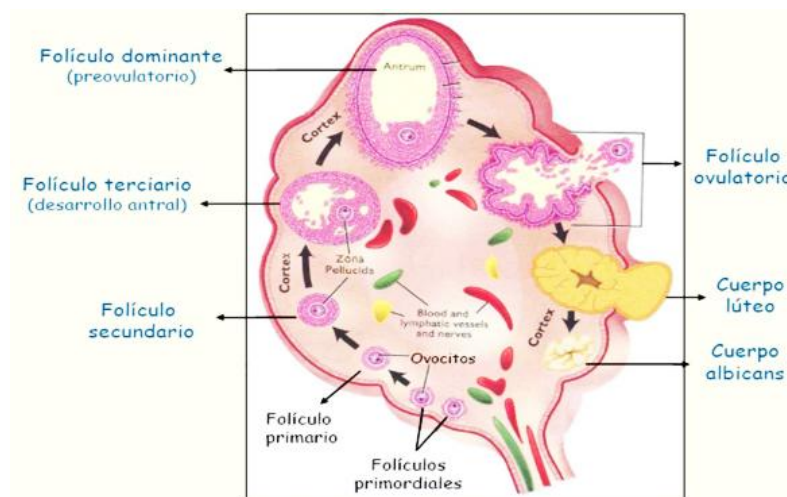
Imagen N° 6 Folículo Terciario.



Fuente.- (Juarranz, 2012)

e) **Folículos preovulatorio o folículos De Graf.** Tienen la capacidad de responder al estímulo de la LH produciendo cambios morfológicos y bioquímicos que finalizarán reiniciando la meiosis y desencadenando la ovulación; la segunda división meiótica comienza inmediatamente después de la ovulación, pero se detiene en metafase II y no se completa hasta tanto no penetre el espermatozoide. (Gigli, 2006)

Imagen N° 7 Estructuras Ováricas



Fuente.- (Juarranz, 2012)

7.10.3. Maduración del Óvulo

Antes de que se produzca la ovulación y la posterior fecundación, si se produce, debe terminar la meiosis. Esta comienza en las fases tempranas del desarrollo fetal. Los

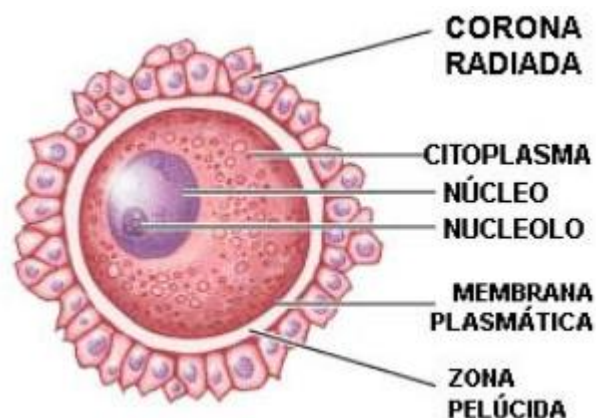
ovocitos primarios provenientes de la división de las células germinales primordiales entran en profase de la primera división meiótica y se detienen en el diploteno, reanudándose en los ovocitos de los folículos maduros, dando lugar a los ovocitos secundarios. La división separa de NUEVO en la metafase de la segunda división meiótica, terminándose rápidamente en el caso de que haya fecundación.

7.11. OVOCITO

En organismos animales, los gametos proceden de una estirpe celular específica llamada línea germinal que da lugar a las células germinales primordiales y que en etapas tempranas del desarrollo se diferencian y originan ovocitos (u oocitos) y espermatozoides. Los ovocitos presentan un tamaño medio de 75 p.m. Los ovocitos de mamíferos se encuentran rodeados de varias capas de células que constituyen el cúmulo oóforo. **(Franco & Gadella, 2006)**

El grado de crecimiento ovositarío se relaciona directamente con el número de células de la granulosa que lo rodean. También se ha propuesto que las células del cúmulo, después de la maduración del ovocito, pueden ayudar a guiar al espermatozoide hacia el ovocito justo antes de la fecundación, aunque no ha llegado a demostrarse este extremo. La ruptura de las células del cúmulo se lleva a cabo por diferentes enzimas liberadas por los espermatozoides. **(Roca & Vicente, 2010)**

Imagen N° 8 Estructura del ovocito



Fuente.- (Palma, G, 2013)

En cuanto a la estructura celular del ovocito en su etapa más temprana de crecimiento, la mayoría de los orgánulos subcelulares se encuentran agrupados alrededor del núcleo en el ooplasma o citoplasma del ovocito formando lo que se conoce como corpúsculo de

Balbiani o núcleo de yolk. El nucléolo pasa de un estado difuso y de aspecto reticular a un estado más denso y uniforme. Con el crecimiento del ovocito aumenta el número de ribosomas y de mitocondrias. (Azada, 2010)

7.11.1. Característica Morfológicas del Ovocito

a) Zona pelúcida.

Se denomina zona pelúcida (ZP) a la capa externa que rodea el ovocito de los mamíferos en el folículo de Graaf, separándolo del espacio perivitelino. Está compuesta por varias glicoproteínas agrupadas en tres familias: ZP1, ZP2 y ZP3, según sus propiedades inmunológicas y funcionales, y tiene un espesor total de 0.015-0.020 mm. (Cooper & Bedford, 2010)

b) Membrana Plasmática.

La membrana plasmática o celular es una estructura laminar que engloba a las células, define sus límites y contribuye a mantener el equilibrio entre el interior (medio intracelular) y el exterior (medio extracelular) de éstas. Además, se asemeja a las membranas que delimitan los orgánulos de células eucariotas. (Franco & Gadella, 2006)

c) Pronúcleo ovular.

El pronúcleo es el núcleo de los gametos. Posee la mitad del número de cromosomas de los núcleos de las otras células no reproductivas. Durante la fecundación los pronúcleos de un óvulo y al menos un espermatozoide se fusiona para crear el núcleo único del cigoto. (Nusshag, 2013)

d) Gránulos Corticales.

Gránulo vesicular, de un diámetro de 0,3 a 0,5 micras, que se encuentra bordeando toda la superficie interna del ovocito y que, tras la fecundación, se fusiona con la membrana plasmática, liberando un contenido que da lugar a lo que se llama reacción cortical, para formar la membrana de fecundación, evitando así la entrada de nuevos espermatozoides y, por tanto, la polispermia. (Hafez, 2012)

e) Espacio Perivitelino.

Espacio que queda entre el ovocito y la zona pelúcida que lo envuelve, de un grosor aproximado de entre 0,2 y 0,4 micras. (**Cabodevila & Teruel, 2011**)

7.11.2. Estado Madurativo de los Ovocitos

Estructuralmente el ovocito maduro mide entre 110-115 micras y está rodeado de una membrana llamada oolema. Esta membrana contiene el citoplasma del ovocito u ooplasma, donde se encuentran las organelas citoplasmáticas y el núcleo. Rodeando al conjunto ovocito-ooolema está la llamada zona pelúcida, que es de naturaleza glicoproteica y tiene un grosor de 15-20 micras que disminuye tras de la fecundación. (**Fernanda B, 2014**)

El conjunto ovocito-zona pelúcida mide aproximadamente 150 micras. Entre el oolema y la zona pelúcida está el espacio perivitelino, en el que se encuentra el corpúsculo polar. (**Fernández A, 2010**)

La presencia de un corpúsculo polar (CP) indica que la maduración nuclear ha finalizado. Se cree que hace falta un breve intervalo de tiempo tras la extrusión del primer CP, para que el citoplasma madure completamente. Un ovocito puede ser meioticamente maduro pero no haber alcanzado la madurez citoplasmática, lo que puede llevar a fallos o defectos en la fecundación. (**Fernanda B, 2014**)

Tradicionalmente, la valoración de la maduración del ovocito se ha basado en el grado de expansión del cumulo y la corona que lo rodea:

- Metafase II: células del cumulo expandidas y luteinizadas.
- Metafase I: células del cumulo menos expandidas.
- Pro fase I: células del cumulo compactadas. (**Ruiz J, 2012**)

