

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE DOS PROTOCOLOS DE
MULTIOVULACIÓN EN LLAMAS (*Lama glama*) EN LA ESTACIÓN
EXPERIMENTAL DE CHOQUENAIRA**

**Presentado por:
MARCO ANTONIO TIÑINI TAMBO**

**LA PAZ – BOLIVIA
2024**

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA
EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE DOS PROTOCOLOS DE
MULTIOVULACIÓN EN LLAMAS (*Lama glama*) EN LA ESTACIÓN
EXPERIMENTAL DE CHOQUENAIRA

Tesis de grado presentado como
Requisito parcial para obtener al
Título de Ingeniero Agrónomo

Presentado por:

MARCO ANTONIO TIÑINI TAMBO

ASESOR:

Ing. Eloy Hernán Huacani Rivera

Ing. Mamerto Silvestre Villca

TRIBUNAL EXAMINADOR:

Ing. M. Sc. Rubén Tallacagua Terrazas

Ing. Limbert Telesforo Laura Huanca

Mvz. Ever Quispe Herrera

APROBADO

Presidente Tribunal Examinador

DEDICATORIA

A Dios en primer lugar, concibiéndome uno de mis sueños

lo largo de esta etapa académica, reconozco su amor incondicional y la sabiduría que ha derramado sobre mí.

A mis padres Crespo Tiñini e Irma Tambo quienes me brindaron atención y apoyo en mi formación personal.

A mis hermanos, por su paciencia que

les hago faltar día a día.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme la fuerza necesaria para alcanzar mis metas, así como también para enfrentar los problemas de la vida. Quien me dio entendimiento y sabiduría para llegar a culminar un logro más.

Dar las gracias a la Universidad Mayor de San Andrés, en especial a la Facultad de Agronomía de la Carrera de Ingeniería Agronómica por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de avanzar en mi carrera profesional.

Expresar mi más profundo agradecimiento a mi asesor de tesis Ing. Eloy Hernán Huacani Rivera por haberme compartido sus consejos, conocimientos y asesoramiento durante el desarrollo de esta investigación. Por todo su apoyo, su amistad y su entera confianza hacia mi persona.

Al Ing. Silvestre Villca, por su apoyo y colaboración en el lavado de embriones, así como también al compartir su conocimiento en la parte Biotecnología reproductiva.

A mis tribunales revisores Ing. Rubén Tallacagua Terrazas, Ing. Limbert Telesforo y al Mvz. Ever Quispe, gracias por tomar su paciencia, consejos, correcciones y sugerencias necesarias para la conclusión del presente trabajo de investigación.

A mis hermanas Roselyn, Pamela y Celena quienes siempre me están guiando y transmitiendo sus conocimientos, gracias por tolerar mis ocurrencias y mi forma de quererlas.

A mi hermano Veimar quien estuvo siempre ahí apoyándome en cada momento, gracias por alentarme constantemente con palabras de apoyo y motivación.

A la persona que estaba apoyándome constantemente en cada situación, mi persona favorita L. Ventura por brindarme todo su amor y comprensión.

A mi amigo Víctor Mamani por apoyarme y guiarme en el desarrollo práctico, sobre todo en los momentos de estrés y de alegría al compartir las conversaciones, sucesos de los compañeros rotantes y trabajadores. Mis amigos Orlando, Jhoel, Jimmi, Brayden y Andres quienes están siempre brindándome su amistad.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN	xiv
SUMMARY	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes.....	2
1.2. Planteamiento del problema	4
1.3. Justificación	4
1.4. Hipotesis.....	5
2. OBJETIVOS	6
2.1. Objetivo General.....	6
2.2. Objetivos Específicos.....	6
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
3.1. Situación del Ganado Camélido en Bolivia.....	7
3.2. Origen y localización.....	9
3.3. Reproducción de los camélidos sudamericanos.....	11
3.3.1. Características de la producción	11
3.3.2. Parámetros reproductivos	11
3.3.3. Comportamiento sexual y celo	12
3.4. Fisiología reproductiva de la llama	13
3.4.1. Descripción del Tracto reproductivo de la hembra	13
3.4.1.1. Cérvix.....	13
3.4.1.2. Ovarios.....	13

3.4.1.3. Útero	13
3.4.1.4. Vagina	14
3.4.1.5. Vulva	14
3.4.1.6. Oviductos	14
3.5. Ciclo estral de la llama.....	15
3.5.1. Control del ciclo ovárico de los Camélidos Sudamericanos	16
3.6. Sistema Endocrino de la llama	17
3.6.1. Control neuroendocrino de la foliculogénesis.....	17
3.7. Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos.....	18
3.8. Factores que influyen en la dinámica folicular	20
3.8.1. Efecto de la temporada	20
3.8.2. Efecto de la edad	20
3.8.3. Efecto de la lactancia	20
3.9. Ovulación.....	21
3.9.1. Factor inductor de Ovulación (FIO)	21
3.9.2. Cuerpo lúteo.....	22
3.9.3. Luteólisis	23
3.9.4. Estacionalidad Reproductiva.....	23
3.10. Control Hormonal de la Reproducción en hembras Llamas	24
3.10.1. La Hormona folículo estimulante FSH.....	24
3.10.2. La gonadotrofina coriónica equina eCG.....	24
3.10.3. La hormona liberadora de gonad otrofina GnRH	25
3.10.4. La hormona luteinizante LH	25
3.10.5. Prostaglandina PG	26

3.11.	Mejoramiento Genético.....	26
3.12.	Multiovulación en Llamas en la actualidad	27
3.13.	Importancia de la multiovulación	27
3.13.1.	Mejora genética	28
3.13.2.	Mantenimiento de la diversidad genética	28
3.13.3.	Apoyo a técnicas reproductivas	28
3.14.	Factores que afectan a la multiovulación en camélidos.....	29
3.15.	Selección de animales.....	29
3.15.1.	Selección de donadoras.....	29
3.15.2.	Preparación y manejo	29
3.16.	Producción de embriones	30
3.16.1.	Técnica quirúrgica.....	30
3.16.2.	Técnica no quirúrgica.....	30
3.17.	Colecta de embriones.....	31
3.17.1.	Evaluación de embriones.....	32
3.18.	Medios de lavado y mantenimiento	32
4.	LOCALIZACIÓN.....	33
4.1.	Ubicación Geográfica	33
4.2.	Características de la Zona.....	34
5.	MATERIALES Y METODOS	35
5.1.	Materiales	35
5.1.1.	Material Biológico.....	35
5.1.2.	Hormonas e insumos	35
5.1.3.	Medicamentos.....	35

5.1.4. Material de Campo	35
5.1.5. Material de Laboratorio	36
5.1.6. Material de Gabinete	36
5.2. Metodología	36
5.2.1. Tipo de investigación	36
5.2.2. Diseño metodológico.....	36
5.3. Procedimiento.....	37
5.3.1. Selección de inclusión.....	38
5.3.2. Selección de exclusión.....	38
5.3.3. Selección de donadoras.....	38
5.3.4. Preparación de los animales	39
5.4. Protocolos de multiovulación en llamas.....	40
5.4.1. PROTOCOLO A.....	40
5.4.2. PROTOCOLO B.....	44
5.4.3. Preparación de materiales para el lavado de embriones	48
5.5. Técnica de Producción de Embriones	49
5.6. Evaluación de embriones según la calidad y cantidad de cada protocolo	50
5.7. Análisis estadístico	51
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	52
6.1. Total de embriones colectados para la evaluación de dos protocolos a efecto de eCG.....	52
6.2. Resultados de número de cuerpos lúteos	54
6.3. Resultados número de embriones en llamas.....	56
Evaluación de cantidad y calidad de embriones por protocolo en llamas	59

6.4. Evaluación económica de la producción de embriones.....	63
7. CONCLUSIONES	64
8. RECOMENDACIONES	65
9. BIBLIOGRAFIA	66
ANEXOS	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución de los Camélidos Sudamericanos	8
Figura 2 Llama raza Kara	11
Figura 3 <i>Baño antisarnico para la prevención de enfermedades parasitarias</i>	37
Figura 4 <i>Suministro de vitaminas vía oral</i>	38
Figura 5 Suplemento de alimento balanceado	39
Figura 6 Aplicación de GnRH en la pata izquierda.....	41
Figura 7 Aplicación de eCG.....	42
Figura 8 Aplicación de la prostaglandina.....	42
Figura 9 Empadre controlado	43
Figura 10 Lavado de embriones.....	44
Figura 11 Aplicación de GnRH pata derecha	45
Figura 12 Aplicación de GnRH pata izquierda.....	45
Figura 13 Aplicación de PF2&	46
Figura 14 Empadre controlado	47
Figura 15 Lavado de embriones.....	48
Figura 16 Preparación de materiales para el lavado de embriones.....	49
Figura 17 Lavado de embriones.....	50
Figura 18 Evaluación y observación vía microscópica	50
Figura 19 Número de embriones para la evaluación de dos protocolos a razón de eCG	52
Figura 20 Número de cuerpos lúteos en llamas superovuladas.....	56
Figura 21 Número de embriones producidos con eCG en llamas	58
Figura 22 Cuadro resume por porcentajes de calidad de embriones en el protocolo “A” y “B”	60
Figura 23 Embrión del Protocolo “A” clasificación buena	62
Figura 24 Embrión del Protocolo “B” clasificación regular	62

INDICE DE GRAFICOS

Grafico 1 Aparato reproductor de la llama Hembra	15
Grafico 2 Ubicación del trabajo de investigación	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Población de camélidos en Bolivia	10
Tabla 2	Características de las ondas foliculares en camélidos sudamericanos	19
Tabla 3	Protocolo de multiovulación en llamas	40
Tabla 4	Hora de aplicación a cada llama donadora	41
Tabla 5	Hora de aplicación a cada llama donadora	44
Tabla 6	Número de embriones para la evaluación de dos protocolos a efecto de eCG	52
Tabla 7	Número de cuerpos lúteos a razón de dos dosis de eCG	54
Tabla 8	Número de cuerpos lúteos de T1 y T2 en llamas	54
Tabla 9	Número de embriones de T1 y T2 en llamas.....	56
Tabla 10	Clasificación de embriones obtenidos protocolo "A"	59
Tabla 11	<i>Clasificación de embriones obtenidos protocolo "B"</i>	60
Tabla 12	Costo de cada tratamiento multiovulatorio	63

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Desparasitación con baño antisarnico para la prevención de enfermedades parasitarias y vitaminización	75
Anexo 2. Suplementación de alimento concentrado (ensilaje y heno) para cubrir el requerimiento nutricional de las llamas	76
Anexo 3. Selección de donadoras cumpliendo ciertos requisitos	76
Anexo 4. Prueba de empadre para su verificación de su receptibilidad	77
Anexo 5. Aplicación de GnRH	77
Anexo 6. Preparación y aplicación de eCG (Gonadotropina Carionica equina)	78
Anexo 7. Administración de prostaglandina.....	78
Anexo 8. Empadre controlado	79
Anexo 9. Aplicación de GnRH después de la monta	79
Anexo 10. Preparación de materiales para el lavado de embriones.....	80
Anexo 11. Nudos de amarre y Sujeción de la llama (parado – postrado), limita los actos o movimientos defensivos de la llama.....	80
Anexo 12. Aplicación de lidocaína al 2 %.....	81
Anexo 13. Palpación de embriones vía rectal.....	81
Anexo 14. Colecta de embriones mediante la sonda Folley	82
Anexo 15. Embriones colectados en cajas Petri con número de arete dela hembra ..	83
Anexo 16. Obtención de embriones en cada caja Petri.....	83
Anexo 17. Evaluación morfológica de embriones.....	84
Anexo 18. Observación bajo microscopio.....	84
Anexo 19. Embriones de grado 2 (bueno)	85
Anexo 20. Conformación del equipo.....	85
Anexo 21. Protocolo de investigación.....	86
Anexo 22. Prueba de receptibilidad protocolo A.....	87
Anexo 23. Prueba de receptibilidad protocolo B.....	87
Anexo 24. Tabla Numero de cuerpos lúteos a efecto de dos dosis de eCG.....	88
Anexo 25. Tabla Numero de cuerpos lúteos deT1 y T2 en llamas	88

Anexo 26.	Tabla Número de embriones de T1 y T2 en llamas	88
Anexo 27.	Tabla Clasificación de embriones obtenidos protocolo “A”	89
Anexo 28.	Tabla Clasificación de embriones obtenidos protocolo “B”	90
Anexo 29.	Tabla de costo de cada tratamiento multiovulatorio	90
Anexo 30.	Tabla de costo de materiales para la multiovulación en llamas	91

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Estación Experimental Choquenaira dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, zona Altiplano Central del departamento de La Paz. Con el objetivo de evaluar la efectividad de dos protocolos de eCG (Hormona Gonadotropina coriónica Equina) en la respuesta multiovulatoria, para la producción de embriones. Donde se utilizaron ocho llamas adultas que estaban clínicamente sanas y se dividieron en dos grupos: Protocolo A (1000 UI eCG; n=4) y Protocolo B (700 UI eCG; n=4). El protocolo de multiovulación incluyó: día 0, aplicación de GnRH; día 2, aplicación de eCG, según dosis establecida para cada protocolo; día 6, aplicación de prostaglandina (PGF 2α); día 7, monta natural controlada y posteriormente aplicación de GnRH; días 14, se hizo el lavado uterino y recuperación de embriones, posteriormente aplicamos prostaglandina (PGF 2α). En el laboratorio se identificó, valoró y clasificó morfológicamente las estructuras obtenidas para determinar la presencia de alteraciones reproductivas por medio microscópico. Consiguiendo en el protocolo "A" 12 cuerpos lúteos y en el protocolo "B" 8 cuerpos lúteos. Se obtuvo 6 embriones en el protocolo "A" y 4 embriones en el protocolo "B". Utilizando una metodología de análisis estadístico T de Student de acuerdo a los resultados logrados.

Como resultados obtenidos en el número de cuerpos lúteos en el tratamiento 1 fue de $3 \pm 1,25$ mientras que para el tratamiento 2 fue $2 \pm 0,91$. El número de embriones obtenidos en llamas multiovuladas con la Hormona eCG con las dosis de 1000 UI en tratamiento 1 fue de $1,5 \pm 1$ mientras que para el tratamiento 2 con dosis de 700 UI de eCG fue de $1,666 \pm 0,666$. A nivel de significancia de 5% dado que $P = 0,541$ es mayor a nivel alfa 0,05 se concluye que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) entre el promedio de número de embriones obtenidos de los tratamientos T1 y T2. Estos resultados confirman la hipótesis nula demostrando que los animales del tratamiento 1 tienen igual respuesta ovulatoria que los animales de tratamiento 2.

Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que tanto el protocolo "A" y "B" resultaron efectivos en la multiovulación para la mejora de camélidos sudamericanos.

Palabras claves: Multiovulación, Reproducción, Protocolo, Lavado uterino, Embrión

SUMMARY

The present research work was carried out at the Choquenaira Experimental Station dependent on the Faculty of Agronomy of the Universidad Mayor de San Andrés, Central Altiplano area of the department of La Paz. With the objective of evaluating the effectiveness of two eCG (Equine Chorionic Gonadotropin Hormone) protocols in the multiovulatory response, for the production of embryos. Where eight adult llamas that were clinically healthy were used and divided into two groups: Protocol A (1000 IU eCG; n=4) and Protocol B (700 IU eCG; n=4). The multiovulation protocol included: day 0, application of GnRH; day 2, application of eCG, according to the established dose for each protocol; day 6, application of prostaglandin (PGF2 α); day 7, controlled natural mating and later application of GnRH; Day 14, uterine lavage and embryo recovery were performed, subsequently we applied prostaglandin (PGF2 α). In the laboratory, the structures obtained were identified, evaluated and morphologically classified to determine the presence of reproductive alterations by microscopic means. Achieving in protocol "A" 12 corpora lutea and in protocol "B" 8 corpora lutea. 6 embryos were obtained in protocol "A" and 4 embryos in protocol "B". Using a Student T statistical analysis methodology according to the results achieved.

As results obtained, the number of corpora lutea in treatment 1 was 3 ± 1.25 while for treatment 2 it was 2 ± 0.91 . The number of embryos obtained in multiovulated llamas with the eCG Hormone with doses of 1000 IU in treatment 1 was 1.5 ± 1 while for treatment 2 with doses of 700 IU of eCG it was 1.666 ± 0.666 . At the 5% significance level, given that $P = 0.541$ is greater at the alpha level of 0.05, it is concluded that there are no significant differences ($P > 0.05$) between the average number of embryos obtained from treatments T1 and T2. These results confirm the null hypothesis by demonstrating that the animals in treatment 1 have the same ovulatory response as the animals in treatment 2.

Therefore, it was concluded that both protocol "A" and "B" were effective in multiovulation for the improvement of South American camelids.

Keywords: Multiovulation, Reproduction, Protocol, Uterine lavage, Embryo

1. INTRODUCCIÓN

Bolivia posee una ganadería muy variada y entre ellos está la producción de camélidos sudamericanos (CSA), donde es el mayor productor mundial de llamas, este animal es favorecido y agradecido por su capacidad para adaptarse a las altas altitudes. Se le asigna una amplia zona del altiplano que se extiende por los territorios de La Paz, Oruro, Cochabamba y Potosí. En el departamento de La Paz, la ganadería de camélidos prospera en tres áreas altamente productivas: Norte, Centro y Sur. Estos animales son conocidos en todo el mundo por producir fibra. Desde un punto de vista zootécnico, las llamas pueden considerarse animales de uso múltiple, ya que no solo ofrecen fibra, sino también carne, cuero y la capacidad de transportar hasta 75 kg como animales de carga, según Rossi (2000).

La producción de camélidos tiende a ser lento, ya que una llama puede tener 3 a 5 crías en toda su vida reproductiva. Limitando el crecimiento del rebaño y la mejora genética de esta especie. En la región del altiplano boliviano, la biotecnología no cuenta con una base sólida. La utilización de embriones obtenidos por multiovulación o superovulación en llamas de alto valor genético es crucial para la producción de embriones en estas condiciones de altitud. Mediante el envío de estos embriones a las hembras que los reciben. Según varios estudios, la producción de embriones es una herramienta útil para los programas de mejora genética de camélidos. Es necesario desarrollar varios protocolos que incluyan el uso de factores liberadores de gonadotropinas, a pesar de que se dispone de información limitada sobre el método de multiovulación en camélidos sudamericanos en relación con el número de folículos emergentes según Vargas (2005a).

Las investigaciones sobre la ovulación múltiple en llamas son usadas con diferentes protocolos guiados en la eCG son diversos dependiendo las unidades internacionales (UI). Presentando diferentes respuestas ováricas según en número de folículos y cuerpos lúteos. El primer reporte sobre transferencia de embriones en camélidos sudamericanos fue realizado por Sumar et al. (1974), otros trabajos confirman la factibilidad de la aplicación de la técnica, pero con variabilidad en la

respuesta ovárica a los protocolos de multiovulación, al igual que en el número y calidad de embriones recuperados (Del Campo et al. 1995).

