

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANCRISTOBAL DE HUAMANGA

ESCUELA DE POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



**EVALUACIÓN DE DOS DOSIS DE eCG EN LLAMAS PARA LA
OBTENCIÓN DE EMBRIONES, AYACUCHO – 2018**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS,
MENCIÓN EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTADO POR:

Bach. Lily Luz Huamán Najarro

ASESOR:

Dr. Cesar Augusto Olaguivel Flores

**AYACUCHO – PERÚ
2022**

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLA.....	1
ÍNDICE DE GRÁFICOS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	3
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTO.....	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
CAPÍTULO I.....	8
1.1. INTRODUCCIÓN	8
Objetivo general:	11
Objetivos específicos:	11
CAPÍTULO II.	12
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
2.1. ANTECEDENTES.....	12
2.2. Importancia de los Camélidos Sudamericanos	16
2.3. La llama.....	16
2.4. Aparato reproductor de la hembra	17
2.5. Comportamiento reproductivo de camélidos.....	20
2.6. Dinámica folicular.....	21
2.7. Desarrollo folicular y ovulación.....	24
2.8. Superovulación.....	25
2.8.1. Problemas de superovulación en camélidos:	28
2.8.2. Gonadotropina coriónica equina (eCG).....	28
2.9. Embriones	30
2.9.1. Desarrollo embrionario.....	30
2.9.2. Morfología embrionaria	31
2.9.3. Recolección de embriones.....	31
2.9.4. Evaluación de embriones	32
CAPÍTULO III.....	34
3. METODOLOGÍA	34

3.1. Ubicación	34
3.2. Materiales y Equipos	34
3.3. Técnicas de procedimiento y análisis de datos	35
3.4. Recolección y evaluación de embriones.....	37
3.5. Diseño Estadístico.....	39
CAPÍTULO IV.....	41
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
V. CONCLUSIONES.....	48
VI. RECOMENDACIONES	49
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ANEXO 1. Panel fotográfico	57
ANEXO N° 2. Registro de condición corporal de llamas	¡Error! Marcador no definido. 63
ANEXO N° 3. Registro ecográfico de las donadoras.....	64
ANEXO N° 4. Resultados estadísticos de la evaluación de dos dosis de eCG en llamas	65

ÍNDICE DE TABLA

	Pág.
Tabla N° 1. Tiempo de pasaje del embrión... ..	31
Tabla N° 2. Clasificación del grado de embriones.....	33
Tabla N° 3. N° de embriones obtenidos por superovulación.....	41
Tabla N° 4. Calidad de embriones.....	44
Tabla N° 5. Número de embriones recuperados.....	65
Tabla N° 6. Calidad de embriones recuperados por tabulación cruzada.....	67
Tabla N° 7. Prueba de chi cuadrada.....	67
Tabla N° 8. Prueba de varianza.....	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico N° 1. Distribución de número de embriones recuperados.....	66
Gráfico N° 2. Comparación entre tratamientos.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura N° 1. Protocolo de súper ovulación en llamas donadoras de embriones.....36

DEDICATORIA

En primer lugar a mi Dios Elohim por la dicha de haberlos conocido y la oportunidad que me dio; mi gratitud infinita.

Mi gratitud para mis padres José y Carmen por todos los Valores, la paciencia, el amor y la comprensión que me brindaron siempre.

A mi amado hijo José Manuel Patrick por ser mi estímulo, mis ganas para seguir adelante.

A mis hermanos Nelly, Mariela y José porque siempre estuvieron cuando más los necesite por incentivar me a seguir adelante, por ser el motivo de mi alegría y felicidad.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela de Pos grado de la Facultad de Ciencias Agrarias y la plana de docentes por brindarme sus conocimientos y experiencias que contribuyeron en mi formación profesional.

Al Dr. César Augusto Olaguivel Flores, por asesorarme, por las enseñanzas y el apoyo incondicional que me brindo hasta la culminación del presente trabajo de investigación.