7.12. DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA

En camélidos sudamericanos, también se describen onda foliculares pero de naturaleza anovulatoria, es decir, no llegan a ovular mientras las hembras se encuentran en ausencia de machos a su alrededor; por tanto, las ondas foliculares continúan desarrollándose en forma continua, existiendo siempre la presencia de un folículo dominante, la duración de la onda folicular en alpacas varía entre 12 a 16 días, con presencia de folículos dominantes que alcanza los 8.8 mm. (**Vasquez M, 2010**)

7.13. METODOS DE RECOLECCIÓN DE OVOCITOS DE CAMELIDOS

7.13.1. Punción folicular trans-vaginal y recuperación de ovocitos:

Esta técnica se compone de tres partes un ecógrafo con un transductor sectorial (sonda), una bomba de aspiración y un sistema de guía de la aguja, conectado a un recipiente de recolección de ovocitos. Al animal se lo puede sedar para lograr una relajación de los intestinos, remover las heces del recto durante la palpación y posteriormente se realiza la anestesia epidural con lidocaína al 2% para evitar el movimiento del recto durante el procedimiento. **(Palma. A.G, 2011)**

La vulva y el periné deben ser limpiados y desinfectados antes que el dispositivo de OPU, que contiene el transductor sectorial y el sistema de guía de la aguja, sean introducidos en la vagina.

El dispositivo tiene un mango mediante el cual puede ser manipulado con una mano fuera del animal. La cabeza del transductor es fijada en posición craneo dorsal, introduciendo la mano en el recto, el operador fija el ovario para fijarlo contra la cabeza del transductor, de esa forma el ovario y sus folículos pueden ser visualizados en la pantalla del ecógrafo; la aguja se visualiza en el sector escaneado, pudiendo puncionarse los folículos cuyo contenido es aspirado mientras se colapsan. La línea de punción, que indica donde debe ser ubicado el folículo para una punción exitosa, está programada en el software que controla las imágenes ecográficas y puede ser visualizada en la pantalla. El operador mueve la aguja lentamente hacia craneal hasta que la pared vaginal es atravesada y esta penetra el folículo, la aguja está conectada a la bomba de vacío que aspira el contenido del folículo; el líquido folicular y el ovocito son recolectados en un recipiente que contiene medio de recolección y heparina. Los ovocitos se identifican utilizando una lupa estereoscopia y por medio de una pipeta son colocados en un medio de maduración. **(Palma. A.G, 2011)**

7.13.2. Slicing folicular

Los ovarios son transportados en solución fisiológica al 0,9%, a una temperatura entre 30 – 35°C, hasta el laboratorio. Alrededor de 2 horas post recolección de los ovarios, se lavan por tres veces en solución fisiológica al 0,9%. Los ovarios se fijaron a una pinza hemostática curva para con un bisturí seccionar longitudinal y transversalmente cada folículo de 2 – 8 mm de diámetro visibles en la superficie del ovario, y luego se sumerge

para lavarse con una suave presión cada área seccionado en un medio de lavado entre 5 – 10 ml en una placa de Petri graduado y protegido de la luz. (Gomez O, 2012)

7.13.3. Aspiración folicular post-mortem

Los ovarios fueron colocados en solución fisiológica al 0,9% a 30-35°C, al que se agrega penicilina G potásica, la cual se puede transportar por 4 horas al laboratorio; se procedió a lavar los ovarios con solución fisiológica al 0,9% a 30-35°C y retirar los restos de tejido. Para luego aspirar los folículos visibles utilizando una jeringa de 10ml con una aguja de 21G x 11/2 pulgadas para luego colocarlas en un medio de lavado entre 5-10ml en una placa Petri graduada. (Shively M, 2011)

7.13.4. Disección-ruptura folicular

Se inicia diseccionando folículos de 2 a 6mm hasta aislar la integridad del folículo ovárico, luego se procede a realizar ruptura de la membrana del folículo en una placa Petri graduada, utilizando un bisturí delgado, se lleva la muestra a una lupa estereoscopia para identificar los ovocitos.(Ruiz J, 2012)

7.14. CLASIFICACIÓN DE LOS OVOCITOS

Se determina de acuerdo al número y compactación de las células del cúmulo y al grado de homogeneidad del citoplasma.

7.14.1. Los ovocitos pueden ser clasificados en cuatro etapas

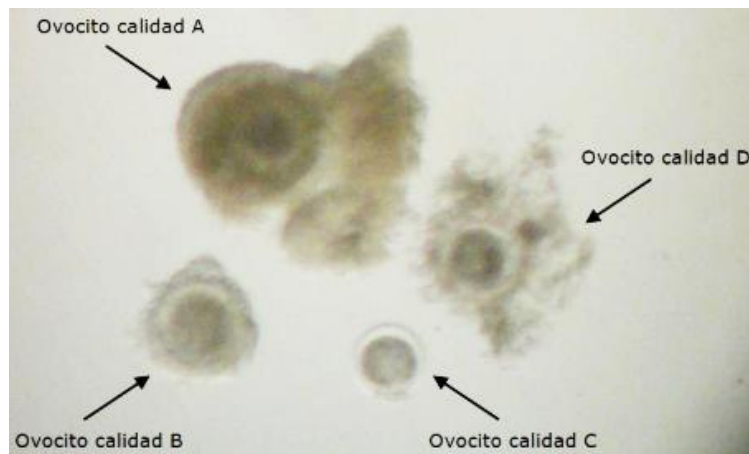
Tipo A. Corresponde a un ovocito con células de cumulus con capas múltiples mayor a 4, son compactas y el citoplasma es homogéneo y transparente.

Tipo B. Capas múltiples de cumulus de 1 a 3, con citoplasma homogéneo y zonas periféricas oscuras.

Tipo C. Cumulus denudado y con citoplasma irregular con zonas oscuras.

Tipo D. Tiene un cumulus con células expandidas y un citoplasma irregular con zonas oscuras.(Palma. A.G, 2011)

Imagen N° 9 Tipos de Ovocitos por su Calidad



Fuente.- (Laing , 2013)

7.15. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS OVOCITOS

Se evalúan tomando los siguientes parámetros morfológicos.

1. Inmaduro.

- Pequeño, compacto, gris, cumulus no expandido.
- Células de corona formando un anillo oscuro alrededor de la zona pelúcida, ovocito apenas visible. **(Hincapie, 2010)**

2. Maduro.

- Cumulus expandido, pequeño.
- Corona no irradiada completamente.
- Ovocito parcialmente visible. **(Muccin, 2010)**

3. Maduro y Excelente.

- Cumulus grande y expandido
- Corona irradiada
- Ovocito claro y visible. **(Palma. A.G, 2011)**

4. Sobre Maduro.

- Cumulus pequeño y fino con pequeños parches de células oscuras.
- Se podrá observar un ovocito visible usualmente oscuro. **(Felmerr, 2009)**

5. Post maduro y Atrésico.

- Pequeños cumulus o totalmente.
- Ovocito oscuro.

7.15.1. Holding

Es el primer medio de mantenimiento de transferencia de embriones bovinos basado en una fórmula adaptada de un medio de cultivo de embriones probado. Holding Plus está diseñado para apoyar la supervivencia óptima de embriones en aire a temperatura ambiente y proporciona los aminoácidos, factores de crecimiento, enzimas, sustratos de energía y antibióticos esenciales. Holding Plus no es un medio apropiado para el cultivo a largo plazo de embriones bovinos en una incubadora de CO₂. Envasado en sobres de EVA con un puerto con septo para aguja y en tubos desechables de 8 ml. su vida útil es de 18 meses desde la fecha de fabricación, siempre que se utilice una técnica estéril y el almacenamiento recomendado es de 2 a 8 °C.

8. METODOLOGIA

Características del Lugar de Ejecución del Proyecto.

- **Provincia:** Cotopaxi.
- **Cantón:** Latacunga
- **Parroquia:** Eloy Alfaro
- **Comunidad:** Salache Bajo

Ubicación geográfica

- **Altitud:** 2750
- **Latitud:** -0.983333
- **Longitud:** -78.6167.