También indica (Alvarez & Medellín, 2005) que la producción de más ovocitos que lo normal se conoce como multiovulación, que suele lograrse mediante el uso de gonadotropinas exógenas en procedimientos de fecundación asistida. También se conoce como ovulación múltiple o hiperestimulación ovárica controlada, y se controla en animales domésticos con fines de producción mediante ecografías transrectales. En sentido es obtener más ovocitos para aumentar las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida, donde nos ayuda a transportar el material genético y a conservar recursos genéticos excepcionales para que se puedan disponer con relativa facilidad en el futuro. La multiovulación es una biotecnología para la reproducción que mejora la eficiencia reproductiva de los animales y mejora su genética.

El manejo inadecuado de camélidos sin un registro genealógico y un programa de mejora genética puede llevar a la consanguinidad, hace que la calidad de los animales se deteriore de generación en generación, presentando crías de baja calidad, lo que hace que la población de camélidos sea poco estético y perjudicial para el rebaño y el productor. Por lo que la investigación sobre métodos de reproducción ha avanzado significativamente. Sin embargo, en los últimos años se han explorado técnicas como la multiovulación, la transferencia de embriones y la fecundación in vitro, que han dado resultados prometedores. Estas tecnologías podrían avanzar en la calidad de la fibra en llamas y alpacas. Se aprecia generar la ganancia genética acumuladas en estos grupos fundamentales donde se transfieran a las hembras y reproductores mejorados de los rebaños de los productores (Forcada., Casao., & Abecia, 2009).

1.1. Antecedentes

El desarrollo y la aplicación de biotecnologías reproductivas como la multiovulación en camélidos es algo moderno dentro del territorio boliviano. Sin embargo, falta fomentar a los investigadores y apoyar a los ganaderos ya que continúan utilizando sistemas de reproducción tradicional, lo que nos obstruye avanzar obteniendo unos resultados productivos competitivos.

Por otra parte, se encuentran trabajos realizados por el país vecino del Perú, donde el año 2020 el investigador Teodosio Huanca Mamani presentó un artículo “Recuperación de embriones en hembras alpacas y llamas con ovulación única o múltiple” utilizando 1000 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) para evaluar la recuperación, la calidad y el tamaño de los embriones obtenidos de alpacas y llamas donantes, tanto de ovulación única como de ovulación superestimada (ovulación múltiple). La tasa de recuperación fue menor en las llamas tratadas con eCG, y según la escala de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS), entre el 60 y el 76% de los embriones recolectados fueron clasificados como transferibles (de calidad excelente y buena). Además, no se observaron diferencias significativas entre el tamaño de los embriones y su calidad (Huanca, 2020).

El 2020, se presenta una tesis por Alfredo Pozo Curo en la universidad nacional Mayor de San Marcos Lima-Perú con el tema “Respuesta superovulatoria y embrionaria en alpacas estimuladas con gonadotropina coriónica equina según el número de folículos emergentes por onda folicular”. Se seleccionaron 26 alpacas de propiedad y se formó dos grupos experimentales (GEs) se les administró 700 UI de eCG. Según el protocolo se realizó el empadre y posterior la colecta de embriones (día 14). Alpacas del GE01 y del 70 % (7/10) del GE02, con un total de 2.5 ± 1.4 y 2.3 ± 1.1 embriones para el GE01 y GE02 ($p = 0.73$), respectivamente. La cantidad de embriones de calidad excelente, bueno y malo fueron similares entre ambos GEs ($p = 0.09$), excepto en la calidad regular, (Pozo A, 2020).

Un grupo de investigadores Joel Pacheco, Víctor Velez y Wilber Garcia presentan una revista “Evaluación de un nuevo protocolo de superovulación en llamas: respuesta ovárica y recuperación embrionaria” realizado en la universidad nacional Mayor de San Marcos. Se utilizaron 32 llamas adultas, clínicamente sanas, distribuidas en dos grupos: Grupo I (700 UI eCG; $n=15$) y Grupo II (500 UI eCG; $n=21$). Los grupos I y II tuvieron 4.9 y 3.7 folículos por hembra, respectivamente. El número de embriones recolectados por hembra en el grupo I fue de 1.6 y 2.6 en el grupo II, respectivamente, lo que indicaría que el grupo I podría haber tenido fallas ovulatorias o luteinizaciones

tempranas. El grupo I tenía quistes foliculares y cuerpos lúteos persistentes más frecuentes que el grupo II (Pacheco, et al., 2020).

1.2. Planteamiento del problema

La reproducción de camélidos sudamericanos es limitada al no tener conocimiento sólido, ya que aún no existe la mejora genética por falta de biotecnología observamos una baja tasa de preñez, mortalidad en cría, enfermedades entero toxemias y otros. Donde las llamas alcanzan un peso promedio entre 80-90 kg peso vivo. Con una alimentación mínima donde los productores solo realizan pastoreo sin complementar alimentos concentrados. Para superar estas limitaciones es necesario utilizar la biotecnología reproductivas en camélidos domésticos (llamas) que poseen características deseables desde el punto de vista productivo. La ganancia genética acumulada será transmitida a los diferentes rebaños de cada productor. Mientras estos esfuerzos se van ampliando, se necesita desarrollar métodos reproductivos que faciliten la propagación como ser la Superovulacion o multiovulación, empadre controlado, transferencia de embriones posibilitando reducir el intervalo generacional.

Las investigaciones sobre la ovulación múltiple y la producción de embriones utilizando una variedad de protocolos basados en FSH y eCG solas o combinadas, incrementan de forma acelerada la producción de camélidos permitiendo la mejora genética (Novoa, 1999).

1.3. Justificación

Las llamas son muy valoradas en las comunidades andinas debido a su doble propósito: producir carne y fibra. Estos animales tienen un largo período de gestación y no muestran signos evidentes de celo. La razón de nuestra investigación fue que la multiovulación es particularmente importante, porque nos permite aumentar la cantidad de crías de animales con un mayor valor genético. Este método también ayuda en el avance genético de la población. Esto resulta en una mejora en la calidad de la producción de carne, fibra y otros productos. Además, alienta a los productores a obtener una mayor calidad animal, lo que aumenta la economía familiar y el bienestar general de la población.

Novoa (1999) indica, que los criadores por lo general tienen el problema la baja tasa de crecimiento de su rebaño, esto debido por la escasa capacidad reproductiva en la hembra, produce un máximo de crías entre 4-5 a lo largo de su vida reproductiva. Tomando como opción recurrir a otras alternativas ya sea la multiovulación y la transferencia de embriones.

En este sentido se realizó el trabajo de investigación para la producción de embriones utilizando hormonas de multiovulación a respuesta multiovulatoria y la producción embrionaria para el incremento población en camélidos sudamericano domésticos.

1.4. Hipotesis

- *Hipotesis alterna:* Existe diferencia significativa entre el protocolo "A" y el protocolo "B" en la producción de embriones en llamas.
- *Hipotesis nula:* No existe diferencia significativa entre el protocolo "A" y el protocolo "B" en la producción de embriones en llamas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Evaluar la efectividad de dos protocolos de multiovulación en llamas (*Lama glama*) en la Estación Experimental de Choquenaira.

2.2. Objetivos Especificos

- Evaluar dos protocolos a razón de eCG (gonadotropina coriónica equina) para la producción de embriones en llamas
- Determinar el número de cuerpos lúteos en llamas hembras
- Determinar número de embriones y calidad de embriones por protocolo en llamas
- Realizar la evaluación económica de la producción de embriones

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

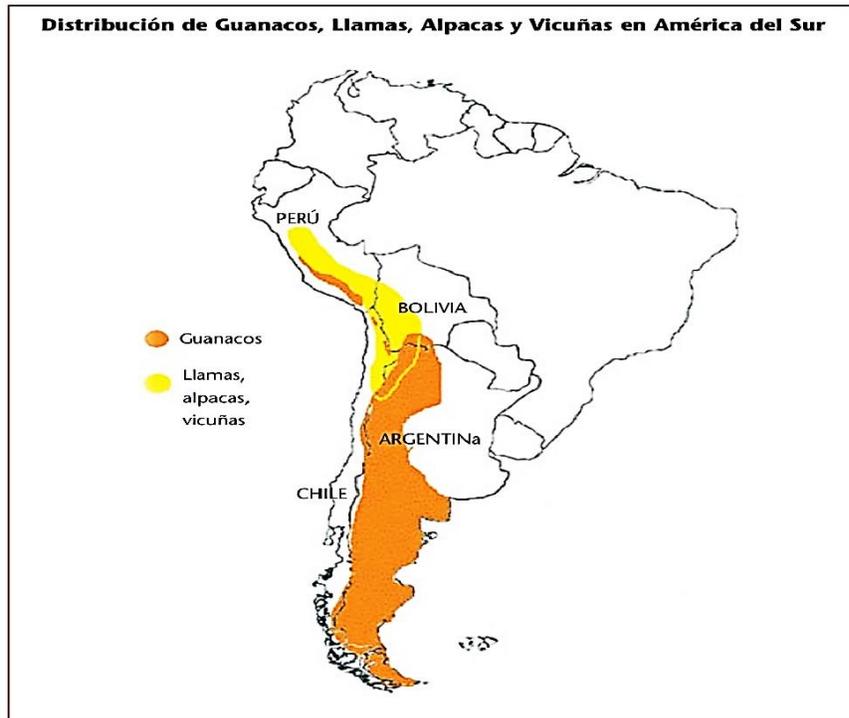
3.1. Situación del Ganado Camélido en Bolivia

Se realizó una evaluación diagnóstica del estado actual de los camélidos en el altiplano boliviano. Utilizando los recursos naturales de la región, la cría y producción de camélidos se considera el enfoque más eficaz. El sistema de producción actual se centra en el uso de llamas y alpacas para la subsistencia. La cría doméstica de camélidos es una actividad económica y cultural vital en las regiones andinas, ya que constituye la principal fuente de ingreso y un recurso estratégico para la economía. En consecuencia, numerosas instituciones y organizaciones han iniciado esfuerzos en los últimos años para promover la cría de camélidos y la seguridad alimentaria. Estas acciones deben orientarse también hacia la mejora genética y la conservación de la biodiversidad (Rondines, 2006).

Los camélidos sudamericanos existen dos especies domésticas, la alpaca y la llama, y dos especies salvajes, la vicuña y el guanaco. Estos camélidos sudamericanos proporcionan una fuente de fibra (lana), carne, mano de obra, combustible, fertilizantes y muchos otros productos esenciales para la supervivencia de un amplio sector de la población alto andina. Esta producción destaca por el uso eficiente de la tierra. El papel de estos animales afecta directamente a la seguridad alimentaria de las comunidades, así como su alto valor textil. Bolivia es el país con mayor número de llamas del mundo y el segundo en alpacas. La lana de estos animales es muy codiciada en los mercados textiles de todo el mundo, siendo las lanas de vicuña, alpaca, llama y guanaco las más valiosas por este orden. Sin embargo, todos ellos tienen buenos mercados, tanto para la lana como para la carne (Raggi, 1993).

En las regiones andinas, existen zonas de gestión mixta en las que ambas especies tienen un comportamiento reproductivo similar (Raggi, 1993). Esto da lugar a un fenómeno conocido como "introgresión", en el que se produce el cruce entre ellas. Este cruce produce una descendencia fértil y viable, denominada huarizo para los individuos con un progenitor llama macho y misti para los que tienen un progenitor alpaca macho (Vargas, 2005).

Figura 1 *Distribución de los Camélidos Sudamericanos*



Fuente: Von Baer Leonor (2002).

Rodríguez (2002) indica, Bolivia posee un valioso recurso zoo genético en forma de ganado camélido. Este ganado posee un acervo genético excepcional con características sobresalientes para producir carne y fibra de alta calidad, incluso en condiciones agroclimáticas extremadamente restrictivas.

Todos los niveles de gobierno, ONG, empresas privadas, cooperativas y organizaciones sociales deben colaborar para mejorar la producción, industrializarla y destacar en su comercialización en tantos mercados como sea posible para satisfacer la demanda mundial (Peña, 2010).

Los camélidos sudamericanos son un recurso natural estratégico que ha tenido un impacto social, económico y ecológico en la vida de los habitantes de Alto Andino en Perú, Bolivia, Argentina, Ecuador y Chile, llegan a ser asociados principalmente por la producción de fibra y carne, según (Ortiz, 2011).

3.2. Origen y localización

La época dorada de la cría de camélidos coincidió con la expansión de la civilización inca. Durante este tiempo, el estado crio sistemáticamente estos animales mediante programas de selección y separación según sus colores. Los animales eran utilizados para una variedad de propósitos, incluida la promoción de su carne, el uso de su fibra para transportar cargas y la utilización frecuente en rituales religiosos. A la llegada de los españoles, los incas llevaban registros de producción y consumo, y se calcula que había alrededor de 32.000.000 de camélidos (Rossi, 2000).

Los camélidos sudamericanos ofrecen carne y fibra de alta calidad, así como medios de transporte y carga, lo que los hace un recurso valioso para la población de las tierras altas de los Andes. Sin embargo, debido a las condiciones bioclimáticas y a la falta de rentabilidad de las tierras, la cría de camélidos tiene lugar en áreas donde la agricultura es cada vez más escasa. Por lo tanto, para masificar genes de alto valor económico y productivo en llamas y alpacas, se ha favorecido la introducción y el desarrollo de tecnologías de reproducción asistida (TRA), como la ovulación múltiple, la producción de embriones in vivo e in vitro y la transferencia de embriones (Germana et al., 2016).

Los antepasados de los camélidos migraron de América del Norte a Asia, Europa y el Norte de África, como los camellos y los dromedarios. El grupo que emigró a América del Sur hace alrededor de 3 millones de años, actualmente se compone de dos especies: llama (llamas y guanacos) y vicuña (alpacas y vicuñas) según (Rondines, 2006).

En Bolivia, hay alrededor de 70.000 hogares que se dedican a la crianza de camélidos. Los pequeños productores controlan aproximadamente el 90% de las llamas y alpacas. Oruro tiene la mayor cantidad de incendios, seguido por La Paz, Potosí y Cochabamba, por último, Tarija y Chuquisaca. No obstante, Tarija ha obtenido la victoria en el campeonato nacional de llamas 2012 en Chuquisaca, lo que demuestra la excelencia y el rápido desarrollo que están experimentando en la zona. En los departamentos de Santa Cruz, Beni y Pando, prácticamente, no existen camélidos (Vargas, 2005a).

El departamento de La Paz tiene la mayor cantidad de alpacas, seguido por Oruro, Cochabamba y Potosí. El censo de vicuñas de 2009 sorprendió con sus datos: hay más de 112 000 vicuñas en el país. No obstante, se estima que no más de 400 guanacos residen naturalmente en el país. En los últimos diez años, el número de llamas y alpacas ha aumentado aproximadamente un 25 %, mientras que el número de vicuñas ha aumentado casi tres veces. De acuerdo con (SIRENA, 2010)

Tabla 1 *Población de camélidos en Bolivia*

Dpto.	Llamas	Alpacas	vicuñas	Totales
Oruro	1.163.808	114.184	28.830	1.306.822
La Paz	1.012.480	305.467	36.969	1.354.916
Potosí	438.669	920	44.202	483.791
Cochabamba	104.332	23.541	867	128.740
Tarija	2.191	13	1.381	3.585
Chuquisaca	2.150	139		2.289
Santa Cruz	42	9		51
Pando	24			24
Beni	8			8
Total	2.723.704	444.273	112.249	3.280.226

Fuente: Elaboración propia con base al INE – MDRyT (2017).

Llamas de la Raza Kara

Choque (2006) indica, las llamas karas son camélidos de mayor tamaño y altura. Se destaca por su gran docilidad y son sencillos de manejar. Señalan que es un animal con menos vellón, particularmente en las extremidades y el cuello. El pelaje de cabeza, cuello y extremidades es más corto. El color de su pelaje puede ser negro, marrón claro u oscuro, gris o blanco, en ocasiones con manchas de colores oscuros.

Figura 2 Llama raza Kara



Fuente. Reporte fotográfico. E.E. Choquenaira (2023).

3.3. Reproducción de los camélidos sudamericanos

3.3.1. Características de la producción

Los camélidos domésticos llamas y alpacas, presentan similar comportamiento productivo donde la pubertad se da al año de vida en las hembras y en los machos se alcanza alrededor de los dos años. Ambas especies muestran un patrón de apareamiento similar, en el que se distinguen dos fases, una inicial de cortejo, seguida por la cópula (Urquieta, 1993), siendo considerados como reproductores estacionales, su temporada normal de apareamiento ocurre en los meses más cálidos y húmedos, cuando el forraje es más abundante entre agosto y septiembre (Álvarez y Medellín, 2005). La gestación es de 11 meses que es mayor a la de otros mamíferos y de una sola cría permitiendo el nacimiento de un neonato desarrollado, según (Raggi, 1993).

3.3.2. Parámetros reproductivos

Flores (1977) señala, uno de estos cruces se produce entre la llama y la alpaca, dando lugar a un híbrido conocido como huarizo o (wari). Los pastores aymaras tradicionales lo clasifican además en llamawari (similar a la llama) y pacowari (similar a la alpaca).

De acuerdo a Kadwell et al. (2001), la selección de pastores suele basarse en rasgos fenotípicos. Aunque los pastores reconocen la presencia de híbridos de llama y alpaca, no siempre es posible identificar a estos animales basándose únicamente en su fenotipo.

Rodríguez (2003) nos dice, una de las ventajas de los híbridos es la posibilidad de obtener un animal polivalente mediante el cruce de especies. El autor también menciona que el huarizo, al ser de tamaño mediano, tiene una altura similar a la llama y una fibra comparable a la de la alpaca. Por consiguiente, este cruce tiene el potencial de ofrecer una producción de carne mejor que la alpaca y una producción de fibra superior a la de la llama. Un posible factor que contribuye a la erosión genética de las llamas es el cruce entre llamas y alpacas, que da lugar al nacimiento de crías fértiles conocidas como huarizos. Los autores consideran que los huarizos tienen poca importancia productiva.

3.3.3. Comportamiento sexual y celo

Las alpacas y las llamas muestran pocos o ninguno de los signos externos de comportamiento de apareamiento habituales como en otros animales domésticos. Sin embargo, cuando las hembras están en celo, tienen un patrón de comportamiento en presencia de los machos. El macho corteja a las hembras, aparentemente persiguiendo a cualquiera de ellas al azar: las que están en celo suelen adoptar una posición sentada, y los machos las montan en esa posición, de una forma muy similar a la que ahora es bien conocida en los camellos del Viejo Mundo. El periodo de cortejo es muy breve, normalmente menos de un minuto. Las hembras no receptivas rechazan los avances del macho, escapando y escupiéndole; los machos adultos muy agresivos a veces ignoran el rechazo y, en algunos casos, pueden obligar a las hembras no receptivas, sobre todo a las inexpertas, a colocarse en posición de apareamiento presionando sus extremidades anteriores contra los flancos de las hembras y aprovechando su mayor peso corporal. Otras hembras en celo responden a la presencia del macho y de la pareja de apareamiento adoptando una posición sentada muy cerca de ellos, o simplemente olfateando al macho (Endocrin, 1969).