Mi gratitud para mis amigos y familiares por contribuir en el proceso de desarrollo del trabajo de investigación.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio, fue evaluar dos dosis de eCG para la obtención de embriones en Llamas (*Lama glama*), sometidas a un tratamiento de superestimulación ovárica; el cual se realizó en el Centro Experimental Pampa del Arco de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, para ello se utilizaron 8 llamas hembras adultas mayores a 4 años de edad, las cuales fueron sometidas a una alimentación de forraje verde (alfalfa y avena); heno y concentrado comercial. La condición corporal de las donadoras de embriones fue de 2.5 a 3.0, así mismo se realizó una evaluación gineco-obstétrica mediante ultrasonografía. Los tratamientos hormonales se aplicaron cuando se encontraron folículos mayores o iguales a 7 mm. La aplicación de la hormona eCG fue 72 horas después de la inducción de la ovulación del folículo dominante con GnRH, el día 7 se aplicó PGF₂α y 24 horas después se realizó la monta natural con los reproductores, así mismo se aplicó 1ml de la hormona GnRH a las donadoras, el día 15 se realizó la colección y evaluación de embriones. Los resultados obtenidos fueron: promedio de embriones recuperados 4.67±0.81 y 3.50±0.54 embriones para los T1 y T2 respectivamente, existiendo diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$) y la calidad embrionaria obtenida fue de 35.7% y 38.1% (Excelente), 28.6% y 33.3% (Buena), 10.7% y 9.5% (Regular), 10.7% y 0% (Mala) y 14.3% y 19.0% (intransferible) de embriones para los T1 y T2 respectivamente, no existiendo diferencia estadística entre tratamientos. Se concluye, que el uso de 800 Unidades Internacionales y de 1000 Unidades Internacionales de eCG en una alternativa para la obtención de embriones, tanto en calidad como en número de embriones.

Palabras clave: Llamas, embriones y eCG

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate different doses of eCG to obtain embryos in Llamas (*Lama glama*) subjected to an ovarian superstimulation treatment; which was carried out at the Pampa del Arco Experimental Center of the Professional School of Veterinary Medicine of the Faculty of Agrarian Sciences - National University of San Cristóbal de Huamanga, for this purpose 08 adult female llamas over 4 years of age were used, which they were subjected to a feeding of green forage (alfalfa and oats); hay and commercial concentrate. The body condition of the embryo donors was from 2.5 to 3.0, as well as a gynecological-obstetric evaluation by ultrasonography. The hormonal treatments were applied when the animals had follicles greater than or equal to 7 mm. The application of the eCG hormone was 72 hours after the induction of ovulation of the dominant follicle with GnRH, on day 7 PGF 2α was applied and 24 hours later the natural mounting was carried out with the reproducers, likewise 1 ml of the GnRH hormone was applied to the donors, on day 15 the collection and evaluation of embryos was carried out. The results obtained were: average of recovered embryos 4.67 \pm 0.81 and 3.50 \pm 0.54 embryos for T1 and T2 respectively, with a statistically significant difference ($P \leq 0.05$) and the embryo quality obtained was 35.7% and 38.1% (Excellent), 28.6% and 33.3% (Good), 10.7% and 9.5% (Regular), 10.7% and 0% (Bad) and 14.3% and 19.0% (non-transferable) of embryos for T1 and T2 respectively, there being no statistical difference between treatments. It is concluded that the use of 800 IU and 1000 IU of eCG is an alternative for obtaining embryos in Llamas, both in quality and in number of embryos.

Keywords: Llamas, embryos and eCG

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos como las llamas son animales muy fuertes, que fueron domesticados por los antiguos pobladores de los andes; de los cuales sobresalen su carne, fibra y cueros, existen dos variedades la pelada o k' ara y la lanuda o chaku. La mayor parte de llamas en el Perú son criados en rebaños pequeños y heterogéneos, los cuales son de diferentes colores (CONACS, 2004).

La crianza de llamas, es la actividad más significativa para el sustento económico de los productores de las comunidades alto andinas de nuestro país, en el cual no se puede dar la crianza de otros animales domésticos ni la agricultura, estos animales se adaptan con facilidad a las zonas altas del ande, a más de los 4200 msnm donde son utilizados para la alimentación por su contenido alto en proteína y bajo en colesterol; las llamas muchas veces son utilizados como medio de transporte, los otros camélidos proveen ingresos a los productores por la venta de fibra (Huanca, 2007).