Características climáticas

- **Temperatura promedio:** 10 a 15°C

8.1. Recursos materiales

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizaron los siguientes materiales e insumos:

Materiales de campo:

- Overol
- Gorra
- Botas
- Guantes de manejo
- Termo de transporte

- Cámara fotográfica
- Caja de fundas herméticas
- Caja de agujas calibre 22
- Termómetro clínico.

Materiales de oficina:

- Hojas de fichaje
- Computadora
- Facilitador de memoria
- Impresora
- Resma de hojas
- Esferos de colores
- Tabla de campo
- Internet
- Anillados
- Empastados

Material de laboratorio:

- Cajas Petri con gradilla de recuento
- Micropipeta
- Estereomicroscopio(NIKON SMZ 745)
- Tres hojas de bisturí
- Jeringuillas (5ml)
- Caja de agujas desechables calibre 22
- Guantes de manejo
- Mandil
- Gasas
- Bandeja
- Alcohol antiséptico
- Cloruro de sodio al 0.9 %
- Solución holding (minitub)
- Caja de agujas calibre 22

Material biológico

- Ovarios post mortem

8.2.METODOLOGÍA

La metodología que se aplicó es el método técnico como la de (slicing folicular y aspiración folicular) donde se pudo verificar las variables y su calidad de ovocitos observados. Dicho de otra forma un experimento consiste en observar los cambios de una variable (variable independiente) y evaluar la calidad en otra variable (variable dependiente). Esto se llevó a cabo en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de observar la causa que se produce una situación o acontecimiento particular.

Los métodos técnicos como la de (slicing folicular y aspiración folicular) son los apropiados para poner a prueba las hipótesis que relacionan los tipos de obtenciones, es por ello que con esta metodología se realizó la manipulación de la variable independiente en este caso las dos técnicas aplicadas para la obtención de ovocitos como la de (slicing folicular y aspiración folicular).

8.3.Método de Observación directa.

Se utilizó este método para analizar las actividades que se iban desarrollando según lo establecido con el fin de seguir un proceso con tareas planificadas y obtener resultados favorables; acordes a los objetivos planteados.

8.4.Método de Observación Indirecta

Este método se utilizó para recopilar información y comprobar ideas que se suscitaron durante el desarrollo del proyecto de investigación, permitiendo recabar datos primordiales para establecer una fundamentación científica técnica eficaz.

8.5.Método de fichaje

Se utilizó este método para llevar un registro individual de todos los datos que se obtuvieron durante la aplicación de las dos técnicas de obtención.

8.6. Duración del proyecto

El proyecto tuvo como duración de 12 semanas, de las cuales 4 semanas correspondieron a la parte práctica.

9. DESARROLLO

9.1. Ensayo en la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí

En el presente proyecto se utilizaron 8 pares de ovarios obtenidos pos mortem (16 ovarios) de llamas las cuales se adquirió de la planta de faenamiento del GAD municipal del cantón Saquisilí, estas fueron llamas de descarte que estaban preparadas para el faenamiento; junto con la aprobación del personal técnico del mismo lugar.

Los ovarios obtenidos después del faenamiento fueron identificados y transportados en una funda hermética más cloruro de sodio a una temperatura de 37°C, se colocó en un termo para mantener la temperatura en el transcurso de 45 minutos hasta llegar al laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.2. Ensayo en el laboratorio

Se higienizo los ovarios post-mortem con solución fisiológica; colocando en una caja Petri, seguidamente se procedió a retirar los extractos anexos de los ovarios como ligamentos, tejido adiposo, fascias posterior.

Posteriormente se realizó un lavado adicional de los ovarios a base de suero fisiológico con el propósito de quitar las impurezas restantes.

9.3. Aplicación de técnicas.

Se aplicó las siguientes técnicas de obtención.

9.3.1. Método de Aspiración

Se introdujo el bisel de la jeringa dentro de cada uno de los folículos prosiguiendo a su aspiración para luego depositar el líquido folicular en una caja Petri con gradillas de recuento junto el medio Holding para identificar ovocitos.

9.3.2. Método de Slicing

Se procedió a realizar un corte transversal en el ovario con la ayuda de un bisturí número 22.

Se hicieron lavados retrógrados del ovario seccionado con solución holding y el contenido con el líquido folicular se depositó en una caja Petri con gradillas de recuento para su subsiguiente evaluación.

9.2. Evaluación de la cantidad y calidad de maduras de los ovocitos

Se llevó al Estereomicroscopio para realizar la selección de los ovocitos garantizando un óptimo resultado categorizándolos de la siguiente manera:

TIPO: A, B, C y D tomando en cuenta las siguientes características:

Tipo A: ovocito con células de cumulus con capas múltiples mayor a 4, compactas y con citoplasma homogéneo y transparente.

Tipo B: capas múltiples de cumulus de 1 a 3 con citoplasma homogéneo y zonas periféricas oscuras.

Tipo C: ovocitos con cumulus desnudado con citoplasma irregular con zonas oscuras.

Tipo D: son ovocitos que tienen cumulus con células expandidas y un citoplasma irregular con zonas oscuras.

Una vez encontrados los ovocitos de tipo A (inmaduros) se procedió a lavar en diversas gotas de holding colocadas en una caja petri diferente hasta que estén completamente limpios.

10. PREGUNTAS CIENTIFICAS O HIPOTESIS

Ha. La obtención de ovocitos de llamas post mortem es eficiente para la identificación mediante las dos técnicas de slicing y aspiración folicular.

Ho. La obtención de ovocitos de llamas post mortem no es eficiente para la identificación mediante las dos técnicas de slicing y aspiración folicular.

11. TIPOS DE VARIABLES:

11.1 Variable dependiente.

Técnicas de extracción de ovocitos (Slicing folicular y Aspiración folicular).

11.2 Variable independiente.

Calidad y cantidad de ovocitos observados en cada técnica.

12. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el presente proyecto de investigación se detalla los resultados obtenidos en la fase de observación los análisis estadísticos y las representaciones gráficas de los Mismos,

determinando la influencia de las variables: Número de ovocitos, calidad de ovocitos y su estado de madurez de los ovocitos.

12.1. Numero de ovocitos obtenidos por la técnica de aspiración folicular:

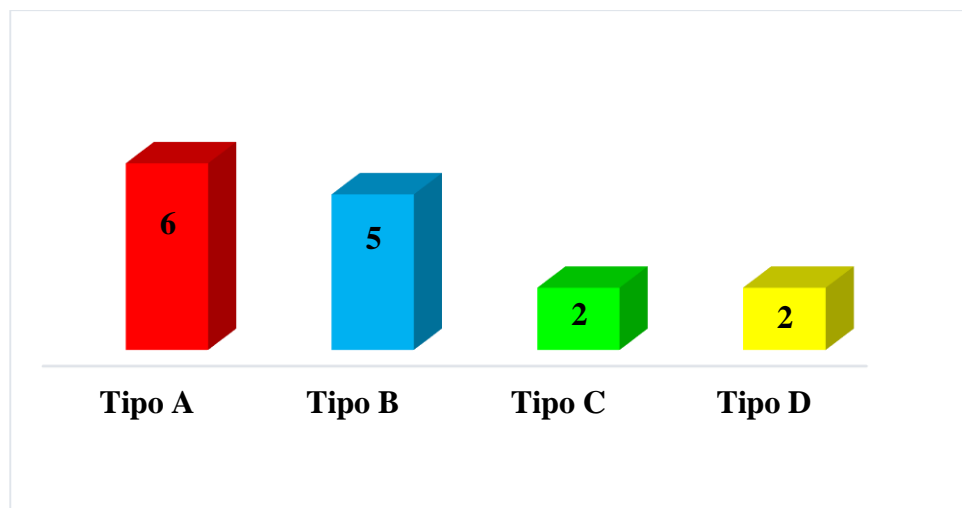
Tabla N° 2 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS

SEMANA 1 (ASPIRACIÓN FOLICULAR)					
NÚMERO DE OVARIOS	CANTIDAD DE OVOCITOS POR OVARIO	TIPO A	TIPO B	TIPO C	TIPO D
1	3	2		1	
2	2		1	1	
3	4	3			1
4	6	1	4		1
TOTAL DE OVOCITOS	15	6	5	2	2

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

Grafico N° 1 CALIDAD DE OVOCITOS



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

En el cuadro 1 y gráfico 1 indica el número de ovarios utilizados en la primera semana y la cantidad de ovocitos observados mediante la técnica de aspiración folicular, se pudo obtener 15 ovocitos, los cuales están clasificados de la siguiente manera.