3.4. Fisiología reproductiva de la llama

3.4.1. Descripción del Tracto reproductivo de la hembra

3.4.1.1. Cérvix

Se distingue por su fuerte espiral con dos o tres vueltas de tejido muscular. La vagina y el útero están conectados dentro del canal cervical en las hembras no embarazadas, que es sinuoso y de unos 2 a 4 cm de longitud. El pene puede entrar en el útero cuando el cuello uterino es penetrable para la deposición del semen (Sepúlveda, 2011).

3.4.1.2. Ovarios

Los ovarios, que tienen forma ovalada, alcanzan un diámetro mayor de 15 mm y un diámetro menor de 10 mm en las mujeres mayores. Los folículos dentro de ellos maduran y liberan óvulos, que contienen la mitad del material genético de la próxima generación. Un folículo más grande (de 8 a 12 mm) y varios folículos de 3 a 4 mm de diámetro se pueden ver en la superficie del ovario de las hembras adultas no preñadas. En alpacas y llamas, ambos ovarios son activos, pero la mayoría de las preñeces ocurren en el cuerno uterino izquierdo. Estas hormonas permitirían que el óvulo se implantara en el endometrio. Los óvulos atraviesan el oviducto. El oviducto, que tiene un diámetro de 2 a 3 mm y es donde se lleva a cabo la fecundación, es crucial para la fertilidad (García, Carreón, San Martín y Olazábal, 2005).

3.4.1.3. Útero

El útero adopta una forma similar a una letra "Y". La longitud del cuerpo uterino de las hembras no gestantes es de aproximadamente 2 a 4 cm, mientras que los cuernos son de 8 a 15 cm. La mayoría de las preñeces ocurren en el cuerno izquierdo, que es más grande que el derecho. El macho coloca semen en el útero durante la cópula y los espermatozoides viajan desde allí hasta el lugar de fecundación (García, Carreón, San Martín y Olazábal, 2005).

3.4.1.4. Vagina

El macho penetra en la vagina durante la cópula y nace la cría durante el parto. Tiene un diámetro de 2 a 4 cm y una longitud de 12 a 18 cm. Aunque se realiza una dilatación para permitir el nacimiento de la criatura, los partos complicados suelen causar daños en la vagina (García, Carreón, San Martín y Olazábal, 2005).

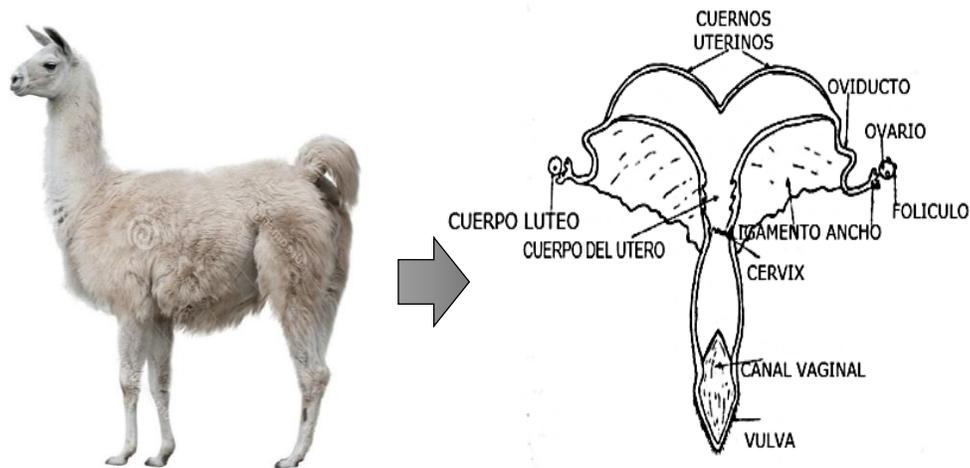
3.4.1.5. Vulva

La vulva, una abertura vertical de 2,5 a 3,0 cm de longitud, es el órgano visible desde el exterior. Los labios externos tienen una protuberancia en la parte inferior. Aunque la vulva puede estar hinchada y ligeramente agrandada en las hembras próximas al parto, no hay cambios significativos en su apariencia en relación con los ciclos foliculares, aunque puede aparecer hinchada y ligeramente agrandada en las hembras próximas al parto (FAO, 1996). Por un problema de conformación, algunas hembras tienen más probabilidades de contraer infecciones del aparato reproductor. Las heces contaminan la vagina si la vulva está demasiado inclinada hacia delante en lugar de estar vertical. Esto causa infecciones, lo que reduce la fertilidad de la hembra.

3.4.1.6. Oviductos

Los oviductos son tubos delgados que miden aproximadamente 20 cm de longitud. A través de estos tubos, el óvulo desciende para encontrarse con el espermatozoide y permitir la fecundación (FAO, 1996).

Grafico 1 Aparato reproductor de la llama Hembra



Fuente. Bravo et al., (1996).

3.5. Ciclo estral de la llama

No hay una definición precisa de los eventos relacionados con el ciclo estral en hembras cuya ovulación es inducida. En ausencia de estimulación copulatoria, las alpacas o llamas hembras muestran períodos de receptividad sexual hasta de 36 días, con períodos de rechazo breves que pueden durar hasta 48 horas. Independientemente de la paridad, parece haber una variabilidad significativa en la respuesta abierta de los individuos. La variabilidad de la receptividad sexual se puede atribuir principalmente al grado de madurez del folículo en cualquier estado de la fase folicular continua. Sin embargo, no hay evidencia a este respecto (Hafez y Hafez, 2002).

Cuando los machos están en el cortejo y durante el apareamiento, pueden realizar gestos como resoplaciones, gruñidos y sonidos de la laringe nasal. El macho monta por encima y exactamente atrás de la hembra durante la copulación en una posición reclinada. Durante la copulación, la hembra se mantiene muy pasiva, y en ocasiones, cuando la copulación es prolongada, parece cansarse y cambiar de posición para acostarse sobre un lado. El coito de los camélidos es prolongado (10–15 minutos) en comparación con otras especies domésticas. Se puede observar que los nacimientos tienen lugar de diciembre a marzo en los rebaños de animales alto-

andinos en los que machos y hembras están juntos todo el año, de forma similar a ciertas comunidades rurales. Los nacimientos tienen lugar de diciembre a marzo, con una mayor concentración en enero y febrero. Esto se debe a la presencia del macho de condiciones ambientales favorables para la reproducción durante este período, en lugar de una estacionalidad inherente a la actividad reproductiva en alpacas y llamas (Huanca W., Ratto & Adams, 2006).

3.5.1. Control del ciclo ovárico de los Camélidos Sudamericanos

Para controlar la onda folicular, es necesario conocer su etapa. Para hacerlo, se puede monitorear la onda con un examen ultrasonográfico por al menos 14 días para identificar el momento de emergencia. Otra opción es provocar la ovulación. Una vez que el cuerpo lúteo (CL) es funcional (3 a 5 días después de la cópula o 2 a 3 días después de la ovulación), se inyecta PgF2 α para inducir la regresión del CL (Fernández Baca. et al., 1971). Otros han intentado controlar el ciclo ovárico mediante el uso de progestágenos para inducir una fase lútea artificial, que luego comienza una nueva fase folicular 5 a 7 días después de la finalización de la fase lútea inducida. La ablación del folículo dominante, ya sea por medio hormonal o mecánico, se utiliza para controlar el ciclo ovárico en camélidos (Huanca W., Ratto & Adams, 2006).

Se puede concluir que la habilidad de controlar el inicio de la onda folicular y controlar el tiempo de inducción de la ovulación para que se realice al momento óptimo del desarrollo folicular para obtener una respuesta adecuada a la estimulación hormonal ovárica para superovulación en alpacas. Se debe tener en cuenta que la respuesta a un nivel de FSH específico varía significativamente individualmente. Sin embargo, los niveles de FSH utilizados son menos importantes y pueden optimizarse por titulación para ajustar la respuesta, sin embargo, se debe tomar en cuenta que existe una variación individual grande en la respuesta a un determinado nivel de FSH (Bravo et al. 1996).

3.6. Sistema Endocrino de la llama

3.6.1. Control neuroendocrino de la foliculogénesis

El proceso por el que un folículo primordial se desarrolla hasta convertirse en un folículo preovulatorio, acompañando el crecimiento y la diferenciación del ovocito y las capas de células de la granulosa que lo rodean se conoce como foliculogénesis (Senger, 1997; Rajesh, 2007). El crecimiento y la diferenciación folicular pueden clasificarse en folículos primarios, secundarios, terciarios o antrales, así como folículos de Graff o preovulatorio en función del número de capas de células granulosas que rodean al ovocito, su diámetro y la presencia o ausencia de antros. Este fenómeno es continuo pero irreversible (Lundy et al., 1999; Rajesh, 2007).

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) se libera de forma pulsátil en los mamíferos desde el sistema hipotálamo-hipofisario al sistema portal. Esto estimula la liberación episódica de gonadotropinas a la circulación sistémica. Debido a los problemas con la toma de muestras de hormonas, la GnRH aún no se ha medido en camélidos (Hafez y Hafez, 2002).

La activación de las neuronas no adrenérgicas del mesencéfalo y el cerebro anterior en respuesta a las señales de las neuronas somato sensoriales es el principal mecanismo involucrado en la liberación preovulatoria de GnRH. La introducción del órgano copulador masculino durante el aparato produce estas señales (García, et al., 2005).

La función principal de la secreción de LH es provocar la ovulación, a lo que sigue la luteinización de las células del folículo ovulatorio y el inicio de la secreción de P4. Donde ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo inhibiendo la secreción de GnRH y desensibilizando los gonadotrofos hipofisarios a la acción de la GnRH (Huanca W., Ratto & Adams, 2006).

3.7. Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos

La dinámica folicular de las alpacas y llamas incluye la fase folicular y la fase lútea inducida. La fase folicular se divide en tres fases según el tamaño del folículo: crecimiento, maduración y regresión. La duración de cada etapa folicular es de cuatro a cinco días, y la duración de una onda folicular completa es de diez a doce días. Dos o tres días antes de que comience la regresión del folículo dominante, surge otro folículo con las mismas características y da inicio una nueva onda folicular (Bravo et al., 1996).

En camélidos, al igual que en otras especies, es probable que la inhibina producida por el folículo dominante contribuya a la regresión de los folículos subordinados. Esto requiere un efecto sinérgico del estradiol y otros reguladores intraováricos, así como niveles más bajos de FSH el día de la desviación folicular (Moreno, 2002).

Se ha observado en alpacas, con un intervalo de 12 a 15 días, el desarrollo de un folículo subsecuente de una nueva onda folicular comienza en 2-3 días después del inicio de la regresión del folículo dominante de la onda anterior. La presencia de un folículo de 7 mm o más determina la respuesta de la hembra llama y alpaca al macho, lo que sugiere que la capacidad de ovular de las llamas y alpacas ante un estímulo de cópula está determinada por el estado de desarrollo folicular, crecimiento o estático al momento de la monta (García, et al., 2005).

Sin embargo, las duraciones de cada fase de la onda folicular han sido reveladas en investigaciones recientes basadas en la evaluación continua de la actividad ovárica diaria mediante ultrasonografía (Vaughan et al., 2004). Las concentraciones plasmáticas de estradiol están muy relacionadas con el crecimiento folicular, alcanzando su punto máximo justo antes de que el folículo alcance su tamaño maduro y disminuyendo gradualmente a medida que el folículo retrocede. Esto se ha demostrado en estudios endocrinos (Vaughan, 2011).

La onda folicular de la vicuña es corta, aunque varía entre las especies de CSA. La investigación sobre los acontecimientos endocrinos que regulan la dinámica folicular en los camélidos es limitada. No obstante, según investigaciones sobre la

estimulación ovárica, se cree que este control se debe al eje hipotálamo-pituitaria-gonadal y a la secreción de inhibina del folículo maduro dominante. La FSH podría estar involucrada en el reclutamiento de cada onda folicular (Tibary, 2001b). Para que los folículos dominantes sucesivos emerjan y alcancen su tamaño máximo, se requiere un período de tiempo de 11 a 18 días en las llamas, 8-12 días en las alpacas y 9-10 días en las vicuñas (Adams et al., 1990; Bourke et al., 1992).

La duración del intervalo de la onda folicular varía entre las hembras. Por lo tanto, predecir el mejor momento para criar a una hembra basándose en la duración anterior de un folículo dominante no es exacto y no se recomienda (Vaughan, 2011). Las ondas foliculares están presentes durante la lactancia y hasta los 6 meses de gestación. Los factores que se han examinado como posibles influencias en la dinámica folicular de los camélidos incluyen la estación o época del año, la edad y el estado de lactancia (Vaughan et al., 2004).

Tabla 2 *Características de las ondas foliculares en camélidos sudamericanos*

<i>Característica observada (días)</i>	<i>ALPACA</i>	<i>LLAMA</i>	<i>VICUÑA</i>
Duración	12-14 (7 a 19)	20-25 22,6-2,6	7,27-0,46
Fase de crecimiento	4-5	9,2-2,8	3,03-0,18
Fase estática	4-5	5,2-1,4	1,40-0,21
Fase de regresión	3-4	8,2-2,2	2,87-0,28
Intervalo interonda	-	20,2-1,6 18,0-1,0	4,22-0,29

Fuente. Vaughan, (2011).

3.8. Factores que influyen en la dinámica folicular

La estacionalidad o temporada del año, la edad y el estado de lactancia son los factores estudiados que pueden afectar la dinámica folicular en camélidos.

3.8.1. Efecto de la temporada

La respuesta sexual de las alpacas hembras es prolongada (hasta 36 días) mientras que el rechazo de los machos es breve (San Martín et al., 1968). La actividad folicular ovárica ocurre durante todo el año y los CSA no son estacionales. Sin embargo, durante los meses de verano en los Andes, las lluvias de temporada y, por lo tanto, las disponibilidades de buenos pastos han llevado a la creación de un sistema de manejo de los servicios con macho durante una temporada. Las hembras se reúnen con los machos durante 45-60 días durante la época de servicio o empadre en el hemisferio sur, de enero a marzo (Tibary, 2001b).

3.8.2. Efecto de la edad

Sumar (1991), ha investigado el impacto de la edad y la madurez sexual. En el apareamiento, las primerizas y las hembras adultas no se observaron diferencias significativas en el patrón de receptividad o el tamaño folicular. Sin embargo, es importante señalar que las hembras primerizas tuvieron una tasa significativamente mayor de fallas de ovulación después de apareamiento que las hembras adultas.

Las hembras jóvenes (de 2 a 6 años) pueden tener patrones de ondas foliculares normales; Sin embargo, su receptividad al macho es con frecuencia menor que la de las hembras adultas (Flores, 1977).

3.8.3. Efecto de la lactancia

La lactancia tiene un impacto significativo en la actividad folicular de las alpacas. Esto se traduce en intervalos entre ondas foliculares más cortos, una reducción del diámetro máximo de los folículos dominantes y una mayor tasa de falla de ovulación (Sumar et al., 1974).

En llamas lactantes, el período es desde el apareamiento hasta la ovulación, y el estado de 14 lactancia no afectó la tasa de crecimiento de los folículos preovulatorios. Sin embargo, en comparación con las hembras no lactantes, la lactancia se complicó con un intervalo entre ondas más cortas ($2,5 \pm 0,05$ días) y un diámetro máximo de los folículos dominantes más pequeños (Leyva. & García, 1999b).

3.9. Ovulación

Entre uno y dos días después del apareamiento, ocurre la ovulación. Después de la ovulación, se forma el cuerpo lúteo, que libera la hormona progesterona, que regula la actividad sexual. Entre 8 y 9 días después del apareamiento, el cuerpo lúteo alcanza su máxima actividad funcional. El cuerpo lúteo mantiene su tamaño y su actividad hormonal si se registra la concepción. Si no hay concepción a partir del octavo día después del apareamiento, el cuerpo lúteo retrocede rápidamente y la hembra puede volver a ser receptiva 12 días después del apareamiento, lo que provoca la ovulación. En las hembras no preñadas, los períodos de falta de respuesta se corresponderían con el punto máximo de actividad del cuerpo lúteo (8 a 9 días después del apareamiento). Esto se debe a que las hembras de los camélidos sudamericanos son consideradas ovuladoras inducidas y requieren un estímulo físico como la cópula (San Martín et al., 1968).

Se realizó una evaluación del impacto de varios estímulos de monta en la estimulación de la ovulación en alpacas. Se encontró que, ya sea que las hembras fueron montadas por otras hembras o sin copulación, la tasa de ovulación era baja. No hubo diferencias significativas entre las hembras que no recibieron ningún estímulo. Las alpacas que fueron montadas con copulación por un macho entero ovularon un 77-82%, lo que demuestra que la monta y la introducción del pene son necesarias para proporcionar una estimulación adecuada para la ovulación (Fernández-Baca et al., 1971).

3.9.1. Factor inductor de Ovulación (FIO)

Los testículos y glándulas accesorias generan una secreción denominada plasma seminal, en realidad las alpacas poseen próstata y vesículas seminales. Se pensaba que solo era un paso para los espermatozoides. Sin embargo, se afirma que

las proteínas, hormonas y citosinas presentes en el plasma seminal ayudan a evaluar las funciones vitales de los espermatozoides y el aparato reproductor de la hembra (Uyena et al., 2012).

Paolicchi et al. (1999) han demostrado que el plasma seminal de alpaca tiene un impacto in vitro en las células pituitarias de ratas y sugieren que varios componentes del plasma seminal contribuyen a la liberación de LH. En otra investigación in vivo en llamas, debíamos determinar si el efecto del FIO en la secreción de LH es mediado por la estimulación del hipotálamo o de la hipófisis con un antagonista de la GnRH (acetato de cetorelix), que inhibe el "pico" preovulatorio de LH o si el FIO ejerce un efecto directo en las gonadotrofas de la pituitaria. (Silva et al., 2011) afirma que el FIO influye directa e indirectamente en las neuronas de GnRH en el hipotálamo.

3.9.2. Cuerpo lúteo

Es la glándula endocrina temporal creada por el folículo ovulatorio. Está hecho de dos células que son esteroidógenas. Proviene de células lúteas pequeñas que se transforman en células de teca y responden a la LH aumentando la secreción de progesterona. Esto se hace mediante el segundo mensajero activando la proteína quinasa A. La granulosa contiene receptores para la $PGF2\alpha$ en las células lúteas grandes. El cuerpo lúteo empieza a retroceder y permite el crecimiento folicular para dar paso a una nueva onda folicular si no hay preñez (Niswender et al., 2000).