Los descendientes obtenidos por lo general se dan por cruzamientos aleatorios, por lo tanto solo unos cuantos son óptimas para ser seleccionados; esto contribuye a la progresiva desaparición de animales con características fenotípicas ideales, por este motivo se debería diseñar un plan que contribuya al mejoramiento genético como una herramienta útil para la difusión de genes deseables, esto conllevaría a aumentar los ingresos económicos de los pobladores alto andinos (Huanca, 2007).

La crianza de camélidos tiene muchas limitantes los cuales son: bajos índices reproductivos, la tasa de gestación baja, elevada mortalidad embrionaria el cual

se da los primeros 35 días de preñez; tiempo de gestación muy prolongado (345 ± 3 días); por efecto del manejo, son animales estacionales; las primerizas recién alcanzan su primer parto a los 3 años y que solo el 50% de las hembras que inician a reproducirse dan una cría por año, existen índices altos de mortalidad neonatal; el cual se encuentra fluctuando en un 12 a 35% (Huanca, 2007; Palomino, 2000; Sumar, 2000).

Las llamas producen menos de 6 crías durante toda su vida. Por ello un aspecto importante es el mejoramiento genético (Ministerio de agricultura, 2004).

Estudios realizados en camélidos sudamericanos por superestimulación ovárica con la aplicación única de eCG y transferencia de embriones son escasos; en las llamas se pueden apreciar resultados muy variables e inconsistentes. Por este motivo se han utilizados diferentes hormonas para estimular el crecimiento folicular tales como eCG, FSH y las hormonas hCG y GnRH se han empleado para inducir a la ovulación múltiple; después de ello se realiza la monta natural (Bravo *et al.* 1990).

Por ello la superovulación y la recuperación de embriones es una alternativa para ser utilizada en el mejoramiento genético de una manera más rápida, de igual forma la transferencia de embriones y la congelación de embriones (Inía, 2006).

En los ovarios de los camélidos sudamericanos se observan una gran cantidad de folículos los cuales se encuentra en diferentes estadios “(primordiales, en crecimiento, maduros y atrésicos)” de ellos, en toda la vida reproductiva se usara una pequeña cantidad de estos (Velásquez y Novoa, 1999).

Para dar solución a estas limitantes se puede usar la biotecnología reproductiva

como “técnicas de ovulación múltiple (OM), transferencia de embriones (TE)” el cual conllevaría a que una hembra seleccionada pueda tener en el futuro numerosas crías (Velásquez y Novoa, 1999).

Por todos los considerandos y como una alternativa de solución a estos inconvenientes en esta especie se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Evaluar dos dosis de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) para la obtención de embriones en llamas (*Lama glama*) Ayacucho 2018.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de dos dosis de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en el número de embriones recuperados en llamas (*Lama glama*).
- Determinar el efecto de dos dosis de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en la calidad de embriones recuperados en llamas (*Lama glama*).

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. ANTECEDENTES

Pacheco et al., (2020), “reportó un trabajo que tuvo como objetivo evaluar el efecto de dos dosis de eCG sobre la respuesta superovulatoria, tasa de recuperación embrionaria y alteraciones reproductivas inducidas. En este trabajo de investigación se usaron 32 llamas adultas, clínicamente sanas, distribuidas en dos grupos: Grupo I (700 UI eCG; n=15) y Grupo II (500 UI eCG; n=21). El protocolo de superovulación incluyó: día 1, inducción de ovulación (GnRH); día 4, aplicación eCG, según dosis establecida para cada grupo; día 8, aplicación de luteolítico (PGF2 α); día 11, ecografía para verificar el número de folículos y aplicación de análogo de GnRH; días 11 y 12, monta natural para inducir ovulación; día 19, lavado uterino y recuperación de embriones (se consideró como torsión cervical cuando se dificultó el paso de la sonda Foley hacia el útero); día 26: evaluación ecográfica para determinar la presencia de alteraciones reproductivas. El número de folículos por hembra para los grupos I y II fue de 4.9 y 3.7, respectivamente. El número de embriones colectados fue de 1.6 y 2.6 por hembra en los grupos I y II, respectivamente, lo cual indicaría la existencia de posibles fallas ovulatorias o luteinizaciones tempranas en el grupo I. La frecuencia de quistes foliculares y cuerpos lúteos persistentes fue superior en el grupo I respecto al grupo II, mientras que la frecuencia de metritis y torsiones

Cervicales fueron similares en ambos grupos. Se concluye que la dosis de 500 UI de eCG permite obtener una menor cantidad de folículos, pero un mayor número de embriones y menor frecuencia de problemas reproductivos en el post-tratamiento”.