Tipo A con un total de 6 ovocitos.

Tipo B con un total de 5 ovocitos.

Tipo C con un total de 2 ovocitos.

Tipo D con un total de 2 ovocitos.

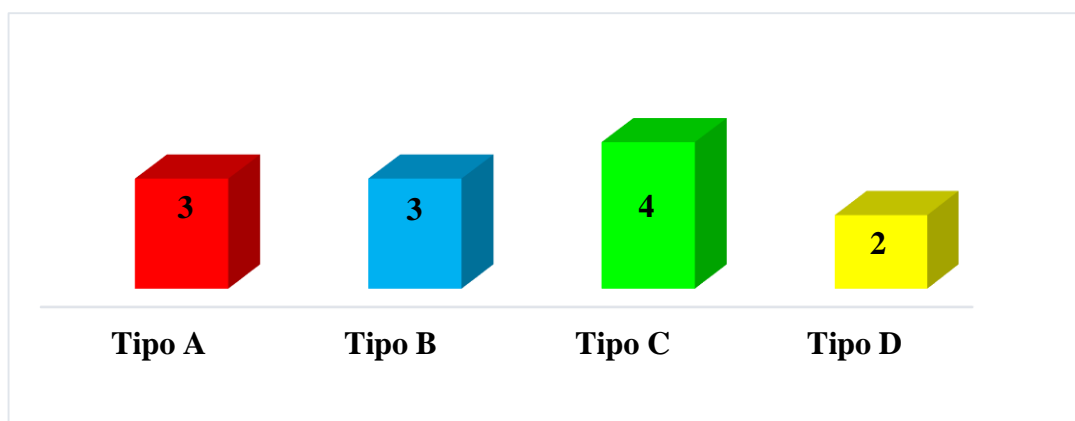
Tabla N° 3 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS

SEMANA 2 (ASPIRACION FOLICULAR)					
CANTIDAD DE OVARIOS	NUMERO DE OVOCITOS POR OVARIO	TIPO A	TIPO B	TIPO C	TIPO D
1	3		1	2	
2	4	1	2		1
3	2			2	
4	3	2			1
TOTAL DE OVOCITOS	12	3	3	4	2

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

Gráfico N° 2 CALIDAD DE OVOCITOS



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

En el cuadro 2 y gráfico 2 indica el número de ovarios utilizados en la segunda semana y la cantidad de ovocitos observados mediante la técnica de aspiración folicular, se pudo obtener 12 ovocitos, los cuales están clasificados de la siguiente manera.

Tipo A con un total de 3 ovocitos.

Tipo B con un total de 3 ovocitos.

Tipo C con un total de 4 ovocitos.

Tipo D con un total de 2 ovocitos.

12.2. Número de ovocitos obtenidos por la técnica de slicing folicular:

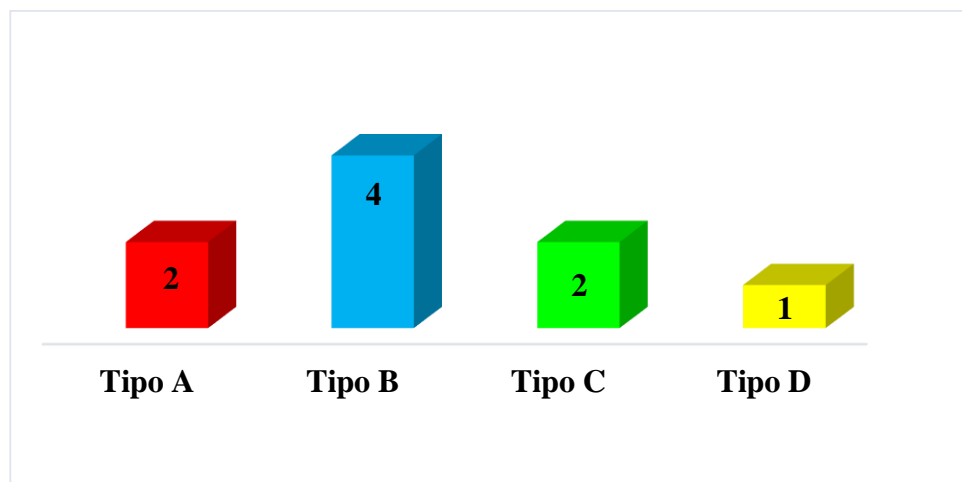
Tabla N° 4 OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS

SEMANA 3 (SLICING FOLICULAR)					
CANTIDAD DE OVARIOS	NUMERO DE OVOCITOS POR OVARIO	TIPO A	TIPO B	TIPO C	TIPO D
1	3	1	2		
2	3		2		1
3	2	1		1	
4	1			1	
TOTAL DE OVOCITOS	9	2	4	2	1

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

Gráfico N° 3 CALIDAD DE OVOCITOS



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

En el cuadro 3 y gráfico 3 indica el número de ovarios utilizados en la tercera semana y la cantidad de ovocitos observados mediante la técnica de slicing folicular, se pudo obtener 9ovocitos, los cuales están clasificados de la siguiente manera.

Tipo A con un total de 2ovocitos.

Tipo B con un total de 4ovocitos.

Tipo C con un total de 2ovocitos.

Tipo D con un total de 1ovocitos.

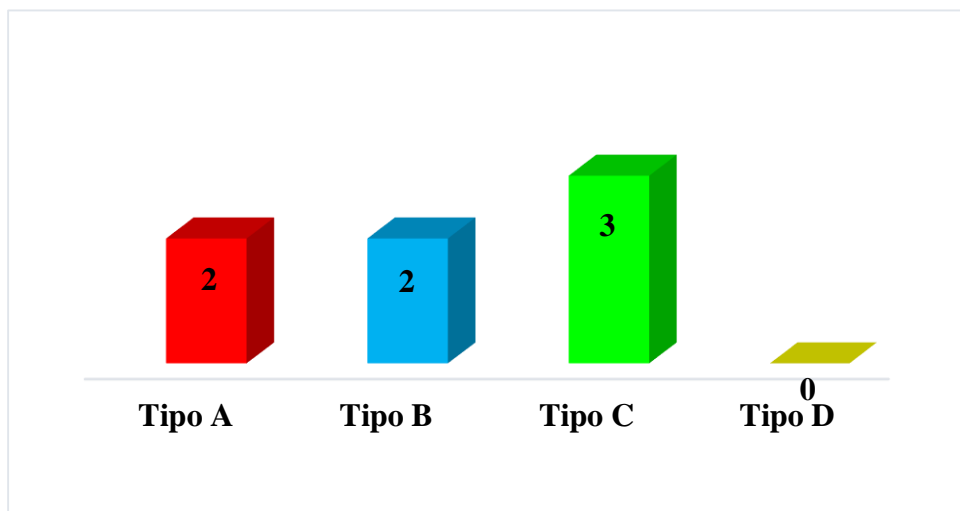
Tabla N° 5OVOCITOS OBTENIDOS Y CATEGORIZADOS EN CUATRO TIPOS

SEMANA 4 (SLICING FOLICULAR)					
CANTIDAD DE OVARIOS	NUMERO DE OVOCITOS POR OVARIO	TIPO A	TIPO B	TIPO C	TIPO D
1	2		1	1	
2	1	1			
3	2		1	1	
4	2	1		1	
TOTAL DE OVOCITOS	7	2	2	3	0

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

Gráfico 4. CALIDAD DE OVOCITOS



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

En el cuadro 4 y gráfico 4 indica el número de ovarios utilizados en la tercera semana y la cantidad de ovocitos observados mediante la técnica de slicing folicular, se pudo obtener 7 ovocitos, los cuales están clasificados de la siguiente manera.

Tipo A con un total de 2 ovocitos.