El cuerpo lúteo comienza a desarrollarse en el ovario a los 3-5 días de la cópula o después de la aplicación de hCG (2 a 4 días después de la ovulación), y los niveles de progesterona aumentan entre 4 y 6 días después del coito. Se ha observado que el cuerpo lúteo alcanza un tamaño de 10 a 15 mm en llamas y alpacas entre los días 7 y 9 después de la cópula, coincidiendo con los niveles más altos de progesterona (Adams et al., 1991).

La vida media del cuerpo lúteo es de 8 a 9 días si no hay gestación. A los 12 días del coito, comienza a reducirse su diámetro y la secreción de progesterona disminuye, alcanzando su nivel más bajo en los 14 o 15 días (Fernández-Baca et al., 1971; Adams et al., 1991, 1990; Bravo, 1996).

3.9.3. Luteólisis

Se refiere al evento fisiológico en el que el cuerpo lúteo desaparece. Estos dos eventos ocurren casi simultáneamente: la disminución de la producción de progesterona, conocida como Luteólisis funcional, y la involución del cuerpo lúteo, conocida como luteólisis estructural. La disminución del flujo sanguíneo y la capacidad esteroideogénica de las células lúteas son las causas de esta disminución en la producción de progesterona (Niswender et al., 2000).

También se observará un hecho único en los camélidos: la actividad luteolítica del cuerno uterino derecho es local y solo afecta el cuerpo lúteo ipsilateral, mientras que la actividad luteolítica del cuerno uterino izquierdo es sistémica y local y afecta el cuerpo lúteo de ambos ovarios (Fernández-Baca et al., 1979).

3.9.4. Estacionalidad Reproductiva

En la región montañosa del sur del Perú, donde los machos y las hembras conviven todo el año, se han realizado investigaciones que han demostrado que las actividades sexuales son estacionales y duran de diciembre a marzo (meses de verano), estos son los meses más calurosos del año, con una cantidad suficiente de lluvia y forraje verde (Hafez y Hafez, 2002).

Las llamas y las alpacas tienen una receptividad sexual prolongada o estro (hasta 36 días), con un estro relativamente corto que no dura más de dos días. Tanto en la fase de crecimiento como en la de regresión, las camélidas hembras pueden aceptar al macho. (Huanca, 2020).

La cría coincide con el parto debido a la larga gestación (casi un año) de las llamas y alpacas. Esto significa que la gestión de esta fase del ciclo de producción requiere una organización y mano de obra excepcionales. La productividad del rebaño se verá significativamente afectada por la eficacia de estas dos tareas. Por lo tanto, es fundamental planificarlas y ejecutarlas de manera efectiva (Delgado. & Illan, 2017).

3.10. Control Hormonal de la Reproducción en hembras Llamas

3.10.1. La Hormona folículo estimulante FSH

La hormona folículo estimulante (FSH), una glucoproteína de gran peso molecular, se secreta en pulsos por los gonadotropos de la hipófisis. Está compuesta por dos subunidades, alfa y beta, que están codificadas por genes ubicados en diferentes cromosomas (Kraus et al., 2001).

La promoción de la proliferación y secreción de células de Sertoli y el apoyo indirecto al espermatogénesis en los machos son algunas de las múltiples funciones biológicas de la secreción FSH (Kilgour et al., 1998). Como en las hembras, afecta la selección y el reclutamiento de folículos ováricos, así como la síntesis de estradiol a partir de precursores androgénicos (Campbell et al., 1990; Fortune et al., 1991).

Se requiere una administración frecuente de FSH para mantener concentraciones plasmáticas suficientes para lograr una respuesta ovárica adecuada, ya que tiene una semivida de 5 horas y no se encuentra en el torrente sanguíneo durante 12 horas después de la inyección. Por lo tanto, la inducción de superovulación con una sola inyección de FSH no ha dado resultados satisfactorios, lo que ha llevado al uso de protocolos que requieren de 4 y 8 inyecciones cada 12 horas. Un protocolo de dosificación constante se ha considerado habitualmente el mejor para los preparados con menor contenido de LH (Forcada et al., 2009).

3.10.2. La gonadotrofina coriónica equina eCG

La eCG es una glicoproteína descubierta por Cole y Hart en los años treinta. Tiene efectos biológicos similares a los de FSH y LH en diferentes especies de equinos, su función es la de causar la ovulación o luteinización de los folículos durante la gestación con el consecuente aumento de la progesterona (P4) circulante (Martinez, et al., 1999).

El alto contenido de ácido sialico de la eCG ayuda a retrasar su metabolismo y aumenta su periodo de acción hasta casi 24 horas. Esto simplifica su aplicación en una sola dosis de 1000-2000 UI introducida entre 24-48 horas antes de finalizar el tratamiento de sincronización (Forcada et al., 2009).

La gonadotropina coriónica equina promueve el crecimiento folicular y el reclutamiento de folículos pequeños, aumentando la tasa de ovulación y permitiendo un inicio del celo y la ovulación más rápido y uniforme.

3.10.3. La hormona liberadora de gonadotropina GnRH

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es responsable de inducir la liberación de LH y FSH tanto in vitro como in vivo. Según (Stevenson, 1994) la GnRH, un decapeptido, se produce en las porciones medio-basal y anterior del hipotálamo (específicamente en el núcleo arqueado). Se secreta a las células secretoras de gonadotropinas de la adenohipófisis a través de los vasos portales hipotálamo-hipofisarios para llegar a las células secretoras de gonadotropinas de la adenohipófisis.

Uno de los métodos para sincronizar la aparición de una nueva onda folicular es el uso de GnRH o LH para inducir la ovulación del folículo dominante, seguida de la aparición de una nueva onda folicular entre 1,5 y 2 días después (Macmillan et al., 1991; Pursley et al., 1995; Martínez et al., 1999). Sin embargo, la administración de GnRH o LH no siempre induce la ovulación, y si ésta no se produce, no tiene lugar la sincronización de una nueva onda folicular (Martínez et al., 1999). En un estudio que incluía tres experimentos diferentes (Deyo et al., 2001), los resultados mostraron sistemáticamente que los tratamientos con GnRH o LH daban lugar a un menor número de embriones en comparación con cuando la onda se sincronizaba mediante ablación folicular o estradiol y progesterona.

3.10.4. La hormona luteinizante LH

La función de la LH es reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL). La concentración de LH aumenta en pulsos durante un breve periodo antes de la ovulación. La frecuencia de los pulsos de LH depende de la estimulación de las células hipofisarias por la GnRH. Cada pulso de LH corresponde a un pulso de GnRH. Durante la fase preovulatoria, el aumento de la secreción de estrógenos de los folículos ejerce una retroalimentación positiva sobre el eje hipotalámico-hipofisario, lo que da lugar al denominado "pico preovulatorio de LH". La LH, junto con la FSH, interviene en la

maduración final del folículo, induce la liberación del ovocito (ovulación) y la formación del cuerpo lúteo a partir del folículo ovulado (Tondello et al., 2010).

3.10.5. Prostaglandina PG

Según Delgado & Illán (2017), la prostaglandina (PGF₂α) es una hormona secretada por las glándulas uterinas que tiene una fuerte acción luteolítica y es responsable de la regresión del cuerpo lúteo. La PGF₂α sirve para sincronizar el estro y la ovulación, asegurando la presencia de folículos dominantes durante toda la estación reproductiva.

La PGF₂α, secretada por el endometrio, puede ser el agente luteolítico en camélidos sudamericanos, debido a que se demostró que la prostaglandina exógena ocasiona luteólisis, solo cuando se administra después del cuarto día de la fase luteal inducida. En hembras no preñadas la caída de progesterona coincide con un incremento en los niveles de prostaglandina entre los días 9 y 12 post-cópula lo que no sucede en hembras preñadas (Leyva y García, 1999b).

3.11. Mejoramiento Genético

La selección generalmente se ha llevado a cabo junto con emparejamientos con el objetivo de aumentar la cantidad de crías producidas al año, enfocándose en las hembras. La transferencia de embriones es una técnica crucial que nos permite maximizar la capacidad reproductora de las hembras con un alto valor genético.

En el caso de los camélidos, la reproducción está estrechamente ligada a la producción. Esta actividad permite establecer un ciclo de producción basado en partos exitosos que dan lugar a crías. Estas especies tienen una tasa de reproducción relativamente baja en comparación con otras, principalmente debido a su largo período de gestación y a su única cría al año, sin tener en cuenta las tasas de mortalidad. Aplicando métodos y técnicas de reproducción para obtener más nacimientos y un mayor número de crías en los camélidos, este porcentaje puede mejorarse significativamente.

3.12. Multiovulación en Llamas en la actualidad

Los métodos de multiovulación producen en promedio entre 2,5 y 3 embriones por parto, lo que puede llegar a 8 embriones por hembra. La investigación sobre la multiovulación y la TE en la CSA sigue siendo limitada, y continúan los esfuerzos para mejorar los protocolos existentes para establecer un programa de multiovulación que produzca sistemáticamente un número satisfactorio de embriones transferibles al tiempo que se reduzca el riesgo de infertilidad en donantes de élite (Vaughan et al., 2013).

3.13. Importancia de la multiovulación

El objetivo de la tecnología de multiovulación es maximizar la tasa reproductiva de las hembras (incrementar el número de cría en su vida reproductiva de cada hembra) aprovechando la disponibilidad del gran número de ovocitos en los ovarios. En los camélidos sudamericanos, existe una ventaja opcional que permite la reproducción de animales puros de una especie mediante la gestación de sus embriones a otra especie, lo que ayuda a salvar y multiplicar (transferencia inter especie) Esto ayuda a salvar y multiplicar especies silvestres como vicuña y guanaco gestados en llamas (Taylor et al., 2001).

Desde el punto de vista (Mendoza & Molina, 2013) La multiovulación tiene la capacidad de:

- 1) Aumentar la intensidad de selección:** debido al aumento en el número de descendientes por hembra, se reduce el número de madres seleccionadas de una generación para dar lugar a la generación siguiente de reproductores que renovarán el rodeo.
- 2) Reducir el intervalo intergeneracional:** al aumentar rápidamente las hembras jóvenes, se reduce el intervalo entre generaciones y se difunden reproductores de alto valor genético.
- 3) Difundir la mejora genética:** aumentar la cantidad de hembras que tienen un alto valor genético para la descendencia. Las crías de menor tamaño tendrán vientres de mayor tamaño.

La eficiente respuesta al tratamiento multiovulario es la condición fundamental para que un programa de transferencia de embriones tenga éxito y para el desarrollo científico de biotecnología más avanzadas.

3.13.1. Mejora genética

La mejora genética, el rescate y la conservación de animales domésticos y salvajes se han beneficiado de las biotecnologías reproductivas. A principios del siglo XX, la inseminación artificial, la ovulación múltiple y la transferencia de embriones se han demostrado técnicas poderosas para mejorar los rasgos genéticos del ganado vacuno, ovino y camélido (Boga Baruselli & Moreno, 2002).

3.13.2. Mantenimiento de la diversidad genética

En los camélidos sudamericanos se tiene la ventaja adicional de que la tecnología de transferencia embrionaria permite la reproducción de animales puros de una especie usando para la gestación de sus embriones animales de otra especie (transferencia ínter especies) lo cual podría permitir el rescate y multiplicación de especies silvestres como vicuñas y guanacos gestados en llamas o alpacas indica (Taylor, et al., 2001). Transfiriendo embriones de alpacas puras a llamas produjo crías alpaca puras y normales que fueron aceptadas por las nodrizas y por el rebaño de llamas al cual pertenecieron los recipientes; ese experimento fue también validado por nosotros, así como por otros grupos de investigadores en el Perú (Vivanco, et al., 2014).

3.13.3. Apoyo a técnicas reproductivas

Menciona (González, et al., 2004) que la respuesta ovulatoria de cada técnica de multiovulación se ve afectada por una alta variabilidad en la respuesta ovulatoria a los tratamientos hormonales, así como por la cantidad de embriones transferibles y descendientes que se obtienen. Los factores extrínsecos de esta variabilidad incluyen el grado de pureza de las hormonas gonadotropinas utilizadas y el protocolo de administración, mientras que los intrínsecos incluyen raza, edad, nutrición y estado reproductivo.

3.14. Factores que afectan a la multiovulación en camélidos

En los camélidos, la multiovulación presenta una respuesta variada; solo el 33,5% de las hembras responden a los estímulos hormonales para el desarrollo de múltiples folículos, muchos de los cuales contienen ovocitos con un desarrollo anormal y una maduración nuclear y citoplasmática insuficiente (Vaughan, et al., 2013).

3.15. Selección de animales

Para conseguir una eficacia reproductiva óptima y crear un entorno adecuado para las donantes, se tienen en cuenta varios criterios importantes durante su aprobación y clasificación. Los factores que influye como la nutrición, la salud, el manejo y el clima son parte de esto. Para garantizar las mejores elecciones posibles, el proceso de selección también tiene en cuenta un índice de registros reproductivos (Vaughan, et al., 2013).

3.15.1. Selección de donadoras

Los criterios que se toma en cuenta para la selección son los siguientes: edad entre 2 a 3 años, peso corporal promedio 95 kg., su estado en general de salud, nutrición, con una cría como mínimo, posean sus vacunas de desparasitación y aplicación de vitaminas, etc. (Vaughan, et al., 2013).

3.15.2. Preparación y manejo

Para la preparación de las hembras donadoras se realizó un manejo de sistema semi-intensivo separándolas de los machos, recibiendo suplemento alimenticio como el heno o el ensilaje 500 gr/animal/día donde el alimento concentrado posee un valor nutricional de 2700 Kcal/Kg de energía metabólica y 16 % de proteína cruda, durante horas de la mañana para complementar su requerimiento, y manteniendo un pastoreo de (10:00 am hasta las 16:30 pm) así como también el requerimiento de agua se proporcionó en los corales (Vaughan, et al., 2013).

3.16. Producción de embriones

El uso de ovocitos de animales benéficos ha sido utilizado en los primeros estudios sobre la producción de embriones mediante fecundación in vitro (FIV) en camélidos sudamericanos (Del Campo, et al., 1994; Gamarra et al., 2008). Estos estudios ayudaron a estandarizar los protocolos de maduración in vitro (MIV) y FIV. Se han reportado embarazos exitosos en llamas y alpacas con periodos de gestación acortados, aunque todavía no existe un protocolo establecido para lograr tasas elevadas de embriones (Mendoza, et al., 2013).

La producción de embriones incluye varios procesos, incluida la recolección de ovocitos, la maduración nuclear y citoplasmática y el cultivo embrionario. Cada uno de estos procesos ocurre en una etapa diferente (Ruiz, 2013).

3.16.1. Técnica quirúrgica

El lavaje uterino en CSA se realiza mediante laparotomía ventral, que se ha utilizado desde los primeros intentos de colección de embriones en CAS (Novoa, 1999). Donde (Vivanco, et al, 2014) utilizó la colección embrionaria quirúrgica en alpacas mediante laparotomía ventral, pero no ha encontrado ninguna ventaja significativa en su uso en comparación con la técnica transcervical. El método de lavaje uterino que empleó en CAS es el medio de lavado comercial de embriones.

3.16.2. Técnica no quirúrgica

Para transferir embriones, la técnica más común es la no quirúrgica cateterización transcervical del útero. Esta técnica es muy similar a la usada en vacas, empacando los embriones en pajuelas de 0.25 cc y utilizando pistoletas y catéteres comercialmente disponibles. (Vivanco et al, 2014) utilizó tanto la técnica transcervical no quirúrgica como la técnica transcervical con ayuda laparoscópica, la cual es más efectiva en términos de preñez. Al principio, transferíamos el embrión al cuerno uterino ipsilateral al CL, pero debido a que la mayoría de las gestaciones se llevan al cuerno uterino izquierdo independientemente del lado de la ovulación. (Fernández Baca, et al., 1979), Dado que no se encontró diferencias significativas en las preñeces, actualmente se transfiere todos los embriones al cuerno uterino izquierdo,

independientemente del lado en que se encuentre el CL. El medio que se usó para manipular los embriones y para la transferencia embrionaria es el “medio de mantenimiento” (1 L PBS + 1 G Glucosa + 36 mg Piruvato de Sodio + 0.4% BSA + 50 mg de Monosulfato de Kanamicina).

3.17. Colecta de embriones

Para obtener embriones, se realiza una palpación previa del tracto reproductivo con guantes de látex quirúrgicos usando grandes cantidades de lubricante a cada donadora multiovulada para calcular la cantidad de cuerpos lúteos formados en cada uno de los dos ovarios de cada animal en cada protocolo de estudio (Moreno, 2002).

El operador giró suavemente la mano mientras introducía la mano en el recto. Después de retirar el contenido del recto y ubicar el cuello del útero y los cuernos uterinos, se retiró la mano y se lavó con agua y jabón el área perineal, se utilizó un antiséptico para limpiar la vulva y secarla. Con la ayuda de un asistente que abrió los labios vulvares, se procedió a introducir la sonda Foley con su estilete asépticamente en la vagina. Una vez que el catéter estaba dentro de la vagina, el operador colocó la mano pre lubricada en el recto, guio la sonda a través del cuello uterino y la sostuvo suavemente entre dos dedos (Sumar, 2013).

Luego empujó la sonda cranealmente para que se acercara al orificio cervical. El estilete se retiró un poco para que la punta quedara inclinada hacia el globo de la sonda Foley. El globo se infló con cinco mililitros de medio de lavado uterino y la sonda se fijó dentro del cuerpo del útero. El estilete se retiró y las mangueras conectadoras en forma de "Y" se conectaron a la sonda Foley con un extremo conectado a una bolsa de medio lavado caliente (37 °C), mientras que el extremo de retorno estaba conectado a un filtro para recolectar embriones (Sumar, 2013).

El útero se llenó con medio de lavado (60 mililitros) y luego se abrió el extremo de retorno para extraer el fluido del filtro. Permita que el líquido de lavado permanezca en el útero durante 30 a 60 segundos antes de retirarlo. Cada lavado implicaba masajear suavemente los cuernos uterinos para ayudar a evacuar el líquido. Al final del lavado uterino, se desinfló el globo, se retiró el catéter y se lavó cuidadosamente el contenido en el filtro. Después del lavado uterino, se administró a la hembra una

dosis de prostaglandina luteolítica para inducir la luteólisis y evitar la preñez si no se había recuperado ningún embrión (Sumar, 2013).

3.17.1. Evaluación de embriones

Correa (1994) realizó evaluaciones y clasificaciones de todos los embriones recuperados, y se obtuvieron las siguientes clasificaciones:

Embriones excelentes: Se encuentran en una de las fases de desarrollo esperadas (blastocisto o blastocisto eclosionado), sin mostrar anomalías morfológicas notables. Son esféricos y simétricos, con células uniformes en cuanto a color, tamaño y textura.

Embriones buenos y regulares: Se encuentran en uno de los estadios de desarrollo esperados y muestran muy pocos defectos morfológicos, como una blastómera expulsada de la masa principal, una forma ligeramente irregular o que contengan algunas vesículas.