Apaza, et al., (2017), “realizó un estudio para evaluar la recuperación repetida de embriones en llamas y alpacas, las donadoras fueron 6 alpacas Huacaya y 7 Suri, y como receptoras alpacas y llamas: (20 alpacas Huacaya, 20 alpacas Suri, 20 llamas Chaku y 20 llamas K'ara). Se realizó la sincronización de la onda folicular el día cero con la administración de GnRH (1.5 ml) tanto a las donadoras como también a las receptoras, se les administró prostaglandina el día9 (0.25 mg en alpacas y 0.38 mg en llamas), se empadraron a las donadoras el día 11 y el día 8 post-copula se realizó el lavado uterino, para ello se tranquiliza, limpia y desinfecta la región perianal, se extrajo las heces, para guiar mejor el catéter de transferencia, tras ubicar la cervix; se realizó el lavado uterino con el medio y colectando el embrión en el filtro; tras concluido el lavado uterino a las donadoras se les administró prostaglandina (0.25 mg) para la inducción a la luteólisis y de esa manera reiniciar una nueva onda folicular; se realizaron 10 lavados uterinos con un intervalo de 10 días entre lavados. A las receptoras se les volvió a aplicar GnRH (1.5 ml) en el día 11, quedando ya preparadas para la transferencia del embrión. Se recuperaron un total de 46 embriones en donadoras de alpaca Huacaya, 33 en alpaca Suri. La recuperación de embriones en alpaca Huacaya fue de 88.68% y en alpaca Suri 80%”.

Correa. et al., (1997), “refiere un estudio de investigación con el propósito de evaluar la eficacia de gonadotropina coriónica equina (eCG) para inducir la superovulación en llamas. Dieciséis llamas adultas con un peso promedio de 130 kg (rango 110-140) y que habían estado mostrando signos de celo durante 5 días fueron asignadas aleatoriamente a tres grupos de tratamiento y un grupo de control (n = 4). Las llamas en el Grupo A recibieron eCG (500 UI, I.M.) una vez al día durante 3 días, las del Grupo B recibieron pFSH im, en dosis decrecientes cada 12 h durante 5 días para un total de 220 mg, mientras que las del Grupo C recibieron eCG (500 UI, I.M.) una vez, y pFSH (total de 156 mg, im) en dosis decrecientes durante los próximos 4 días. Las llamas en el Grupo D (control) recibieron solución salina (5 ml, I.M.) Cada 12 h durante 5 días. Se permitió que todas las llamas se aparearan la noche del día 5 y se les dio hCG (750 UI, i.m.) en ese momento; se realizó un segundo apareamiento 12 h después. Se realizó una técnica no quirúrgica de recolección de óvulos / embriones 7 días después del primer apareamiento y luego se evaluó la respuesta ovárica mediante laparoscopia. Las 16 llamas se aparearon con éxito. El número medio (SEM) de ovulaciones (7.3 ± 3.1) en el Grupo B fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que en los otros grupos (1.5 ± 0.5 , 2.0 ± 0.7 y 0.3 ± 0.3 para los grupos A, C y D, respectivamente). Embriones fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en los grupos tratados con eCG. Se recuperó un total de 21 óvulos / embriones de las llamas enrojecidas, lo que corresponde al 47,7% de los cuerpos lúteos observados. De los 21 óvulos, 15 fueron fertilizados; 13 de ellos se clasificaron como blastocistos excelentes y los 2 restantes se clasificaron como muertos o degenerados. Los resultados demuestran que las llamas pueden superestimularse

con éxito en los ovarios mientras se expresa el celo conductual y sugieren que pFSH es más efectivo que el eCG para inducir la superovulación”.