Tipo B con un total de 2 ovocitos.

Tipo C con un total de 3 ovocitos.

Tipo D con un total de cero ovocitos.

12.3. Número de ovocitos obtenidos por la técnica de Aspiración y slicing folicular:

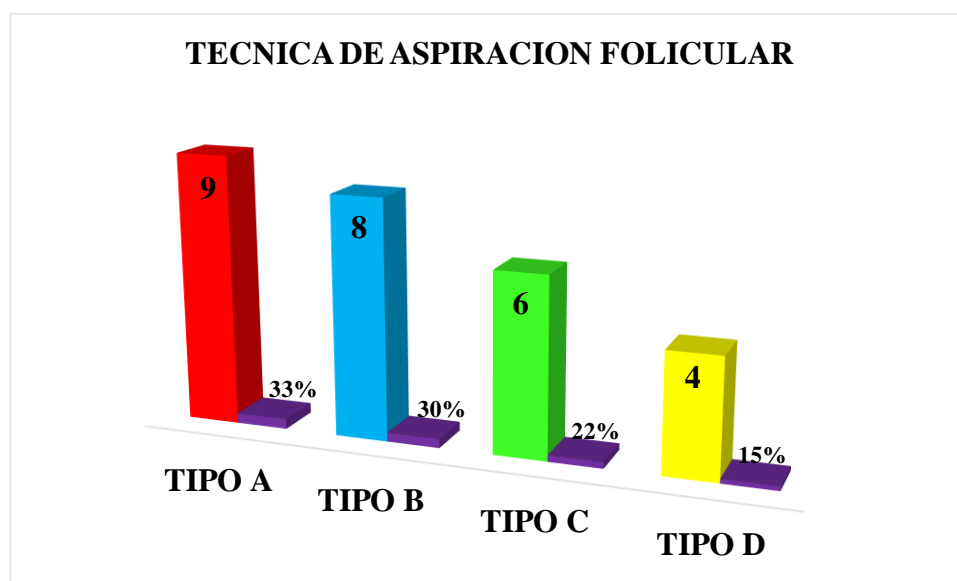
Tabla N° 6 Total de ovocitos obtenidos

OBTENCIÓN DE OVOCITOS POR LAS DOS TÉCNICAS						
TIPOS DE TÉCNICAS	Nº DE OVARIOS	Nº DE OVOCITOS	TIPO A	TIPO B	TIPO C	TIPO D
ASPIRACIÓN FOLICULAR	8	27	9	8	6	4
	PORCENTAJE		33 %	30 %	22 %	15 %
SLICING FOLICULAR	8	16	4	6	5	1
	PORCENTAJE		25 %	38 %	31 %	6 %
TOTAL	16	43	13	14	11	5

Fuente: directa

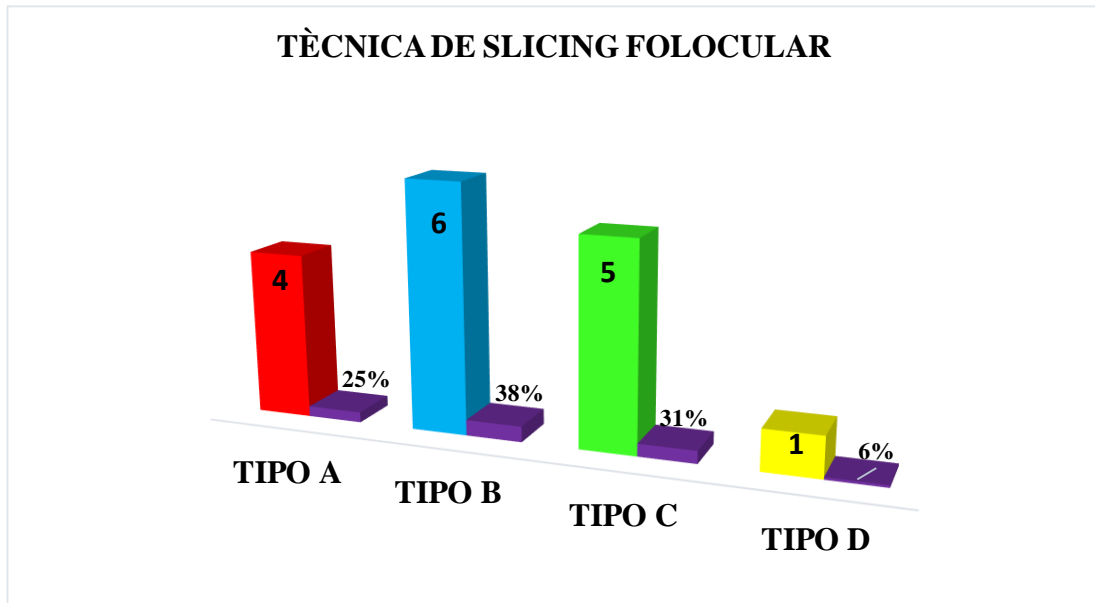
Elaborado: Yanqui, J. 2018

Grafico N° 4 CALIDAD Y PORCENTAJE DE OVOCITOS



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

Grafico N° 5 CALIDAD Y PORCENTAJE DE OVOCITOS

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

En el cuadro 5 y gráficos 5 y 6 de acuerdo a la aplicación de las 2 técnicas se determina que el total de ovocitos obtenidos son 43, los mismos que: 13 ovocitos tipo A son inmaduros, mientras que los 14 ovocitos tipo B, C y D son maduros, con sus respectivos porcentajes.

12.4. Discusión

En el presente proyecto de investigación se utilizó 8 ovarios post-mortem de llamas los cuales se aplicó la técnica de aspiración folicular, se obtuvieron 27 ovocitos para un promedio de 6.7 ovocitos por ovario con una calidad de 9 (33%), 8 (30%), 6 (22%) y 4 (15%) clase A, B, C y D respectivamente.

En el segundo experimento, donde se empleó la técnica de slicing folicular de 8 ovarios post-mortem se obtuvo 16 ovocitos dándonos un promedio de 4.0 ovocitos por ovario, según la evaluación morfológica de los ovocitos 4 (25%), 6 (38%), 5 (31%) y 1 (6%) fueron de clase A, B, C y D.

Al comparar ambas técnicas sobre la tasa de obtención de ovocitos se demostró que la técnica de aspiración folicular resultó más efectivo al lograr una diferencia de 2 ovocitos más por cada ovario respecto a la técnica de slicing folicular. Recientemente Vergos y

col, y Lonergan y col, demostraron una menor eficacia del método de Slicing folicular respecto al método de aspiración folicular.

La diferencia numérica podría deberse a que el intervalo de dos oleadas de crecimiento folicular consecutivas son diferentes en las distintas especies de camélidos tal como reporta Vaughan *et al.* (2004) de 12 a 16 días en alpacas y Adams *et al.* (1990) reporta de 18 días en llamas, también podría variar con la localización geográfica, la estación del año, la situación fisiológica de la hembra tal como indica Adams *etal.* (1990).

13. IMPACTOS (TECNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONOMICOS):

El estudio de la obtención de ovocitos es de mucha importancia reproductiva ya que en la actualidad se requiere realizar programas de conservación y mejoramiento genético ya que esta especie además de generar carne, cuero y fibra, al ser esta especie sometida a un manejo técnico ambiental la producción de estos animales con enfoque ganadero asegura una mejor calidad de carne fibra con mínima inversión, mínimos requisitos ambientales y sanitarios y máximo rendimiento aun en predios seriamente degradados. La crianza de camélidos sudamericanos específicamente las llamas no generan impacto ambiental, ya que esta especie es diseñada para el buen manejo y conservación de los páramos andinos su manejo y crianza de los camélidos sudamericanos, muestran un impacto negativo en la erosión y degradación del suelo ambiental ya que el animal al extraer nutrientes del suelo por medio de la recolección directa del alimento como las pasturas nativas, la paja y otros pastos nativos; este es más eficiente que al realizar utilizando maquinaria, de esta manera el animal devuelve los nutrientes extraídos a la tierra por medio de su residuo de material orgánico generando una respuesta positiva al cuidado del medio ambiente y estableciendo un equilibrio por ello es necesario establecer un buen manejo de esta especie para prevenir futuras pérdidas de animales de muy buena calidad reproductiva de esta manera mejorar la economía de las comunidades dedicadas a la crianza de camélidos sudamericanos.