Embriones deficientes: Encontrados en uno de los estadios de desarrollo esperados, pero que presentan defectos significativos que no son decisivos para su viabilidad posterior. Esta categoría incluye embriones con numerosos blastómeros separados de la masa celular principal, presencia de núcleos picnóticos, etc., pero siempre con una masa celular aparentemente viable.

Embriones afectados por degeneración y retraso: Embriones que presentan una degeneración celular extensa y/o un estado de desarrollo significativamente retrasado, carentes de una masa principal viable.

3.18. Medios de lavado y mantenimiento

Una vez que el tratamiento resulta positivo, pasamos la sonda Foley y lavamos los cuernos. A continuación, llevamos el filtro al laboratorio improvisado en la finca para comenzar su búsqueda y clasificación después de lavar los dos cuernos. Se buscan embriones y estructuras que no han sido fertilizadas con una ampliación de 15x. Los ovocitos infertilizados y los embriones degenerados se separan de los ovocitos viables. Los embriones que son viables se transfieren a otra caja de Petri con 26 medios de PBS y se lavan 10 veces después de la búsqueda y clasificación (Del Campo, 1994).

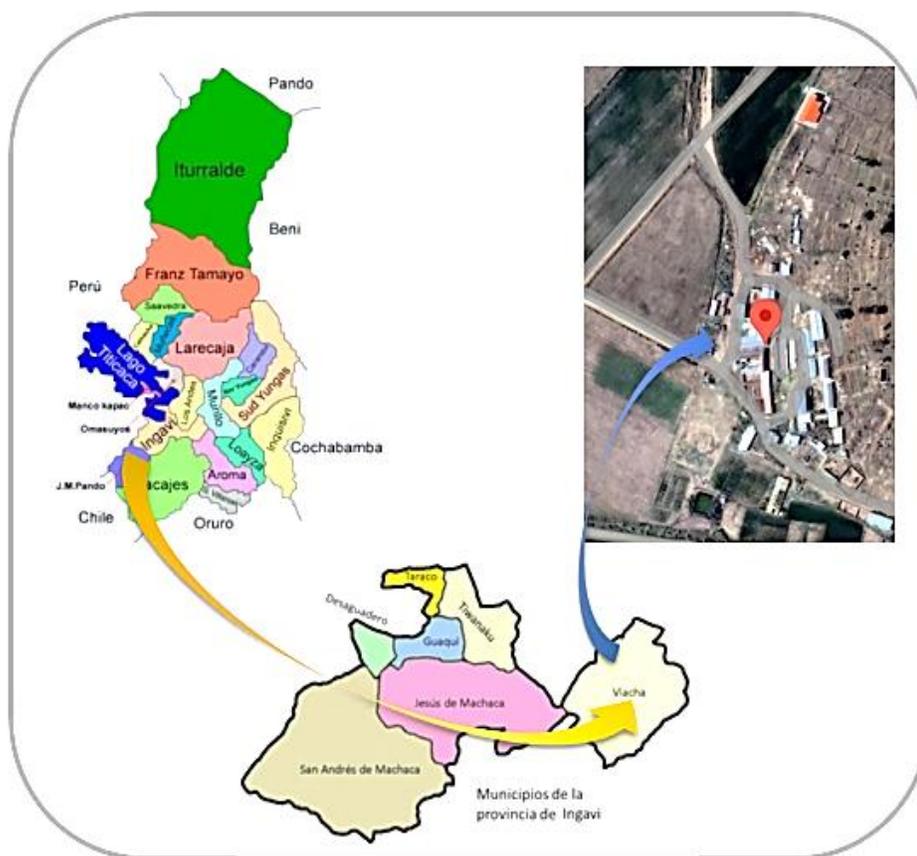
4. LOCALIZACIÓN

4.1. Ubicación Geográfica

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental Choquenaira, dependiente de la Facultad de Agronomía - UMSA. Está ubicada en la comunidad de Choquenaira, a 8 km de la localidad de Viacha, Provincia Ingavi, y a 38 km de la ciudad de La Paz.

La Estación se encuentra a una altitud de 3881 m.s.n.m., en una posición geográfica de 16°41'36.71" de latitud Sur y 68°17'14.93" de longitud Oeste. Tiene una extensión de 163 hectáreas. (Mamani, 2012).

Grafico 2 Ubicación del trabajo de investigación



Fuente. Elaboración propia con base a Google Earth (2023).

4.2. Características de la Zona

Las variaciones climáticas de la región en la que se llevó a cabo el estudio se caracteriza por tener un clima frío. Es común que ocurran heladas y la falta de precipitaciones causa períodos prolongados de sequía, lo que resulta en una sola cosecha al año. La temperatura media anual es de 7,7 °C, y las precipitaciones son estacionales e irregulares. Con una cantidad media anual de 349,10 mm, la mayor parte de las precipitaciones en los últimos años se han producido entre diciembre y marzo, representando el 72% de las precipitaciones totales (Mamani, 2012).

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Materiales

5.1.1. Material Biológico

- 8 llamas hembras
- 2 Machos reproductores

5.1.2. Hormonas e insumos

- eCG (Gonadotropina coriónica Equina)
- Prostaglandina
- GnRH
- Suero fisiológico

5.1.3. Medicamentos

- Lidocaína
- Pentagal reforzado
- Alcohol

5.1.4. Material de Campo

- Sogas de sujeción
- Mameluco
- Guantes de palpación
- Jabón y antisépticos
- Mesa larga
- Botas

5.1.5. Material de Laboratorio

- Estereoscopio
- Micro pipetas
- Platino térmico
- Baño maría
- Pistola de inseminación
- Fundas de inseminación
- Placas Petri mediano
- Sonda Foley N°14
- Jeringas de 2 y 10 ml
- Jeringas de 20 y 50 ml
- Filtro EMCOM

5.1.6. Material de Gabinete

- Cuaderno de apunte
- Marcadores
- Cds
- Lápiz y borrador
- Fichas individuales para cada animal examinado
- Cámara fotográfica
- Computado

5.2. Metodología

5.2.1. Tipo de investigación

El trabajo recogió, organizó, resumió, presentó, analizó y generalizó los hallazgos utilizando el método descriptivo. Este método consiste en recopilar y presentar datos de manera sistemática para brindar una comprensión clara de una situación específica (Hernández, 1996).

5.2.2. Diseño metodológico

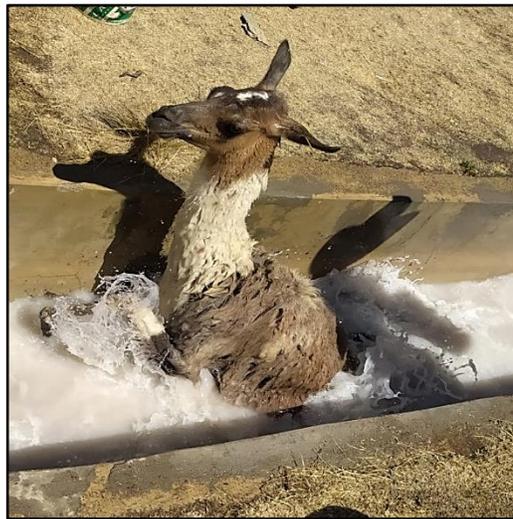
El presente trabajo de investigación metodológico cuali-cuantitativo tiene un diseño “no experimental” donde está basado en identificar las relaciones entre una o más variables mediante la recopilación de datos y se analizan las características del fenómeno estudiado (Peña, 2010).

5.3. Procedimiento

Desparasitación

Fue necesario realizar una desparasitación en los camélidos antes de iniciar con la investigación, previniendo enfermedades de impacto negativo precautelando las condiciones de salud del ganado camélido. Considerando que la sanidad animal está directamente relacionada con la ganancia de peso y la reproducción.

Figura 3 *Baño antisarnico para la prevención de enfermedades parasitarias*



Fuente. Reporte grafico (2023).

Aplicación de vitaminas

Se suministró fuente de vitaminas de gran importancia en el organismo animal. Su requerimiento se incrementa en función a su peso y edad.

Figura 4 *Suministro de vitaminas vía oral*



Fuente. Reporte grafico (2023).

5.3.1. Selección de inclusión

Para la selección de las llamas se tomó varios aspectos reproductivos los cuales son: buena salud en general, peso promedio según la edad, receptible al empadre, edad entre 2-4 años, número de partos previo 1 como mínimo.

5.3.2. Selección de exclusión

Se llevó a cabo la verificación de su historial clínico de cada llama, teniendo las características genéticas que poseen llegando saber si son primerizas, si tuvieron una enfermedad recientemente, si padecen alguna anomalía o presentan una mala condición corporal. Donde quedaron excluidas para la práctica.

5.3.3. Selección de donadoras

Se seleccionaron donadoras que no estaban gestantes ni lactantes y que tenían una buena fertilidad y no tenían enfermedades relacionadas con la reproducción.

Estos animales se eligieron como donantes en función de sus rasgos genéticos y físicos. Un total de 8 donadoras donde se dividió 4 hembras por cada protocolo. son observadas por su número de arete para poder identificarlas y poder controlar mejor sus actividades diarias. Una forma de selección está en la revisión general de la llama

y los registros reproductivos. Es importante que las donantes estén en un entorno cómodo, con acceso a comida, agua y minerales en todo momento.

5.3.4. Preparación de los animales

En la preparación de las hembras se realizó con un manejo de sistema semi-intensivo donde las hembras son separadas de los machos. Durante el día se mantuvo el pastoreo junto con el rebaño (10:00 hasta 17:00 horas) para no causar estrés e inquietud, y durante la noche en el corral junto con las demás llamas. Dentro de los corrales se proporciona suplementos como el ensilaje y el heno, 800 gr/animal/día de alimento concentrado.

Cada llama cuenta con su registro único, el cual se fue registrando todas las actividades que se realizó, entre ellos está la desparasitación, aplicación de vitaminas y posterior el pesaje de las llamas obteniendo un peso corporal promedio de 110 kg.

Figura 5 *Suplemento de alimento balanceado*



Fuente. Reporte fotográfico E.E. Choquenaira (2023).

5.4. Protocolos de multiovulación en llamas

Los protocolos utilizados en este estudio se hicieron a medida teniendo en cuenta al máximo los principios fisiológicos clave que sustentan todo protocolo de ovulación múltiple empleado en camélidos sudamericanos domésticos.

Tabla 3 *Protocolo de multiovulación en llamas*

DIAS				
0	2	6	7	14
Aplicación de GnRH	Aplicación de eCG (Protocolo A 1000 UI) (Protocolo B 700 UI)	Aplicación de Prostaglandina (PF2α)	Empadre (mañana o tarde) Aplicación de GnRH	Lavado de Embriones Aplicación de PF2α

Fuente. Protocolo modificado de Jacome, (2015).

5.4.1. PROTOCOLO A

En el experimento A, se utilizó 4 llamas hembras identificadas por su número de arete, realizando la prueba del empadre para verificar si se encuentran receptivas. Designando una hora establecida para la aplicación de medicamento como ser: eCG, GnRH, prostaglandina PF2 α entre otros.

Tabla 4 *Hora de aplicación a cada llama donadora*

Número	Número de arete	Prueba de Empadre	Hora de Aplicación (GnRH, eCG, PF2&,,)
1	249	Receptiva	8:00 a.m.
2	83	Receptiva	8:05 a.m.
3	1603	Receptiva	8:10 a.m.
4	1565	Receptiva	8:15 a.m.

Fuente. Elaboración propia (2023).

Día 0.- Se aplicó GnRH a las donadoras con una dosis de 2 ml a cada una de ellas en la pata izquierda vía intramuscular, se realizó a horas de la mañana según registro: donadora N°249 a las 8:00 am, donadora N°083 a las 08:05 am, donadora N°1603 a las 08:10 am y la donadora N°1565 a las 08:10 am.

Figura 6 *Aplicación de GnRH en la pata izquierda*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 2.- Se suministró eCG (gonadotropina coriónica equina) 1000 UI por vía intramuscular, esta ocasión en la pata derecha a cada donadora en su hora establecida.

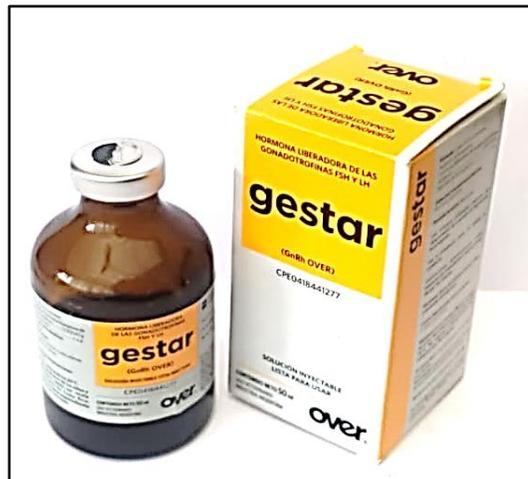
Figura 7 Aplicación de eCG



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 6.- Ya teniendo tres días de reposo, en este día se aplicó la prostaglandina (PF2) una dosis de 2 ml por vía intramuscular, en esta ocasión en la pata izquierda y en la hora que se le designo.

Figura 8 Aplicación de la prostaglandina



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 7.- En horas de la mañana se realizó el servicio de monta con 2 machos enteros y fértiles donde cubrieron a 2 hembras cada uno. Los empadres tienen una duración. La aceptación de la hembra al macho puede ocurrir en la mañana o en la tarde sin forzar, este proceso no afecta en la producción de embriones.

Una vez culminando cada empadre se suministró GnRH en una dosis de 2 ml por vía intramuscular en la pata derecha de cada donadora.

Figura 9 *Empadre controlado*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 14.- La técnica que se empleó para la verificación presencia de óvulos es por palpación vía rectal. Para el lavado de embriones se realizó por el método no quirúrgico.

Una vez concluido el lavado de embriones se aplicó Prostaglandina PF2& en una dosis de 2 ml por vía intramuscular en la pata izquierda. Esta dosificación ayuda a la expulsión de todo cuerpo lúteo, embriones e impurezas que se quedaron en el animal, logrando su recuperación de las donadoras.

Figura 10 *Lavado de embriones*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

5.4.2. PROTOCOLO B

En el experimento B, de la misma forma se utilizó 4 llamas hembras identificados por su número de arete, donde se realizó la prueba del empadre para verificar si se encontraban receptivas. Así como también se planifico una tabla establecida para la aplicación de medicamento como ser: eCG, GnRH, prostaglandina PF2& entre otros.

Tabla 5 *Hora de aplicación a cada llama donadora*

Fuente.

Número	Número de arete	Prueba de Empadre	Hora de Aplicación (GnRH, eCG, PF2&.)
1	249	Receptiva	8:45 a.m.
2	83	Receptiva	8:50 a.m.
3	1581	Receptiva	8:55 a.m.
4	1565	Receptiva	9:00 a.m.

Reporte fotográfico (2023).

Día 0.- Se aplicó GnRH a las donadoras con una dosis de 2 ml a cada una de ellas en la pata izquierda vía intramuscular, se realizó a hora de la mañana según registro: donadora N°249 a las 8:45 am, donadora N°083 a las 08:50 am, donadora N°1581 a las 08:55 am y la donadora N°1565 a las 09:00 am.

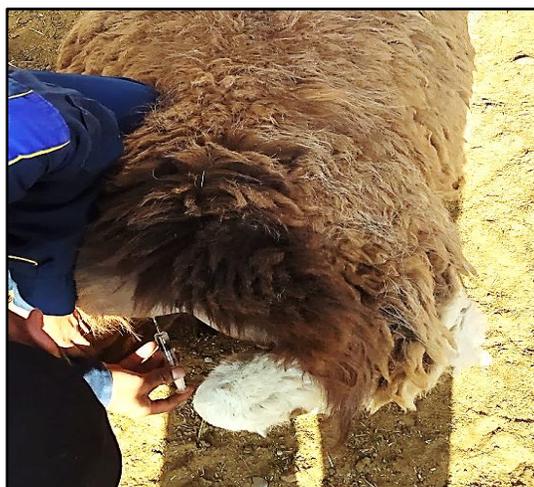
Figura 11 *Aplicación de GnRH pata derecha*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 2.- Se suministró eCG (gonadotropina coriónica equina) 1000 UI por vía intramuscular, esta ocasión en la pata derecha a cada donadora en su hora establecida.

Figura 12 *Aplicación de GnRH pata izquierda*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 6.- Ya teniendo tres días de descanso, en este día se aplicó la prostaglandina (PF2&) una dosis de 2 ml por vía intramuscular, en esta ocasión en la pata izquierda y en la hora que se le designo.

Figura 13 *Aplicación de PF2&*

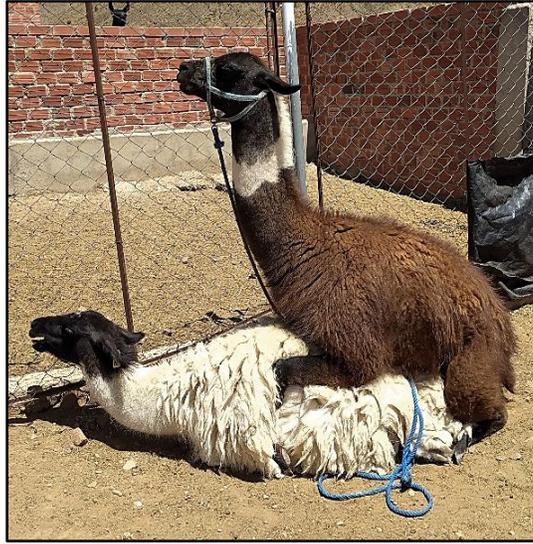


Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 7.- En horas de la mañana se realizó el servicio de monta con 2 machos enteros y fértiles donde cubrieron a 2 hembras cada uno. Los empadres tienen una duración: 15 min, 25 min, 18 min y 23 min respectivamente de cada uno. La aceptación de la hembra al macho puede ocurrir en la mañana o en la tarde sin forcejear, esto proceso no afecta en la producción de embriones.

Una vez culminando cada empadre se suministró GnRH en una dosis de 2 ml por vía intramuscular en la pata derecha de cada donadora.

Figura 14 *Empadre controlado*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Día 14.- La técnica que se empleó para la verificación presencia de óvulos es por palpación vía transrectal. Para el lavado de embriones se realizó por el método no quirúrgico.

Terminando el lavado de embriones se aplicó Prostaglandina PF2& en una dosis de 2 ml por vía intramuscular en la pata izquierda. Esta dosificación nos ayuda a la expulsión de todo cuerpo lúteo, embriones e impurezas que se quedaron en el animal, logrando su recuperación de las donadoras.