Las dosis de (1000 UI de eCG) dieron como resultado respuesta ovárica excesiva obteniendo $8,2\pm 2,6$ y $17,8\pm 8,3$ ovulaciones, con formación de quistes foliculares; En todos estos estudios mencionados, se tuvo una respuesta ovulatoria individual variable (Velásquez y Novoa 1999).

La dosis de 500 Unidades Internacionales de gonadotropina coriónica equina, dio como resultado 0% de recuperación embrionaria (Velásquez y Novoa, 1999).

Reportan otros estudios relacionados que la dosis de 500 y 1000 IU de eCG resultó óptima para inducir múltiples ovulaciones (Bravo et al., 1995).

Se reportó un estudio en alpacas tratadas con eCG el cual dio como resultado respuesta ovárica de 3 a 7 cuerpos lúteos y embriones transferibles de 3.9 en promedio; este estudio no reportó protocolos de superestimulación (Bravo et al. 2004).

La dosis decreciente de la hormona eCG durante 4 días seguidos, indujo al crecimiento de $5,94\pm 1,71$ folículos y se obtuvo $1,9\pm 2,7$ embriones por donante (Agüero y col, 2001).

En camélidos sudamericanos la fase luteal inducida pudo dar como resultados 2 a 11 cuerpos lúteos y recuperar solamente el 50% de embriones, estos resultados son inferiores referente a otras especies (Del campo *et al.*, 1995).

La aplicación de eCG en el desarrollo folicular actúa como estimulante en diferentes protocolos de superestimulación; como en tiempo y dosis aplicada dando resultados muy variables.

1.2. Importancia de los Camélidos Sudamericanos

El capital pecuario de alpacas en Perú es de 3 685,5 el cual supera en 50,2% a lo reportado al censo del año 1994. En la cual predomino la raza Huacaya con el 80,4% de la población, le sigue la raza Suri con 12,2% y los cruces con 7,3% (INEI, 2012), 1'300.920 llamas y 188.327 vicuñas, el Departamento de Ayacucho tiene una población de 230 910 alpacas, estas poblaciones se encuentran en las zonas alto andinas a altitudes superiores a los 4200 msnm la importancia de la crianza de estas especies se debe a que es la única fuente de ingreso para las familias que residen a estas alturas donde no es posible la agricultura, estos productores alpaqueros aún persisten con una crianza tradicional lo que dificulta mejorar la crianza y obtener mejores ingresos, el Perú tiene el 80% de la población del mundo de alpacas, no obstante la repercusión es muy poco significativa. En los últimos años se ha dado importancia a la industria textil artesanal principalmente por algunas ONGs (Sumar et. al., 2014).

1.3. La llama

La llama (*Lama glama*) según investigaciones basados en el estudio del ADN fue domesticada hace unos 6000 años en los Andes del centro y sur del Perú (Wheeler, 1995) a partir del guanaco (*Lama guanicoe*) (CONACS, 2004).

Por ello existe una semejanza en el comportamiento social y en muchos de sus aspectos morfológicos a su progenitor. Se reconocen dos razas en estas especies: Chaku, llama lanuda y Qara, llama pelada (CONACS, 2004).

En la actualidad el Perú cuenta con 1.189.657 llamas (INEI, 2013). El peso

promedio del canal de esta especie es de 52 kg. aproximadamente de carne de excelente calidad que es óptima para el consumo humano (CONACS, 2004).

El comportamiento reproductivo de la llamas presenta muchas particularidades entre ellas se podría mencionar la posición de copula y su comportamiento nervioso (Bustinza, 2001).

1.4. Aparato reproductor de la hembra

1.4.1. Ovarios

Los ovarios son de forma ovalada; su ubicación varia con la edad y el estadio reproductivo en que la hembra se encuentra (Novoa, 1999).

Los ovarios al igual que en otras especies realizan funciones exocrinas (liberación de óvulos), endocrinas (esteroidogénesis) (Novoa, 1999).

Los ligamento que sostienen a los ovario son útero - ovárico y ancho; la ubicación del ovario derecho es a la altura de la eminencia ilio pectinea y el ovario izquierdo está ligeramente caudal; exactamente a la altura de la rama acetabular del pubis; conteniendo a los folículos (Zirena, 1978).