14. PRESUPUESTO PARA LA PROPUESTA DEL PROYECTO:**Tabla N° 7 Presupuesto**

Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO			
	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	V. Total \$
Equipos (detallar)				
Transporte hacia la planta de faenamiento				
Visitas para la recolección de ovarios post mortem de llamas	4	Viaje	20.00	80.00
Materiales y suministros				
Cajas Petri de plástico	1 paquete	100	0.30	30.00
Jeringas de 5mL	1 caja	100	0.30	30.00
Agujas de 21G x 11/2	1caja	100	0.20	20.00
Guantes de manejo	1caja	100	0.25	25.00
Alcohol antiséptico	1	Litro	10	10.00
Termo de transporte	1	Caja	6.00	6.00
Algodón	1	60 g	5.50	5.50
Caja de fundas herméticas	1 caja	100	0.20	20.00
Solución fisiológica 0.9 %	3	Litro	7.00	21.00
Gentamicina de 28mg	2	Litro	14.00	28.00
Solución de holding	24	ml	15	120.00
Hojas de bisturí N° 22	5	5	0.25	1.50
Botas de caucho	1	Par	25.00	25.00
Overol	1	Unidad	20.00	20.00
Cámara fotográfica	1	Unidad	320.00	320.00
Material bibliográfico y fotocopias				
Impresiones	10	Unidades	0.10	40.00
Copias	50	Unidades	0.20	10.00
Tabla de campo	1	Unidades	0.80	1.00
Horas de internet	250	Horas	0.60	150.00
Esferos de colores	6	Unidades	0.50	3.00
Paquete de retman	4	Unidades	500	20.00
Anillados	4	Unidades	3.00	12.00
Enpastados	2	Unidades	2	39.12
TOTAL				1.101.92

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

15. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

15.1. Conclusiones

- Se utilizó 16 ovarios post-mortem el cual se obtuvo 43 ovocitos clasificados de tipo A, B,C y D mediante la aplicación de las dos técnicas.
- En la obtención de ovocitos resulta evidente la eficacia de la técnica de aspiración folicular, ya que se obtuvo mayor cantidad de ovocitos de tipo A que presentan con células de cúmulos con capas múltiples y con un citoplasma homogéneo y transparente.
- La obtención de ovocitos en esta investigación son ovocitos visibles formados con una corona no irradiada que pertenecen a la calidad madura.

15.2. Recomendaciones

- De acuerdo al autor Felmer en el año 2009 recomienda que el traslado de los ovarios se debe realizar a una temperatura de 37⁰C, si estos son transportados a una temperatura mayor a 37⁰C afecta a la coloración del líquido folicular y a la estructura del ovocito.
- Para obtener un mejor porcentaje de ovocitos de tipo A y B utilizar agujas de calibre 18 X 1 1/2 para evitar lesiones de la corona radiada y de la zona pelúcida del ovocito.
- Para mejores resultados de producción de ovocitos se recomienda súper ovular a los animales de tal manera poder recolectar la mayor cantidad de ovocitos en metafase II.

16. BIBLIOGRAFIA:

Libros

1. AZADA, D. Criopreservación de Ovocitos y Fertilización in vitro en Bovinos Primera Edición. ISBN: 698352124531 Año Publicado 2010 Página 150
2. ESTUDIO FAO Producción y Sanidad animal, Manual de Practicas de Manejo de Alpacas y llamas, Primer Edición, Editorial VIALLE DELLE TERME DI CARACALLA. Roma-Italia. Edición Española: 92-5-303903-5 Año Publicado 2013 Cap. 1 Págs. 13
3. CABODEVILA, J., & Teruel, M. Criopreservación de embriones bovinos. En: Biotecnología de la Reproducción. Argentina: Tercera Edición, Año Publicado 2011 Págs 66-78
4. COOPER, G. W., & Bedford, J. M. Cambio de densidad de carga en la superficie vitelino tras la fertilización del huevo del conejo. Perú Segunda Edición Año Publicado 2010 Págs 123-128
5. FELIPE S. Martin H. Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP), Vol. 7, Segunda Edición, Editorial Comité editorial. ISSN 1609-91170376-4370 Año Publicado 2006 Lima-Perú, Pág. 114.
6. FELMERR, Producción in vitro de embriones bovinos: Suplementación de los medios de cultivo con suero. Arch. Med. Vet, Sexta Edición. ISBN 9972- 47 – 113 – 6 Año Publicado 2009: Págs 97-104.
7. FLORES Dabte M. (2006) Manual de Crianza de Alpacas, Primera Edición, POA 2006, Huancavelica Perú. Pág. 85.
8. FRAN K. N Eduardo, Manejo Reproductivo de Camélidos Sudamericanos Domésticos, primera edición, Editorial obispo Trejo 323, Córdoba-Argentina Año de publicación 2010 Pág. 3-4
9. GARCIA Wilbe, Vera, Danilo Pezo Carreón, Felipe San Martín H, Manual del Técnico Alpaquero, Primera edición, Edición y producción: ITDG AL Impreso por: Imprenta Amauta Impreso en Cusco-Perú, ISBN: 9972-4-113-6, Año de publicación Mayo de 2014. Págs. 7-8-9

10. HECTOR B. Manual de Reproducción Animal, Centro de investigación UNAM, Primera Edición, Edición Mexicana ISBN 9701037197, Año de publicación 2009 Págs. 542-545
11. MENA H. P. Estudio investigativo de la Carne de Alpaca e introducción a la Gastronomía Ecuatoriana, Primera Edición, Quito Ecuador ISBN 50361849845 Año Publicado 2012 Págs 48-57.
12. MUCCIN, Memoria técnica curso de graduación: PIV de embriones aspectos técnicos y biológicos. Balcarce, Buenos Aires: Año Publicado 2010. Págs 121-122
13. NUSSHAG. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos Séptima Edición Zaragoza, España. ISBN: 698352134534 Año Publicado 2013 Págs 87-91.
14. PALMA, G. MVZ. P Biotecnología de la Reproducción. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Tercera Edición, ISBN: 987-93-3779-8: Año Publicado 2011 Págs 225-297
15. RUIZ A. Jaime B. Producción y Tecnología en Camélidos Sudamericano, Primera Edición, Editorial Talleres gráficos de la Universidad Nacional de Huancavelica, Perú, ISBN 06295, Publicado Mayo 2011. Capitulo VII Pág. 171-183
16. RUIZ, J., & Correa, J. Desarrollo partenogenético in vitro con ovocitos vitrificados bovinos. Segunda Edición, Editorial Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Argentina, ISBN 926908410 Año Publicado 2012 Págs 82
17. PALMA A.G. Biotecnología de la reproducción. Tercera Edición. Argentina ISBN: 987-93-3779-8 Año Publicado 2011 Pag, 225 – 297
18. SEPÚLVEDA Noemí H. Manual para el Manejo de Camélidos Sudamericanos Domésticos, Primera Edición, Editorial SALVIAT Impresiones. Santiago de Chile ISBN 978-956-328-089-0 Año Publicado 2011 Págs. 14
19. SHIVELY, M. J. Anatomía Veterinaria Básica, comparativa y clínica. Manual Moderno Sexta Edición. Estados Unidos. Año Publicado 2011 Págs. 67-72
20. VÁSQUEZ M. Dolores. Sanidad de Alpacas en la Etapa Neonatal. Primera Edición Septiembre 2010, Editorial Complutense, España ISBN: 978-84-9938-050-6, Año de publicado 2010. Págs 97-101

Páginas de internet

- a) CARDOZO A. [Fecha de creación diciembre 2005] ESPECIES ZOOTECNICAS NATIVAS DE LOS ANDES ALTOS [*en línea*][Fecha de consulta 03 Mayo de 2017]

Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/009/ah223s/AH223S10.htm>

- b) FERNANDA B. [Fecha de creación Enero 2014] REPRODUCCIÒN EN CAMELIDOS SUDAMERICANOS [*en línea*][Fecha de consulta 13 Mayo de 2017]