Figura 15 Lavado de embriones



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

5.4.3. Preparación de materiales para el lavado de embriones

Los materiales que se utilizaron en la transferencia de embriones:

- Mesa para la instalación de materiales. Se desinfecto previo a su uso, lavando con detergente y agua normal, luego se desinfecto con una solución de alcohol.
- Se usó guantes de palpación, gel usado como lubricante, papel de limpieza, jeringas y agujas para la aplicación de Lidocaína como anestésico.
- Catéter de Folley es un tipo de sonda que permite la entrada de medio de lavado al cuerpo del útero y las trompas de Falopio.
- Estilete es una varilla metálica en acero quirúrgico. El estilete se introdujo en el catéter Folley.
- Filtro es un recipiente de boca ancha y fondo angosto, posee una tapadera con dos orificios Folley y el medio de lavado.
- La redcilla encargada de filtrar ubicada en la pared del recipiente Medio de lavado. Se usó entre uno o dos litros de Suero Fetal Bovino (SFB) al 1% de albúmina o suero fisiológico como medio de lavado.

Figura 16 Preparación de materiales para el lavado de embriones



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

5.5. Técnica de Producción de Embriones

La recolección de embriones se realizó por medio de la técnica no quirúrgica, usando el catéter FOLEY por donde se inyectó un medio de líquido, produciendo un medio de lavado (suero) a través de los cuernos uterinos con un medio a una temperatura de 32° C. la solución rescatada se filtró y colocó en unas placas Petri con finalidad de la identificación y clasificación de los embriones.

La colección de embriones se realizó mediante los siguientes pasos:

1. Sujeción de la donante
2. Evacuación de heces, palpación, ecografía y estimación de los cuerpos lúteos y folículos para determinar la respuesta multiovulatoria.
3. Preparación de la solución (suero) atemperado
4. Dilatación cervical
5. Preparación del catéter. Lubricación
6. Ubicación del catéter en el cuerno y fijación
7. Lavado cuerno por cuerno
8. Volumen de líquido en cada episodio de lavado 15- 20 ml

Figura 17 *Lavado de embriones*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

5.6. Evaluación de embriones según la calidad y cantidad de cada protocolo

El lavado de embriones de cada llama, se obtuvo por lo menos 2 a 3 cajas Petri con medio de lavado donde se usó una pipeta graduada evaluando a los embriones con un microscopio, una vez identificado se colocó en la placa de búsqueda y se observó en la placa de evaluación.

Figura 18 *Evaluación y observación vía microscópica*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

5.7. Analisis estadístico

Para el análisis se utilizó la Estadística Descriptiva ya que tiene por objetivo presentar información de manera fácil de entender, El diseño estadístico utilizado para el presente trabajo fue una comparación de medias mediante la prueba de t de Student. Permitiendo el desarrollo de métodos gráficos y métodos numéricos.

$$t = \frac{\tilde{x}_1 - \tilde{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

\tilde{x}_1 =Valor medio del primer protocolo

n_2 =Tamaño del segundo protocolo

\tilde{x}_2 =Valor medio del Segundo protocolo

S_1 =Desviación típica del primer protocolo

n_1 =Tamaño del primer protocolo

S_2 =Desviación del Segundo protocolo

Evaluación económica para la producción de embriones

Para determinar el costo de producción de la producción de embriones, se calculó a partir de los egresos totales dividiendo a precio unitario. El cálculo se realizó aplicando la fórmula de Ancalle, costos de producción incurridos en el presente estudio. Para hallar costo de producción se trabajó en base a la siguiente formula.

Fórmula para hallar costo de producción según Demetrio Ancalle.

M.P.+M.O.D.+C.I.=Costo de Producción

M.P.= Materia Prima

M.O.D.=Mano de Obra Directa

C.I.=Costos Indirectos

C.P.=Costo de Producción

C.P.U.=Costo de Producción Unitario

La mano de obra directa o temporal; consiste en contratar un especialista para el lavado de embriones. El costo del lavado depende por unidad animal; por grupo.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Total de embriones colectados para la evaluación de dos protocolos a efecto de eCG

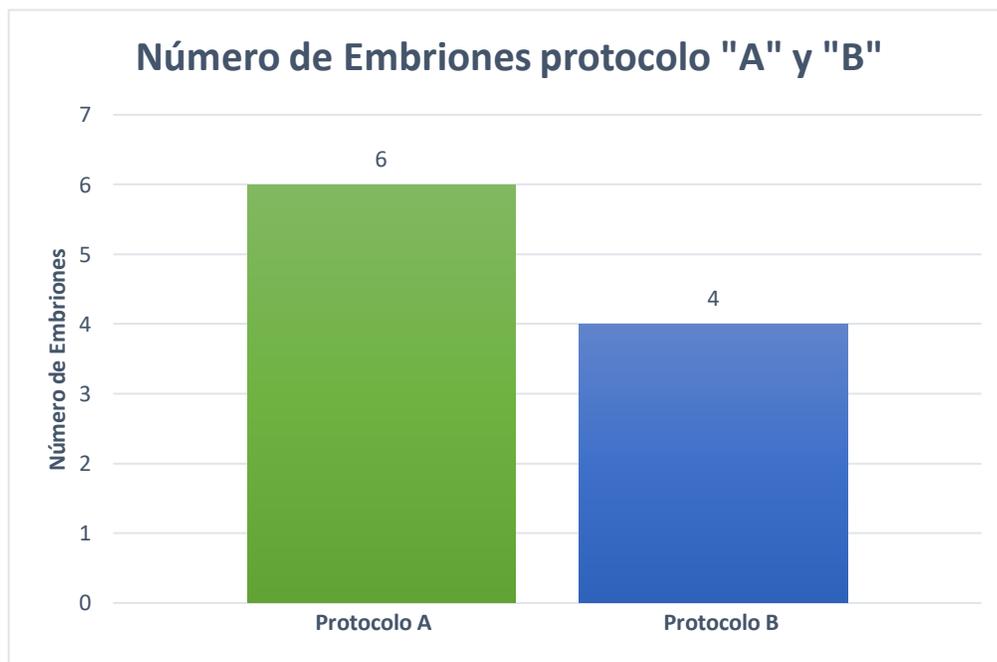
La multiovulación es considerada efectiva cuando existe más ovulaciones de lo normal ya sea bajo prácticas habituales. En la siguiente tabla se muestra el total de embriones colectados.

Tabla 6 Número de embriones para la evaluación de dos protocolos a efecto de eCG

Número de Embriones	
Protocolo A	6
Protocolo B	4
TOTAL	10

Fuente. Elaboración propia (2023).

Figura 19 Número de embriones para la evaluación de dos protocolos a razón de eCG



Fuente. Elaboración propia (2023).

Se puede observar en la tabla 6 y en la figura 19, el número de embriones formados posterior a los tratamientos de multiovulación respecto a la utilización de eCG en relación a la presencia de embriones. Estos resultados no son concluyentes porque el número de animales es muy bajo. A pesar de ello, existiría la posibilidad de considerar que hay una mejor respuesta en las llamas al emplear el protocolo "A" en la multiovulación.

Elguera (2015) muestra la mejor respuesta en el protocolo "A" (7.58 ± 0.72) en el cual trabajo con 500 UI de eCG lo que dio un mayor desarrollo folicular en comparación del protocolo "B" en el que se utilizó 100 UI de eCG lo que dio como resultado (7.00 ± 0.72) y finalmente el protocolo "C" donde se utilizó 200 UI de eCG lo que dio el menor número de folículos formados (5.83 ± 0.42). Demostrando que no existe diferencias significativas entre los promedios de los 3 protocolos para el número total de folículos superestimulados.

(Pachecho., Velez., & Garcia, 2020) evaluaron el efecto de dos dosis de eCG sobre la respuesta superovulatoria, tasa de recuperación embrionaria y alteraciones reproductivas inducidas. Se utilizaron 32 llamas adultas, clínicamente sanas, distribuidas en dos grupos: Grupo I (700 UI eCG; n=15) y Grupo II (500 UI eCG; n=21). Obteniendo, el número de folículos por hembra para los grupos I y II fue de 4.9 y 3.7, respectivamente. El número de embriones colectados fue de 1.6 y 2.6 por hembra en los grupos I y II, respectivamente, lo cual indicaría la existencia de posibles fallas ovulatorias o luteinizaciones tempranas en el grupo I. Se concluye que la dosis de 500 UI de eCG permite obtener una menor cantidad de folículos, pero un mayor número de embriones y menor frecuencia de problemas reproductivos en el pos-tratamiento.

En comparación con el trabajo de (Pacheco., Velez., & Garcia, 2020) en la aplicación de eCG, existe cierta correlación en la cantidad aplicada, demostrando significancia en el grupo II donde la producción fue 2.6 embriones. Donde analizamos los resultados obtenidos en los dos protocolos "A" y "B". Señalando un mejor resultado en la obtención de embriones, con un resultado sobresaliente en el protocolo "A".

6.2. Resultados de número de cuerpos lúteos

Los resultados de número de cuerpos lúteos de las llamas donadoras de embriones superovuladas con la aplicación de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) evaluadas según el protocolo de superovulación en tiempo fijo se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 7 *Número de cuerpos lúteos a razón de dos dosis de eCG*

Tratamiento 1	Cuerpos lúteos	Tratamiento 2	Cuerpos lúteos
1000 UI (eCG)	3	700 UI (eCG)	2
1000 UI (eCG)	2	700 UI (eCG)	1
1000 UI (eCG)	5	700 UI (eCG)	3
1000 UI (eCG)	2	700 UI (eCG)	2

Fuente: Elaboración propia (2023).

En la tabla 7 se observa el número de cuerpos lúteos que se encontró en cada llama superovulada con las dosis de 1000 UI y 700 UI con (eCG), en el cual las llamas son 4 al ser sometidos al análisis estadístico T de Student donde se evidenciaron que no hay diferencias significativas por efecto de dosis de hormona empleada a las llamas que ya tenían anteriormente partos.

Tabla 8 *Número de cuerpos lúteos de T1 y T2 en llamas*

Tratamiento	N	Promedio Cuerpos lúteos	Desviación estándar	P
T1 1000 UI eCG	4	3	1,25	0,095
T2 700 UI eCG	4	2	0,91	

Fuente: Elaboración propia (2023).

El número de cuerpos lúteos obtenidos en la tabla 8 en el tratamiento 1 fue de $3 \pm 1,25$ mientras que para el tratamiento 2 fue $2 \pm 0,91$.

Según el análisis estadístico de la tabla 8, los promedios de los dos protocolos para el número de cuerpos lúteos no difieren significativamente entre sí. ($p < 0,05$).

A nivel de significancia 5% dado que $P = 0,09$ es mayor a nivel alfa $0,05$, se concluye que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) entre el promedio de cuerpo lúteos de T1 y T2, estos resultados confirman la Hipótesis nula demostrando que los animales de T1 tiene igual respuesta que los animales de T2.

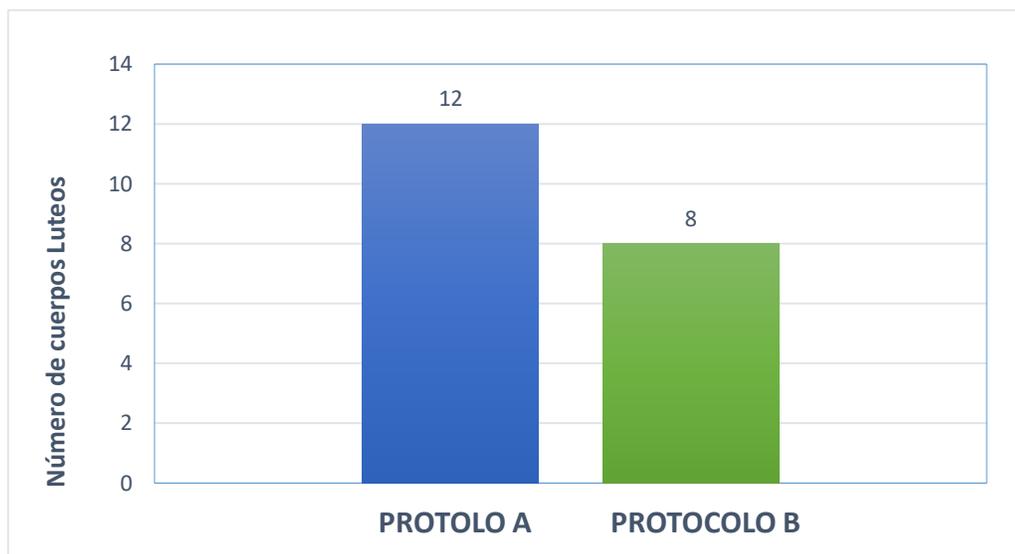
Ancco y Olivera (2013), informaron que el uso de 400 UI de eCG y 500 UI de eCG produjo un promedio de $4,83 \pm 2.48$ y $3,60 \pm 1.14$ para los cuerpos lúteos, sin evidencia de diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$).

Según González, et al., (2004). Describe que los promedios de los tres protocolos para el número total de cuerpos lúteos superestimados no difieren significativamente entre sí. ($p = 0.05$). Reportan el uso de eCG UI a través del lavado uterino, obteniendo 5.83 ± 2.04 y 4.33 ± 1.51 en promedio de Cuerpos lúteos formados totales, no se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0,05$).

Novoa (1999) indica, que el uso de 1000 UI de eCG y 800 UI de eCG en la fase folicular y progestacional inducida resultó en $8,2 \pm 2,3$ y $17,8 \pm 8,3$ cuerpos lúteos, respectivamente. La discrepancia resultó ser significativa ($P = 0,05$).

De acuerdo a los resultados de Novoa (1999), concluye que si obtuvo diferencia significativa ($p = 0,05$). Sin embargo, se obtuvo otro resultado a nivel de significancia 5% dado que $P = 0,09$ es mayor a nivel alfa $0,05$, se concluye que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) entre el promedio de cuerpo lúteos de T1 y T2, estos resultados confirman la Hipótesis nula demostrando que los animales de T1 tiene igual respuesta que los animales de T2. Rechazando dicha conclusión de Novoa (1999).

Figura 20 Número de cuerpos lúteos en llamas superovuladas



Fuente. Elaboración propia (2023).

En la figura N° 20 muestra el número de cuerpos lúteos siendo así los dos efectivos con una variación donde queda el protocolo "A" ($3 \pm 1,25$) obteniendo mejor resultado ya que trabajo con 1000 UI de eCG, seguida por el protocolo "B" ($2 \pm 0,91$) en el que se utilizó 700 UI de eCG, todos con monta para la ovulación porque los camélidos actúan como ovuladores inducidos. Las hormonas LH ayudan a la ovulación.

6.3. Resultados número de embriones en llamas

Tabla 9 Número de embriones de T1 y T2 en llamas

Tratamiento	N	Promedio embriones	Desviación estándar	P
T1 1000 UI eCG	4	1,5	1	0,541
T2 700 UI eCG	4	1,666	0,666	

Fuente: Elaboración propia (2023).

En la tabla 9 se puede apreciar que el número de embriones obtenidos en llamas superovuladas con la Hormona Gonadotropina coriónica Equina eCG con las dosis de 1000 UI en tratamiento 1 fue de $1,5 \pm 1$ mientras que para el tratamiento 2 con dosis de 700 UI de eCG fue de $1,666 \pm 0,666$.

A nivel de significancia de 5% dado que $P = 0,541$ es mayor a nivel alfa 0,05 se concluye que no existe diferencias significativas ($P > 0,05$) entre el promedio de número de embriones obtenidos de los tratamientos T1 y T2. Estos resultados confirman la hipótesis nula demostrando que los animales del tratamiento 1 tienen igual respuesta ovulatoria que los animales de tratamiento 2.

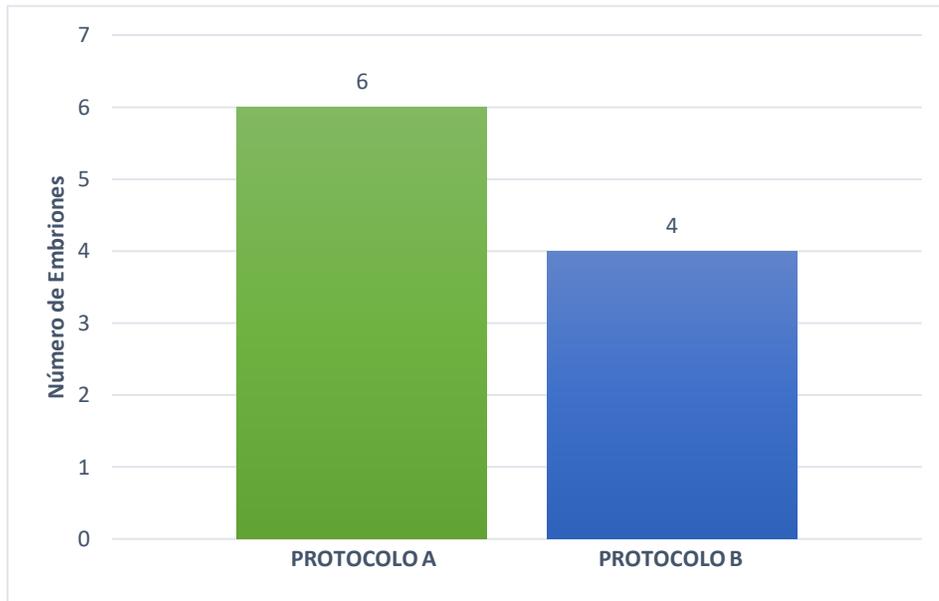
Huanca (2007) realizó un estudio de superovulación en alpacas no lactantes utilizando una dosis de 750 UI eCG recuperó 1.25 ± 0.22 embriones, lo que es menor al número promedio de embriones recuperados en nuestro estudio.

Ancco y Olivera (2013) describen el uso de eCG de 400 UI y 500 UI, lo que resultó en un promedio de $1,4 \pm 0,14$ y $1 \pm 0,00$ para los embriones recuperados, sin diferencias significativas en el T1 ($P > 0.05$).

Las diferencias numéricas que se pueden suponer determinan las diferencias entre los protocolos. No obstante, la cantidad de animales es insuficiente y no podríamos valorar los significados. Es posible que la diferencia se deba a que algunos folículos no estaban preparados para ovular durante el pico endógeno de LH y solo pudieron ovular después de 12 horas. Este tratamiento parece reducir la dispersión entre ovulaciones y aumentar la cantidad de embriones transferibles (Mendoza, 2013).

Al tener un resultado sin diferencia significativa contrastamos con los resultados de Ancco y Olivera (2013), y Huanca (2007). Determinamos una posibilidad en correlación a los resultados, que se obtendría un mayor número de embriones cuanto sea mejor el protocolo de multiovulación ovárica

Figura 21 Número de embriones producidos con eCG en llamas



Fuente. Elaboración propia (2023).

En la figura N° 21 se observa cada protocolo, donde hemos logrado crear las secuencias fisiológicas y endocrinológicas adecuadas, pero con una superestimulación ovárica que resultó en multiovulación y fertilización de la mayoría de los óvulos, lo que resultó en la obtención de embriones cuya cantidad varía, para el protocolo “A” ($1,5 \pm 1$), para protocolo “B” ($1,666 \pm 0,666$). Donde se llegó a los resultados más prometedores del protocolo “A” que se puede ver en la recuperación del mayor número de embriones, lo que finalmente resultó en una combinación hormonal y un tiempo de administración mucho más efectivo que el otro tratamiento.