La medida aproximada de la bolsa ovárica es 2.5 x 5 cm y envuelve completamente el ovario. Los ovarios de las alpacas y las llamas son ovales, de forma globular, irregulares, firmes a la palpación y pequeños, dependiendo de la presencia de estructuras foliculares.

La localización de los folículos esta en la periferia del ovario. Los folículos grandes miden aproximadamente 4mm y los cuerpos lúteos se pueden identificar por medio de la palpación, o se puede realizar ecografías.

La forma y el tamaño de los ovarios varían con la edad, su peso esta entre los 1,9 y 2,4 g su longitud oscila entre los 5 y 12 mm (Sato, 1982).

Las dimensiones de los ovario son de 15 mm de longitud por 12 mm de ancho y por 9 mm de espesor, en la alpaca la bursa ovárica envuelve totalmente al ovario (Sumar, 2000).

Se reporta que en hembras pre púberes, la superficie ovárica es lisa; en cambio en hembras adultas o en estado reproductivo es irregular, debido a la presencia de folículos múltiples en varios estadios de desarrollo (Sato, 1982; García y col., 2005).

El aspecto lobulado de los ovarios se debe a la presencia de folículos maduros y de cuerpos lúteos (Bravo, 2000).

1.4.2. Oviducto:

Son dos tubos estrechos y largos que conectan los ovarios con el útero; desempeñan un papel esencial en el transporte del huevo o cigoto, la función de los oviductos es captar a los ovocitos que provienen de los ovarios, otra función de los oviductos es trasportar y almacenar a los espermatozoides, el cual genera un ambiente adecuado para que se dé la fecundación y el inicio del desarrollo embrionario (Sato y Montoya, 1982).

1.4.3. Útero:

El útero es un órgano muscular hueco que se ubica en la pelvis entre la vejiga y el recto. La alpaca y las llamas tienen el útero bicorne en forma de Y con dos cuernos uterinos que miden aproximadamente 7,5 cm. El cuerpo del útero es corto y el cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho; el cual se observa desde la etapa fetal y prepuberal (Tibary y Anouassi, 1997).

El edema y el tono del útero se incrementan durante la fase folicular, manteniéndose relajado y homogéneo durante la fase luteínica (Tibary, 2001c).

1.4.4. Cérvix:

La cérvix o cuello uterino es la parte fibromuscular inferior del útero; el canal cervical atraviesa el cuello uterino. Referente a la cérvix de la alpaca presenta 2 ó 3 pliegues con forma espiral e irregular (Hafez, 2002).

1.4.5. Vagina:

La vagina es un canal muscular hueco; que se extiende desde la vulva hasta el cuello del útero. Con respecto a la longitud de la vagina de la alpaca varía entre 13 a 15 cm y su diámetro es aproximadamente entre 3,5 y 5 cm y se caracteriza por tener una mucosa que forma numerosos pliegues (Sumar, et al., 2014).

La vagina posee paredes musculares, esta tiene la capacidad de expandirse y contraerse. Esta capacidad de ensancharse o estrecharse es muy importante. Las paredes musculares de la vagina están recubiertas por membranas mucosas.

1.5. Comportamiento reproductivo de camélidos

Los camélidos sudamericanos en general son especies que tienen la ovulación inducida, pues necesitan ser estimuladas por la copula para inducir a la ovulación, esta especie en las zonas alto andinas son de reproducción estacional (Novoa, 1999).

La hembra desarrolla continuamente folículos ováricos a lo largo de todo el año (Sumar y Leyva 1978).

Se genera la descarga de LH en presencia de la copula mediante el cual se desencadena la ovulación. Las sucesivas oleadas de crecimiento, maduración y la regresión del folículo se produce en ausencia de la ovulación (Vaughan y Tibary, 2006).

El patrón reproductivo de los camélidos sudamericanos está influenciado por las condiciones ambientales y de manejo. Los camélidos sudamericanos en su propio ambiente tienen un comportamiento estacional, por ello los partos ocurren entre enero y abril y son favorables por ser épocas lluviosas y por ende hay mayor cantidad de pastos (Koford, 1957; San Martín y col, 1968).