Disponible en: <https://es.slideshare.net/FernyBoada/reproduccion-en-camlidos-29935384>

- c) FERNÁNDEZ A. [Fecha de creación 25 Agosto 2010] POSIBILIDADES FUTURAS DEL USO DE SEMEN CONGELADO [*en línea*][Fecha de consulta 13 Septiembre de 2017]

Disponible en: <https://es.slideshare.net/FernyBoada/reproduccion-en-camlidos-29935384>

- d) FIORI di. [Fecha de creación 27 Junio 2010] LIBRO DE HISTOLOGÍA [*en línea*] [fecha de consulta 30 de Abril de 2013]

Disponible en: http://terapiafisicavillarreal.blogspot.com/2010_06_01_archive.html

- e) FRANCO HERNANDES. [Fecha de creación Octubre de 2011] LOS DESAFIOS EN EL MANEJO REPRODUCTIVO DE LOS CAMELIDOS SUDAMERICANOS [*en línea*][Fecha de consulta 08 Septiembre de 2017]

Disponible en: <http://blog.ucc.edu.ar/supprad/files/2011/12/ConferenciasCamelidos-sudamericanos.pdf>

- f) FRANCO, F., & GADELLA, M. [Fecha de creación Febrero de 2012). MANUAL DE CRIANZA DE CONEJOS. [*en línea*][Fecha de consulta 12 Septiembre de 2017]

Disponible en: [http:](http://)

- g) GIGLI, I; Rusos, A.; Agüero, A. [Fecha de creación Diciembre 2006] InVet; versión On-line ISSN 1668-3498 CONSIDERACIONES SOBRE LA DINÁMICA OVÁRICA EN EQUINO, BOVINO Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS; [*en línea*] [Fecha de consulta 11 Septiembre 2017]

Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S166834982006000100018

- h) GÓMEZ O. (et al); [Fecha de creación 2012] TÉCNICAS DEL SLICING Y ASPIRACIÓN FOLICULAR EN LA EFICIENCIA DE LA RECUPERACIÓN DE

OVOCITOS BOVINOS CRIOLLOS POST-MORTEN EN EL CAMAL *[en línea]*

[Fecha de consulta 12 Septiembre 2017]

Disponible en: <http://www.reproduccionanimal.org/site3/files/revistas/spermova2/38-39Gomez-ovocito.pdf>

- i)** HAFEZ, P [Fecha de creación Octubre 2012] PRESERVACIÓN Y CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS Y EMBRIONES *[en línea]* [Fecha de consulta 13 Septiembre de 2017]

Disponible en: <http://www.uam.es/departamentos/ciencias/biologia/citologia/practi4.htm>

- j)** JUARREZ, P [Fecha de creación 28 Noviembre 2012] FOLICULOGÉNESIS EN VERTEBRADOS *[en línea]* [Fecha de consulta 03 Mayo de 2017]

Disponible en: <http://www.uam.es/departamentos/ciencias/biologia/citologia/practica4>

- k)** LAING [Fecha de creación 12 Octubre 2013] FERTILIDAD E INFERTILIDAD EN LA PRÁCTICA VETERINARIA *[en línea]* [Fecha de consulta 13 Septiembre de 2017]

Disponible en: <https://redinfertiles.com/criterios-de-clasificacion-embrionaria/>

- l)** LAMO Daniel. A [Fecha de creación Julio 2011] AVANCES EN CIENCIAS VETERINARIAS DE CAMELIDOS SUDAMERICANOS *[en línea]* [Fecha de consulta 03 Mayo de 2017]

Disponible en: <http://lapatriaenlinea.com/?nota=106553>

- m)** PALMA. G, [Fecha de creación 2013] BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN. *[en línea]* [Fecha de consulta 12 Septiembre del 2017]

Disponible en: http://www.reprobiotec.com/novedades_piv_02.html

- n)** ROSSI A. Carlos; [fecha de creación Marzo 2004] CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS; *[en línea]* [Fecha de consulta 10 Septiembre 2017]

Disponible en: http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/camelidos_rossi.htm

- o)** RUIZ B. Jaime (et al); [fecha de creación septiembre 2011] REVISTA DE INVESTIGACIONES VETERINARIAS DEL PERÚ; ISSN 1609-9117 *[en línea]* Activación química de ovocitos de alpaca vitrificados después de la maduración in vitro. [Fecha de consulta 10 Septiembre 2017]

Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172011->

000300005&script=sciarttext

- p)** URRUTIA A.[Fecha de creación Diciembre 2006] LLAMA (Lama glama) Al Servicio del Hombre Andino [*en línea*][Fecha de consulta 03 de Mayo del 2017]

Disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/fau_llama_1.htm

- q)** VEECK LL. [Fecha de creación 2007] Clasificación y cultivo de ovocitos [*en línea*] Estado Madurativo de los ovocitos [fecha de consulta 08 Septiembre de 2017]

Disponible en: <http://nuevo.sefertilidad.com/recomendaciones/22.pdf>

Revista

- A)** HINCAPIE: Memoria técnica curso de Graduación Noviembre 2010 Publicación de internet www.selectsires.com.



17. ANEXOS

ANEXO N° 1 AVAL DE TRADUCCIÓN

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de docente del idioma del Centro de Inglés Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; En forma legal CERTIFICO que: la traducción del resumen del proyecto de investigación al idioma Inglés presentado por el Señor Egresado de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales: **SEGUNDO JAIME YANQUI CHICAIZA**, cuyo título versa: **“OBTENCIÓN DE OVOCITOS DE LLAMAS (*Lama glama*) EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN SAQUISILI”**, lo realizo 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 certificado de la manera ética que estime conveniente.

Latacunga, Febrero del 2018

Atentamente:

Lcdo. Mg. Wilmer Patricio Collaguazo Vega
DOCENTE INGLÉS CI-UTC
C.C. 172241757-1



CENTRO
DE IDIOMAS

ANEXO N° 2 HOJA DE VIDA DE TUTOR DE TITULACIÓN

Identificación: 0501308316	
Nombres: CHICAIZA SANCHEZ LUIS ALONSO	
Género: MASCULINO	
Nacionalidad: ECUADOR	

TÍTULOS DE CUARTO NIVEL

Título	Institución de Educación Superior	Tipo	Reconocido Por	Número de Registro	Fecha de Registro	Observación
MAGISTER EN PRODUCCION ANIMAL	UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL	Nacional		1032-15-86065206	2015-07-28	

TÍTULOS DE TERCER NIVEL

Título	Institución de Educación Superior	Tipo	Reconocido Por	Número de Registro	Fecha de Registro	Observación
DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	Nacional		1020-04-478658	2004-01-27	



 Firma

ANEXO N° 3 HOJA DE VIDA DEL AUTOR DEL PROYECTO**AUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN****DATOS PERSONALES:****Nombre:**

Yanqui Chicaiza Segundo Jaime

Documento de identidad c.c:

0503332014-5

Fecha de nacimiento:

25 de marzo de 1987

Lugar de nacimiento:

Latacunga

Estado civil:

Soltero

Dirección:

Parroquia Poaló

Teléfono:

0984542093

E-mail:

jaime-0325@hotmail.com & segundo.yanqui5@utc.edu.ec



19 de Julio 2014
SEGUNDO JAIME YANQUI CHICAIZA

**ANEXO N° 4 FICHA DE REGISTRO DE OBTENCION DE OVOCITOS DE
LLAMAS**

N° PRÁCTICA	N° LLAMAS	N° OVARIOS	TÉCNICA	N° OVOCITOS	CALIDAD			
					A	B	C	D
1	1	1	ASPIRACIÓN FOLICULAR	3	2		1	
		2	ASPIRACIÓN FOLICULAR	2		1	1	
	2	3	ASPIRACIÓN FOLICULAR	4	3			1
		4	ASPIRACIÓN FOLICULAR	6	1	4		1
2	3	5	ASPIRACIÓN FOLICULAR	3		1	2	
		6	ASPIRACIÓN FOLICULAR	4	1	2		1
	4	7	ASPIRACIÓN FOLICULAR	2			2	
		8	ASPIRACIÓN FOLICULAR	3	2			1
3	5	9	SLICING FOLICULAR	3	1	2		
		10	SLICING FOLICULAR	3		2		1
	6	11	SLICING FOLICULAR	2	1		1	
		12	SLICING FOLICULAR	1			1	
4	7	13	SLICING FOLICULAR	2		1	1	
		14	SLICING FOLICULAR	1	1			
	8	15	SLICING FOLICULAR	2		1	1	
		16	SLICING FOLICULAR	2	1		1	
TOTAL				43	13	14	11	5

Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

ANEXO N° 5 Fotografías de Obtención de Ovocitos

FOTO 1. Lamas en proceso de faenamamiento



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

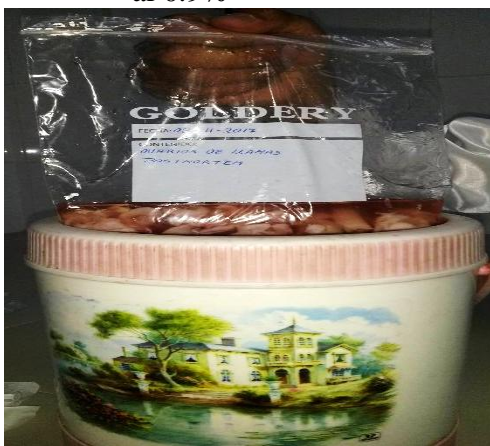
FOTO 2. Extracción de ovarios



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 3. Ovarios con cloruro de sodio al 0.9%



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 4. Higienización de los ovarios



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 5. Método de aspiración folicular



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 6. Colocación en la caja Petri



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 7. Método de Slicing



Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 8. Lavado con holding



Fuente: directa

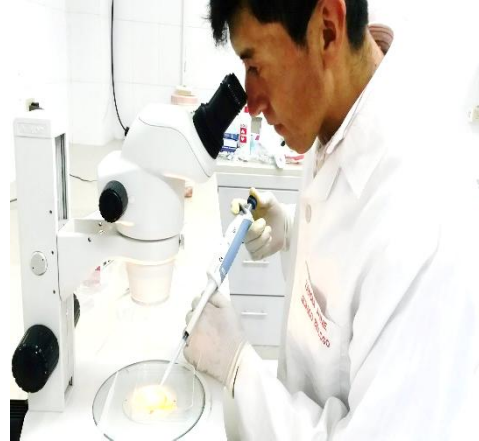
Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 9. Vista al Estereomicroscopio



Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018

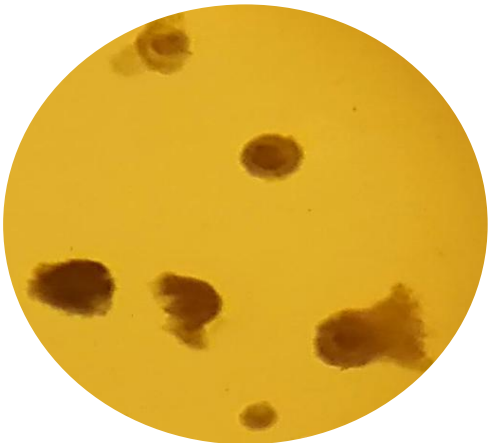
FOTO 10. Captura de ovocitos



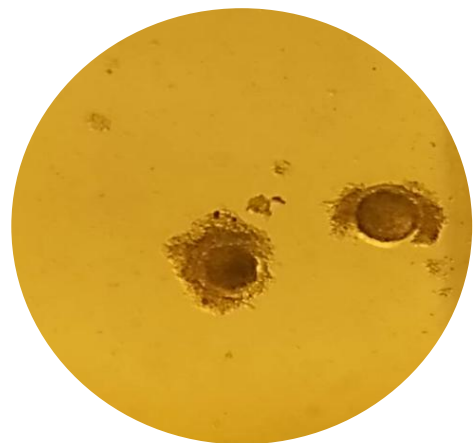
Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018

FOTO 11. Evaluación de calidad de los ovocitos

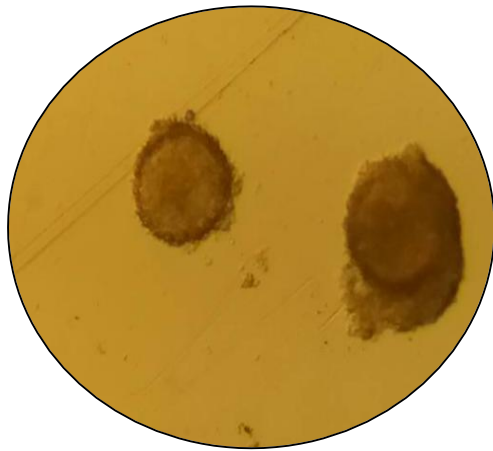
TIPO A



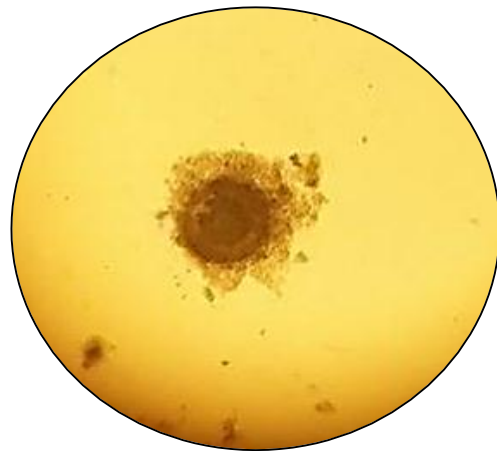
Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018



Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018



TIPO B



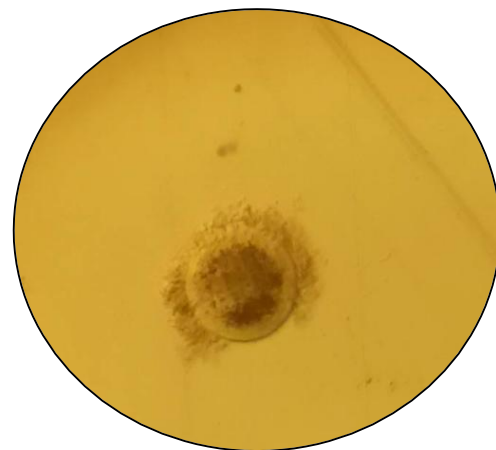
Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018

Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018

TIPO C



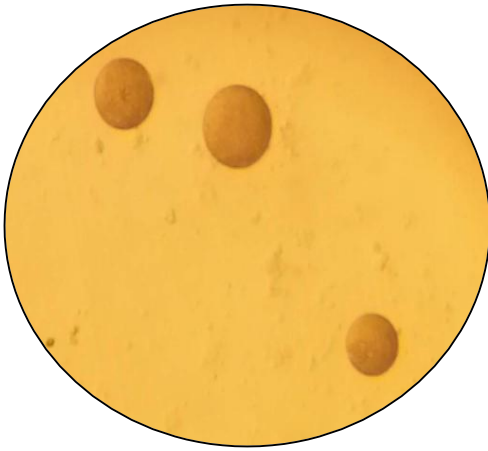
Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018



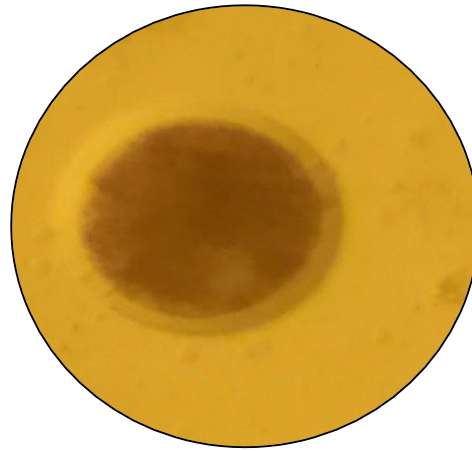
Fuente: directa

Elaborado: Yanqui, J. 2018

TIPO D



Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018



Fuente: directa
Elaborado: Yanqui, J. 2018