Evaluación de cantidad y calidad de embriones por protocolo en llamas

Tabla 10 *Clasificación de embriones obtenidos protocolo "A"*

<i>CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA</i>				
Duración de protocolo 14 días				
N° de Arete	N° Embrión	Estadio	Grado	Clasificación
	1	Mórula	Grado 2	Buena
249	2	Blastocito	Grado 2	Buena
83	1	Mórula	Grado 3	Regular
	1	Mórula	Grado 4	Malo
1603	2	Blastocito	Grado 2	Regular
	3	Mórula	Grado 2	Buena
1565	0	-	-	-
Total N° de embriones encontrados				6

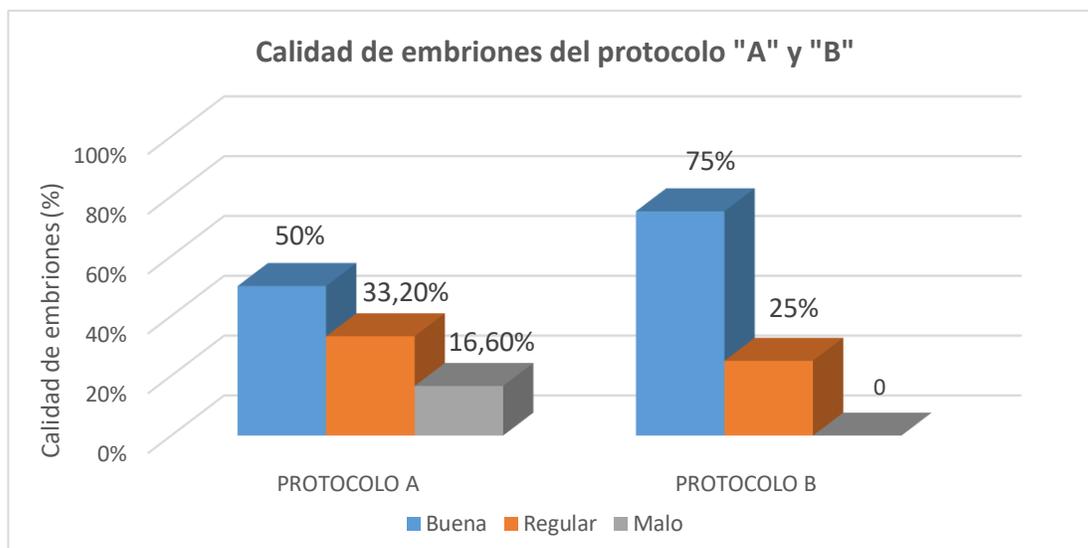
Fuente: Elaboración propia (2023).

Tabla 11 Clasificación de embriones obtenidos protocolo "B"

CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA				
Duración de protocolo 14 días				
N° de Arete	N° Embrión	Estadio	Grado	Clasificación
249	1	Mórula	Grado 3	Regular
83	0	-	-	-
1581	1	Mórula	Grado 2	Buena
	2	Blastocito	Grado 2	Buena
1565	1	Mórula	Grado 2	Buena
Total N° de embriones encontrados				4

Fuente. Elaboración propia (2023).

Figura 22 Cuadro resume por porcentajes de calidad de embriones en el protocolo "A" y "B"



Fuente. Elaboración propia (2023).

Según la figura N° 22, se puede observar que en el protocolo "A" al aplicar la hormona eCG (1000 UI) el 50 % fueron de grado 2 (bueno), el 33,20 % fueron embriones de grado 3 (regular) presentando embrión con forma irregular. El 16,60 % llegaron a ser embriones de grado 4 (malo) presentando una formación no muy clara. Siendo así el tratamiento con mayor efectividad demostrando una mejor calidad. En el protocolo B con una aplicación de (700 UI) de eCG dio como resultado un 75 % de grado 2 (bueno) donde los embriones tuvieron pocos blastómeros y una formación no muy clara. El 25 % fueron embriones de grado 3 (regular) con una forma irregular y la zona pelucida maltratada. Aun así, comparando el tratamiento 2, logro un elevado número de embriones sanos y eficientes.

(Lundy, 1999) determinó la calidad morfológica de los embriones recuperados en los protocolos del estudio fue en su mayoría buena. Esto se debe a que la evaluación y calidad de los embriones podrían predecir el porcentaje de tasas de implantación y preñez después de las transferencias, ya que los reportes de embriones con esta calificación en ovinos indican tasas de preñez mayores o medianas.

De los ocho embriones que se obtuvieron, seis estaban en estadio de blastocitos y uno en estadio de mórula. Este resultado corrobora los hallazgos de Bravo, et al., (1996), que encontraron embriones en estadio de blastocito al día 6 y embriones expandidos al día 7. Estas diferencias se explican por el hecho de que las ovulaciones ocurren gradualmente, similar a lo que ocurre en la raza bovina, que ocurre entre 24 y 33 horas después de los picos de LH.

(Ortiz, 2011) reporta que existe evidencia de que el desarrollo embrionario es significativamente más rápido que el del ganado bovino. considera que el rápido rango de desarrollo embrionario de los camélidos sudamericanos podría estar relacionado con el reconocimiento temprano de la preñez por parte de la madre.

Figura 23 *Embrión del Protocolo “A” clasificación buena*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Figura 24 *Embrión del Protocolo “B” clasificación regular*



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

6.4. Evaluación económica de la producción de embriones

Tabla 12 Costo de cada tratamiento multiovulatorio

M.P.	M.O.D.	C.I.	C.P.	C.P.U.
Hormonas (eCG)	Lavado de Embriones	Medicamentos	Total	Total por cada CSA
1700 Bs.	120 Bs.	80 Bs.	1900 Bs.	475 Bs.

Fuente. Elaboración propia con base a la fórmula de Ancalle.

En la tabla N °12 se observa el costo de producción total para el tratamiento de 4 hembras durante todo el proceso del protocolo, desde el día 0 hasta el día 14 donde se lleva a cabo el lavado de embriones.

Así mismo se muestra el costo que requiere para realizar el tratamiento, desparasitación y aplicación de vitaminas 80 Bs. Hormonas, medicamentos y medio de cultivo 1700 Bs. Sin contar equipos de laboratorio como ser; microscopio, baño maría, cuerda de sujeción, mesas y entre otros. También se sumó la mano de obra 120 Bs. Sumado todo el gasto y dividiendo entre el número de llamas tratadas nos da un gasto de 475 Bs. Por cada llama.

Desde otro punto de vista el productor debe considerar que la multiovulación es económicamente viable y sostenible, debido a que permite obtener beneficios al mejorar genéticamente sus camélidos sudamericanos.

Del Campo (1994) indica que, el uso de nuevas técnicas de evaluación reproductiva nos ayuda a hacer un mejor diagnóstico y determinar si esa hembra tiene posibilidades de seguir produciendo crías, ofreciendo al propietario de dichos animales la oportunidad de tomar una decisión objetiva para ahorrar dinero en tratamientos que pueden no ser necesarios en caso de cambios irreversibles en el tracto reproductivo.

Estamos de acuerdo con Del Campo (1994) para que haya avances en las técnicas de reproducción como ser la multiovulación es necesario atribuir económicamente, ya que permite obtener ganancias mediante el mejoramiento genético de los camélidos sudamericanos.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos trazados y en función a los resultados obtenidos se establece lo siguiente:

Entre las llamas del protocolo "A" y "B" la producción de embriones no existe diferencia significativa ($P > 0.05$), esto indica que las respuestas en las llamas fueron positivas en todo el momento de la investigación, por otro lado, las llamas del protocolo "A" tuvieron más éxito en la producción de embriones.

Con la aplicación los protocolos de multiovulación respondieron favorablemente a los tratamientos con un total de 20 cuerpos lúteos en las llamas donadoras con la aplicación de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG), 12 cuerpos lúteos en el protocolo "A" y 8 cuerpos lúteos en el protocolo "B". Lo cual ayudo a tener una muy buena cantidad de embriones recolectados.

De acuerdo a cada tratamiento, se observó una distinción en relación con los embriones colectados de los dos protocolos que fueron 10 en total. Donde sus etapas de desarrollo varían significativamente. En el protocolo "A" se hallaron 6 embriones de los cuales se clasifico; 3 embriones en calidad buena, 2 embriones en calidad regular y 1 embrión en calidad mala. Mientras tanto en el protocolo "B" se hallaron 4 embriones y se clasifico; 3 embriones en calidad buena y 1 embrión en calidad mala. Es posible que tenga que ver con el entorno del tracto reproductivo de cada animal y los protocolos utilizados.

El estudio de costos para un tratamiento de multiovulación fue de 475 Bs. Donde con lleva lo siguiente: Hormonas, medicamentos y mano de obra. Sin contar equipos de laboratorio (microscopio, baño maría, etc.), mesas, entre otros. Dando así un resultado factible para el campo de la producción, teniendo en cuenta los resultados positivos de la investigación actual.

8. RECOMENDACIONES

Continuar realizando protocolos de multiovulación en llamas y recuperación de embriones mediante el lavado uterino para mejorar e identificar un protocolo de multiovulación que produzca un número aceptable de embriones de alta calidad con un riesgo reducido.

Se recomienda utilizar procedimiento multiovulatorio que no ocasione problemas reproductivos en la formación de quistes foliculares, donde pueden tener un impacto negativo en la conservación del tejido ovárico.

Se considera importante realizar pruebas del experimento con un mayor número de llamas, donde esto genere mayores resultados en la producción de embriones de buena calidad.

9. BIBLIOGRAFIA

- ABS. (2006). *Management Manual. Fifth Edition*. Wisconsin, USA: Volumen 2.
- Adams., G., & Ginther, J. (1990). *Effects of lactational status and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (Lama glama)*. *Reprod. Fert* 90: 535-45.
- Adams., G., Sumar., J., & Ginther, O. (1991). *Form and function of the corpus luteum in llamas*. (Vol. Anim Reprod Sci).
- Alvarez, J. R., & Medellin, R. (2005). *Lama glama. Vertebrados superiores exóticos en México*. Universidad Nacional Autonoma de Mexico: SNIBCONABIO.
- Ancalle, D. (s.f.). *"Administracion de Costos"*.
- Boga Baruselli, & Moreno, D. (2002). *The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle*. *Theriogenology* 57: 53-72.
- Bourke, D., Kyle, A., & p, Y. (1992). *Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas*. Netherlands: Proceeding 12th International Congress on Animal Reproduction pp 193-5.
- Bravo., Flores., J., Garnica., C., & Ordoñez. (1996). *Archivos de Medicina Veterinaria Recolección de semen e inseminación artificial de alpacas*. Chile: 42.
- Campbell BK, G. M. (1990). *The pattern of ovarian inhibin, estradiol and androstenedione secretion during the estrous cycle in the ewe*. *Endocrinology* 225-245.
- Campbell., B., Telfer., E., & Webb, R. (2004). *Evidence of a role for follicle-stimulating hormone in controlling the rate of preantral follicle development in sheep*. *Endocrinology* 127, 227-235.
- Censo. (2016). *agropecuario, publicado en julio*.
- Choque, E. (2006). *Parámetros zoológicos en llamas de Ferias regionales del Departamento de Oruro*. Universidad Tecnica de Oruro. 2-13p.
- Correa., E., & Gatica, R. (1994). *Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Veterinarias, Archivos de medicina Veterinaria*. Valdivia Chile: Pag. 59-63.

- Del Campo, Campo., D., & Adams, G. (1995). *The application of new reproductive technologies to south American camelids*. Theriogenology 43: 21-30.
- Del Campo, Donoso., M., & Mapletoft. (1994). *In vitro fertilization and development of llama (lama glama) oocytes using epididymal spermatozoa and oviductal cell-culture*. theriogenology 41, 1219-1229.
- Delgado., M., & Illan, S. (2017). *Endocrinología en el ganado ovino de leche (1ed.)*. España: Universidad de castilla- La Mancha.
- Deyo., C., Colazo., M., & Martinez, M. (2001). *The use of GnRH or LH to synchronize follicular wave emergence for superstimulation in cattle*. Theriogenology 55:513.
- Elguera., L. (2015). *“Evaluación de tres protocolos de superovulación en alpacas para la obtencion de embriones, provincia de caylloma, arequipa*.
- Endocrin., J., & foote, W. (1969). *Ovulation and corpus luteum formatium in the llama (Lama glama)*. 45:505-513.
- Estado poblacional de la vicuña. (2009). *Ministerio de Medio Ambiente y Agua. Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal. Gráficas SIRENA*. Santa Cruz-Bolivia.
- FAO. (1996). *Manual de prácticas de manejo de Alpacas y Llamas*. ISBN pag. 9-14, 30-34, 42-47.
- Fernandez-Baca S, Hansel., W., Saatman., R., Sumar., J., & Novoa. (1979). *Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca*. Biol Reprod. 20: 586-595.
- Fernandez-Baca., Madden., D., & Novoa, C. (1971). *Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca*. Reprod Fert 22: 261-267.
- FIA, & innovacion agraria. (2000). *Camélidos en Chile. Situación actual y perspectivas*. Ministerio de Agricultura. Santiago-Chile: Pp 138.
- Flores, J. (1977). *Pastores de alpacas de los Andes*. En: Flores JA. *Compilador, Pastores de la Puna*. Lima: Pp 15-52.

- Forcada., F., Casao., A., & Abecia, J. (2009). *Produccion In Vivo de Embriones Ovinos: Implicaciones DE I+D*. Argentina: Produccion Animal 2.
- Fortune., J., Sirois., J., Turzillo., A., & Lavoit, M. (1991). *Follicle selection in domestic ruminants*. *Reprod. Fert* 43, 187-198.
- Gamarra G, & Huaman, E. (2008). *primeros embriones in vitro de alpaca obtenidos por maduracion (MIV), Fertilizacion (FIV) y cultivo in vitro provenientes de ovarios del camal XXXI Reunion científica Anual de la Asociacion peruana de Produccion animal*.
- Garcia., W., Pezo., D., Marin., F. S., & Olazabal, J. (2005). *Manual del Técnico Alpaquero*. Lima 2005: ISBN Pp 9-30.
- Germana., C., Chaquilla., O., Santos., G., & Ferrari. (2016). *Estudio socio-económico de los pastores andinos de Perú, Ecuador, Bolivia y Argentina*. Abancay. Tipografia EL ALVA SRL. 540 P.
- Giuliano S, Trasorras, & Miragaya, M. (s.f.). *Memorias del II Simposium internacional de investigaciones sobre camélidos sudamericanos*. Arequipa Peru.
- Gonzalez A, Bird., D., Cocero., M., Garcia-Garcia., R., Inskeep EK, A, L.-S., & J, S.-M. (2004). *Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats*. *Reproduction, Fertility and Development* Pp 421-435.
- Hafez., & Hafez, B. (2002). *Llamas y alpacas. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana*. Mexico: S.A. de C.V. 519, 224-42.
- Hernandez Sampieri Roberto. (1996). *."Metodologia de la investigacion"* Ed. Mcgraw-Hill. Colombia: Pp 200.
- Huanca, A, C., T, H., & Gregg. (2007). *Bioteconologías reproductivas en Camélidos sudamericanos domésticos: avances y perspectivas* . Cusco-Peru: Pag. 197-198.
- Huanca, T. (2020). *Recuperacion de embriones en hembras alpacas y llamas con ovulacion unica o multiple*. INTAPuno- Peru.

- Huanca., W., Ratto, Cordero, A., & Adams, O. (2006). *Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. Resumen del V Congreso Mundial de Camélidos*. Catamarca-Argentina.
- INE-MDRyT. (2017). *Estudio del proyecto de seguro pecuario colectivo para ganado camelido*.
- Jacome, G. (2015). "Evaluación de dos protocolos de superovulación con eCG en alpacas (*Vicugna pacos*)".
- Kadwell, M., Fernández, M., Stanley, H., Baldi, R., & Wheeldio. (2001). Genetic analysis reveals the wild ancestors of llama and alpaca. *Genetic analysis Proceeding of the Royal Society London B.*, 268, 2575-2584.
- Kilgour RJ, Pisselet., C., Dubois., M., & Courot, M. (1998). *KilgRam lambs need FSH for normal testicular growth, Sertoli cell numbers and onset of spermatogenesis*. Kilgour RJ, C Pisselet, MP Dubois, M Courot. 1998. Ram lambs need FSH *Reprod Nutr Dev* 38, 539- 550.
- Kraus S, Naor., Z., & Seger, R. (2001). *Kraus Intracelullar signaling pathways mediated by the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor*. *Arch Med Res* 32, 499-509.
- Leyva., V., & García, W. (1999b). *Efecto de la prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. II Congreso Mundial sobre Camélidos*. Cusco-Perú: pp 88.
- Lundy T, Smith., P., & O`Connell. (1999). *Populations of granulose cells in small follicles of the sheep ovary*. *J Reprod Fert*, 115:251-262.
- Macmillan K.L, & Thatcher, W. (1991). *Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle*. *Biol Reprod*, 45:883-889.
- Mamani, F. (2012). Estación Experimental Choquenaira. Facultad de Agronomía – UMSA. *Revista en imágenes*, La Paz, Bolivia. 32 p.
- Martinez M.F: Adams G.P, B. D. (1999). *Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers*. *Anim Reprod Sci*, 57:23-33.

- Mendoza, J., & Molina, R. &. (2013). *Experiencias preliminares de gestación en alpacas y llamas con tranferencias de embriones de alpacas producidos in vitro. XXXVI Reunion científica Anual de la Asociacion. 188-188.*
- Moreno, J. (2002). *Transferencia de embriones en bovinos. Texas, EUA. 97p.*
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, & McIntush. (2000). *Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. Physiol Rev. 80: 1-29.*
- Novoa, C. (1999). *Colección de huevos in vivo y ensayo de transferencia en alpaca. En: Boletín Extraordinario IVITA. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. p: 31-34.*
- Ortiz, S. (2011). *Evaluación de algunos métodos de control de la mortalidad en crías de alpaca (Lama pacos) en explotaciones familiares. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Pg.58.*
- Pachecho., J., Velez., V., & Garcia, W. (2020). *“Evaluacion de un nuevo protocolo de superovulacion en llamas: respuesta ovárica y recuperación embrionaria” Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Cusco-Peru.*
- Paolicchi F, Urquieta B, Del Valle L, & Bustos-Obregón. (1999). *Biological activity of the seminal plasma of alpacas: stimulus for the production of LH by pituitary cells. Anim Reprod Sci. 54: 203-210.*
- Peña, J. (2010). *Transferencia de embriones y biotecnología de la reproduccion en la especie camelida. Buenos aires.*
- Pozo, A. (2020). *Respuesta superovulatoria y embrionaria en alpacas estimuladas con gonadotropina corionica equina segun el numero de foliculos emergentes por onda folicular . Universidad nacional de San Marcos. Lima-Peru.*
- Pursley J.R, Mee M.O, & Wiltbank M.C. (1995). *Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 α and GnRH. Theriogenology, 44:915-923.*

- Raggi, & S. (1993). *“Características fisiológicas y productivas de los camélidos sudamericanos domésticos”*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, *Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos*. Chile.
- Rajesh, S. (2007). *Regulation of follicular wave pattern in cattle*. Thesis PhD. University of Saskatchewan, Saskatoon SK. Canada: 169 pp.
- Rodríguez, T. (2002). *Sistema Nacional de Manejo, Conservación, Utilización y Evaluación de Recursos Genéticos de Bolivia para la Agricultura y la Alimentación (SINARGEAA), Subsistema Camélidos*. La Paz, Bolivia: Pp. 1 – 25.
- Rodríguez, T. (2003). *Evaluación del Crecimiento y Cambios de Dimensiones Corporales de Llama (Lama glama) y Cruzas de Camélidos (Huarizo), Desde el Nacimiento hasta la Madurez, en Los Andes de Bolivia*. III Congreso Mundial Sobre Camélidos. pp.24.
- Rondines, G. (2006). *“Programa de mejoramiento genético de alpacas y llamas de la región Ayacucho” INIA*.
- Rossi, C. (2000). *Zoe Tecno-campo, camélidos Sudamericanos, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Buenos Aires-Argentina*. Disponible en: http://www.zotecnocampo.com/Documentos/camelidos_rossi.htm. 7 páginas.
- Ruiz, J. (2013). *VIII Congreso Latinoamericano de Especialistas En Pequeños Rumiantes y Camelidos Sudamericanos. Situacion actual de la producción de camélidos sudamericanos en latinoamerica*. Pp. 88-95.
- San-Martin, Copaira M, Zúñiga J, Rodríguez., R., G., B., & Acosta. (1968). *Aspects of reproduction in the alpaca*. *Reprod Fert*. 16: 395-399.
- Senger, P. (1997). *Embryogenesis of the pituitary gland and male or female reproductive system*. In: *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conception Inc., 1:8-76.
- Sepulveda, N. (2011). *Manual para el manejo de camélidos sudamericanos domésticos*. Chile Abril del 2011 ISBN : N° 978-956-328-089-0 PAG 18.

- Silva M, Nino A, Guerra M, Letelier C, V., & MH, R. (2011). *Is an ovulation-inducing factor (OIF) present in the seminal plasma of rabbits?* Anim. Reprod. Sci. 127: 213-221.
- SIRENA. (2010). *Estado poblacional de la vicuña en Bolivia 2010. Ministerio de Medio Ambiente y Agua. Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal. Santa Cruz- Bolivia.*
- Situación Actual de los Camélidos Sudamericanos en Bolivia. Junio, 2005. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina. TCP/RLA/2914. (2005). Organización de las Naciones Unidas.*
- Stemmer, A., & Valle-Zarate, A. (2015). *La llama de Ayopaya: un recurso zoogenético originario de Bolivia. Desafíos para su conservación. Programa Rumiantes Menores UMSS. revista Quehacer Científico en Chiapas 11 (1):12.*
- Stevenson, J. (1994). *Update of reproductive endocrine function in the bovine female. Proc. Society for Theriogenology Annual Meeting, Kansas City, Missouri, 38-49.*
- Sumar J, & Bravo, W. (1991). *In situ observation of the ovarian of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. Anim Vet Med Assoc. 199. 1159-1163.*
- Sumar., & Franco, E. (1974). *Ensayos de Transferencia de Embriones en Camélidos Sudamericanos. Lima- Peru: IN: Informe Final (IVITA) UNMSM.*
- Taylor P, Taylor R, & James. (2001). *alpaca offspring born after cross species embryo transfer to Llama recipients. Theriogenology 55 (1): 401.*
- Teodosio., H. (2010). *Manual del alpaquero. Peru.*
- Tibary, A. (2001b). *Fertilization, embryo and fetal development in camelids. Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology. Vancouver, BC, Canada, pp 387-96.*
- Tondello, L., Dos Santos, P., Gaudêncio, S., & al, e. (2010). *Microbiological and functional evaluation of an alternative device (OB®) for estrous synchronization in ewes. Ciencia Rural, v.49, p.389-395.*

- Trasorras, V., Chaves, M. M., & Rutter, B. F. (2009). *Effect of eCG superstimulation and buserelin in cumulus–oocyte complexes recovery and maturation in llamas (Lama glama)*. *Reprod. Domest. Anim.* 44 (3), 359-64.
- Urquieta, B. (1993). *“Estrategias reproductivas de los camélidos sudamericanos en el altiplano”*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, *Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos*. Chile.
- Uyena, N., & Stelletta, C. (2012). *Seminal plasma: An essential attribute to spermatozoa*. *Journal of Andrology*. 33(4): 536-551.
- Vargas, T. (2005). *“Situación actual de los camélidos sudamericanos en Bolivia” Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina*.
- Vargas, T. (2005a). *“Situación actual de los camélidos sudamericanos en Bolivia” Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina*.
- Vaughan J, & Mihm M, W. T. (2013). *Factors influencing embryo transfer success in alpacas A retrospective study*. *Anim Reprod Sci* 136: 194-204. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.010.
- Vaughan, J. (2011). *Ovarian function in South American camelids (alpacas, llamas, vicunas, guanacos)*. *Ani. Reprod. Sci.* 124:237-43.
- Vaughan, J., Macmillan, K., & D’Occhio, M. (2004). *Ovarian follicular wave characteristics in alpacas*. *Ani. Reprod. Sci.* 80 (3-4): 353-61.
- Vaughan, J., Mihm, M., & Wittek. (2013). *Factors influencing embryo transfer success in alpacas – a retrospective study*. *Anim. Reprod. Sci.*; 136(3):194-204.
- Vivanco Mackie Henry William, D., Ponce, M., & Asparrin, M. M. (2014). *Identificación de alpacas genéticamente mejoradas con mayor capacidad de reproducir características de fibra fina mediante el desarrollo de evaluaciones genéticas cruzadas y técnicas reproductivas*. Informe final Proyecto.

VonBaer, L. (2002). *Manual de Manejo Reproductivo y Genético de Llamas y Alpacas*. Temuco, Chile.

Zambrana, J. d., & Arteaga, J. (2010). *Enciclopedia Bolivia Agropecuaria. Tomos I y II*. la Paz: Bolivia agraria.

ANEXOS

Anexo 1. Desparasitación con baño antisarnico para la prevención de enfermedades parasitarias y vitaminización

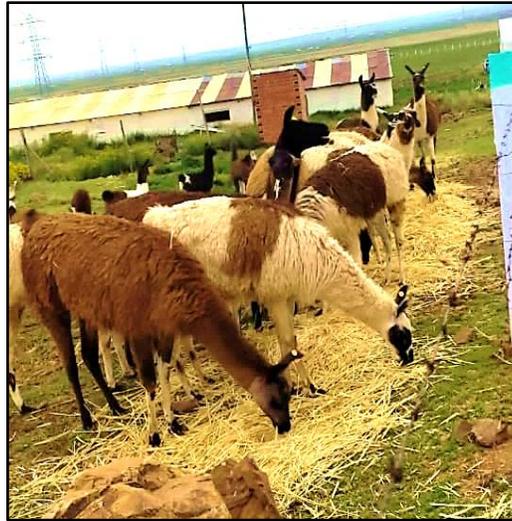


Fuente. Reporte fotográfico (2023).



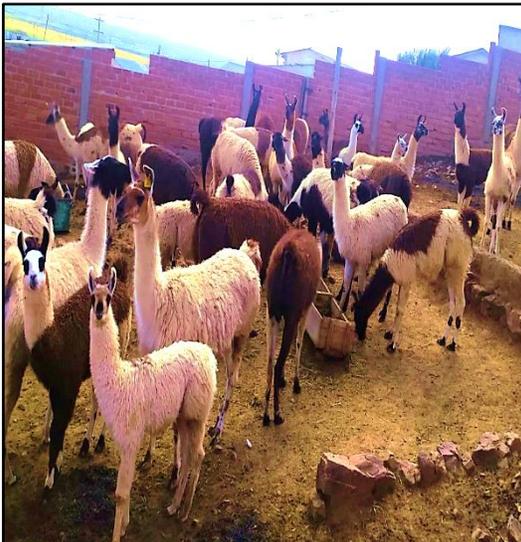
Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 2. Suplementación de alimento concentrado (ensilaje y heno) para cubrir el requerimiento nutricional de las llamas



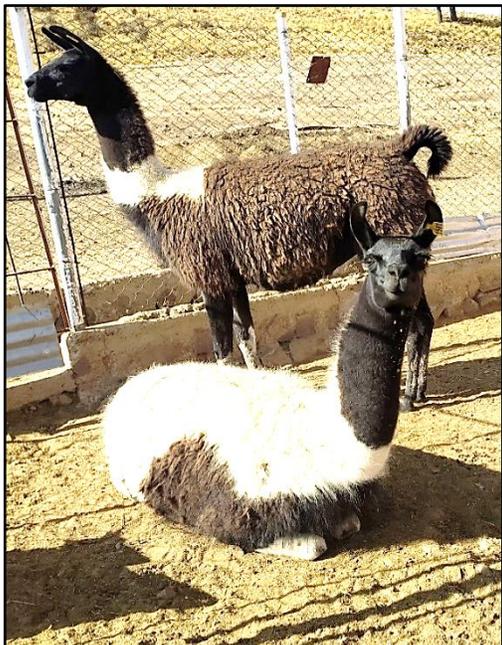
Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 3. Selección de donadoras cumpliendo ciertos requisitos



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 4. Prueba de empadre para su verificación de su receptibilidad



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 5. Aplicación de GnRH



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 6. Preparación y aplicación de eCG (Gonadotropina Carionica equina)



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 7. Administración de prostaglandina



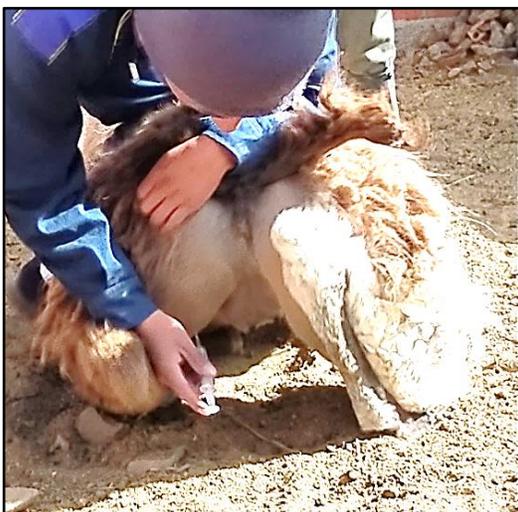
Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 8. Empadre controlado



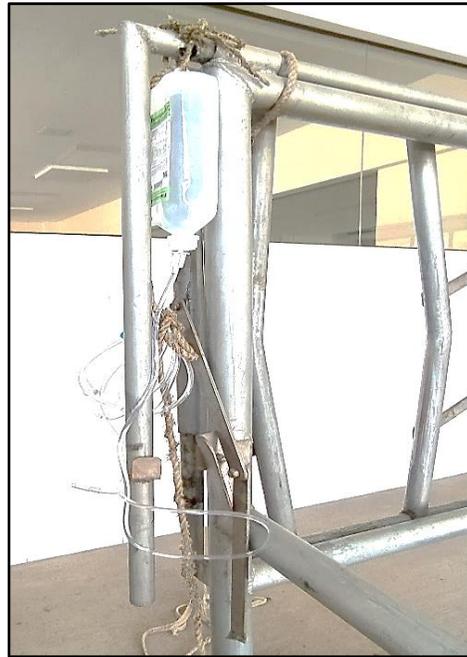
Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 9. Aplicación de GnRH después de la monta



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 10. Preparación de materiales para el lavado de embriones



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 11. Nudos de amarre y Sujeción de la Llama (parado – postrado), limita los actos o movimientos defensivos de la llama



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 12. Aplicación de lidocaína al 2 %



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 13. Palpación de embriones vía rectal



Fuente. Reporte fotográfico (2023).



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 14. Colecta de embriones mediante la sonda Folley



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 15. Embriones colectados en cajas Petri con número de arete de la hembra



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 16. Obtención de embriones en cada caja Petri



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 17. Evaluación morfológica de embriones.



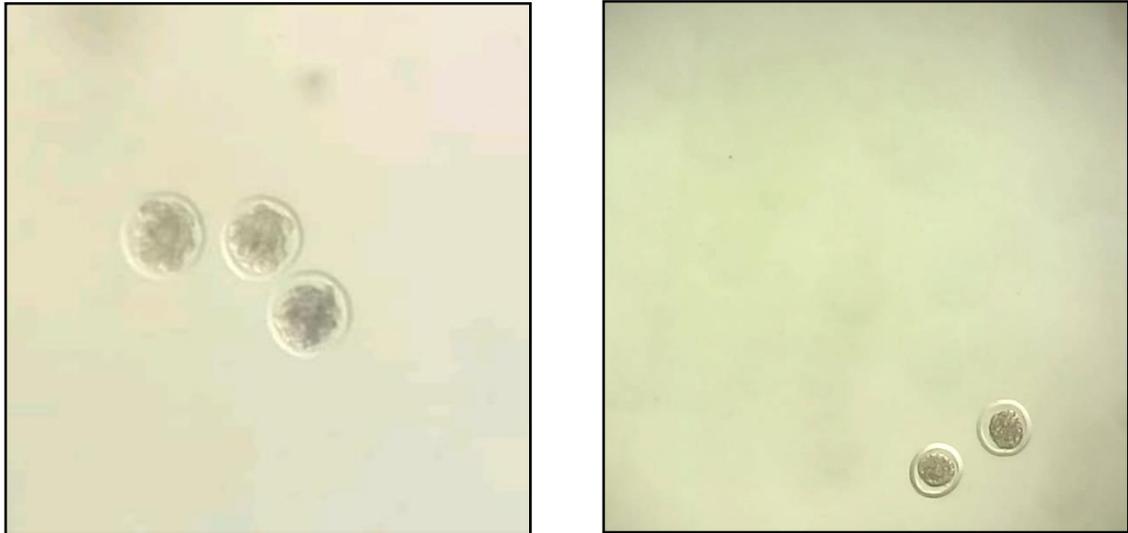
Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 18. Observación bajo microscopio



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 19. Embriones de grado 2 (bueno)



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 20. Conformación del equipo



Fuente. Reporte fotográfico (2023).



Fuente. Reporte fotográfico (2023).

Anexo 21. Protocolo de investigación

DIAS				
0	2	6	7	14
Aplicación de GnRH	Aplicación de eCG (Protocolo A 1000 UI) (Protocolo B 700 UI)	Aplicación de Prostaglandina (PF2α)	Empadre (mañana o tarde) Aplicación de GnRH	Lavado de Embriones Aplicación de PF2α

Fuente. Protocolo modificado de (Jacome, 2015).

Anexo 22. Prueba de receptibilidad protocolo A

<i>Número</i>	<i>Número de arete</i>	<i>Prueba de Empadre</i>	<i>Hora de Aplicación (GnRH, eCG, PF2&.)</i>
1	249	Receptiva	8:00 a.m.
2	83	Receptiva	8:05 a.m.
3	1603	Receptiva	8:10 a.m.
4	1565	Receptiva	8:15 a.m.

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 23. Prueba de receptibilidad protocolo B

<i>Número</i>	<i>Número de arete</i>	<i>Prueba de Empadre</i>	<i>Hora de Aplicación (GnRH, eCG, PF2&.)</i>
1	249	Receptiva	8:45 a.m.
2	83	Receptiva	8:50 a.m.
3	1581	Receptiva	8:55 a.m.
4	1565	Receptiva	9:00 a.m.

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 24. Tabla Numero de cuerpos lúteos a efecto de dos dosis de eCG

Tratamiento 1	Cuerpos lúteos	tratamiento 2	Cuerpos lúteos
1000 UI (eCG)	3	700 UI (eCG)	2
1001 UI (eCG)	2	700 UI (eCG)	1
1002 UI (eCG)	5	700 UI (eCG)	3
1003 UI (eCG)	2	700 UI (eCG)	2

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 25. Tabla Numero de cuerpos lúteos de T1 y T2 en llamas

tratamiento	N	Promedio Cuerpos lúteos	desviación estándar	P
T1 1000 UI eCG	4	3	1,25	0,095
T2 700 UI eCG	4	2	0,91	

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 26. Tabla Número de embriones de T1 y T2 en llamas

tratamiento	N	Promedio embriones	desviación estándar	P
T1 1000 UI eCG	6	1,5	1	0,541
T2 700 UI eCG	4	1,666	0,666	

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 27. Tabla Clasificación de embriones obtenidos protocolo “A”

<i>CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA</i>				
Duración de protocolo 14 días				
N° de Arete	N° Embrión	Estadio	Grado	Clasificación
	1	Mórula	Grado 2	Buena
249	2	Blastocito	Grado 2	Buena
83	1	Mórula	Grado 3	Regular
	1	Mórula	Grado 4	Malo
1603	2	Blastocito	Grado 2	Regular
	3	Mórula	Grado 2	Buena
1565	0	-	-	-
Total N° de embriones encontrados				6

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 28. Tabla Clasificación de embriones obtenidos protocolo “B”

<i>CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA</i>				
Duración de protocolo 14 días				
N° de Arete	N° Embrión	Estadio	Grado	Clasificación
249	1	Mórula	Grado 3	Regular
83	0	-	-	-
1581	1	Mórula	Grado 2	Buena
	2	Blastocito	Grado 2	Buena
1565	1	Mórula	Grado 2	Buena
Total N° de embriones encontrados				4

Fuente. Elaboración propia (2023).

Anexo 29. Tabla de costo de cada tratamiento multiovulatorio

M.P.	M.O.D.	C.I.	C.P.	C.P.U.
Hormonas (eCG)	Lavado de Embriones	Medicamentos	Total	Total por cada CSA
1700 Bs.	120 Bs.	80 Bs.	1900 Bs.	475 Bs.

Fuente. Elaboración propia con base a la fórmula de Ancalle.

Anexo 30. Tabla de costo de materiales para la multiovulación en llamas

COSTO DE LA INVESTIGACIÓN

N°	Insumos	Cantidad	Unidad	Precio/Unitario (Bs)	Total (Bs)
1	Caja de eCG	1	Caja	450	450
2	Prostaglandina	1	Caja	120	170
3	GnRH	1	Caja	150	150
4	Lidocaina al 2 %	1	Frasco	30	60
5	Sonda FOLLEY	3	Pieza	40	120
6	Jeringa de 50 ml	15	Pieza	4	60
7	Jeringa de 5ml y 10ml	30	Pieza	1.5	45
8	Suero Fisiologico	3	Litros	40	120
9	Filtro EMCOM	1	Pieza	370	370
10	Pentagal Reforzado	1	Caja	45	45
11	Aguja N°16	5	Pieza	2	10
12	Hoja de Bisturí	1	Caja	15	15
13	Alcohol 72%	1	Litros	40	40
14	Guantes de Látex	1	Caja	45	45
TOTAL BS.					1700

Fuente. Elaboración propia (2023).