Hay reportes que indican en los camélidos sudamericanos hembras cortos periodos de rechazo al macho que puede durar 48 horas aproximadamente y se muestran receptivas al macho hasta 36 días (Hafez, 2002).

Las hembras receptivas adopta la posición particular (recumbencia ventral) después de un breve periodo de persecución por parte del macho (Hafez, 2002).

Las hembras receptivas en algunas oportunidades, muestran un comportamiento de monta; aunque tal conducta es mucho menos frecuente que en las vacas.

Cuando una hembra no se encuentra receptiva lo demuestra escapando del macho, para luego escupir. La fase de cortejo y apareamiento es breve, los machos lo demuestran resoplando, gruñendo y emitiendo sonidos laringo nasales. El apareamiento se da en una posición denominada recunvente ventral en la que el macho monta por encima y exactamente por atrás de la hembra. La hembra adopta un comportamiento tranquilo durante el apareamiento, y en ocasiones, cuando la copulación es prolongada, este se cansa y cambia de posición. El coito en camélidos sudamericanos es prolongado pudiendo durar hasta 15 minutos (Hafez, 2002).

Por lo general los camélidos sudamericanos son especies sin problemas de fertilidad. El 95% de las hembras pos- parto o que han llegado a la pubertad, conciben en los primeros 3 intentos de servicio.

Del 50-90% varia el porcentaje de preñez en camélidos sudamericano, el cual depende de la forma del servicio, el intervalo de posparto, las condiciones ambientales y nutricionales (Sumar y Leyva 1978).

“El porcentaje de ovulación y fertilización es aproximadamente del 85%, cuando una hembra fértil, con la presencia de desarrollo folicular normal copula con un macho fértil” (Sumar y Leyva 1978).

1.6. Dinámica folicular

“Es el proceso por el cual se da el crecimiento y regresión de folículos antrales el cual conlleva al crecimiento y desarrollo de un folículo dominante” (Adams *et al.*, 1990; Bravo, 1990).

“Las fases de desarrollo de la dinámica folicular se clasifican en tres: crecimiento, desarrollo y regresión; en la fase de maduración, el folículo dominante inhibe el desarrollo de los folículos más pequeños” (Bravo *et al.*, 1990).

Las llamas hembras siguen el patrón clásico de ondas foliculares de las hembras bovinas los cuales son: “Folículos en crecimiento, maduración y regresión” (Ferrery *col.*, 2002).

Las ondas foliculares en llamas tienen una duración de 20 a 25 días aproximadamente (Adams *et al.*, 1990).

“Los folículos se desarrollan hasta el estadio antral sin requerir de las hormonas gonadotropinas, los folículos preantrales pueden quedar retenidos en su crecimiento por largos periodos hasta que ocurra la segunda activación denominada activación de folículos terciarios o antrales. Esta fase requiere niveles de FSH” (Gordon, 1994).

El folículo dominante controla su duración, “si no hubiera ovulación se atresia, reconociéndose un nuevo folículo 2 a 3 días posterior de la primera disminución de tamaño del folículo dominante” (Bravo *et al.*, 1990).

“Las llamas no presentan ciclos estrales como otras especies domésticas. Cuando las hembras no son expuestas al macho, la receptividad de las llamas son periodos largos y la no receptividad son cortos; aproximadamente de 48 a 72 hs” (San Martín *et al.*, 1968)

Si las hembras no son exhibidas a un reproductor, producen ondas foliculares continuas, en 3 fases de crecimiento, en el cual unos conjuntos de folículos son incorporados, y solo uno es seleccionado para iniciar su crecimiento, diferenciándose hasta alcanzar un tamaño ovulatorio mayor o igual a 7 mm de diámetro (Bravo *et al.*, 1990; Fernández Baca, 1993; Brown, 2000).

El folículo ovárico es una unidad altamente compleja y consiste de distintos tipos celulares somáticos. El folículo provee un microambiente para el crecimiento de ovocito y es el responsable para la producción de hormonas (Gordon, 1994).

El folículo dominante controla su duración, a falta de ovulación el folículo se atresia, reconociéndose un nuevo folículo 2 a 3 días posterior de la primera disminución de tamaño del folículo dominante (Bravo *et al.*, 1990).

Diferentes estudios coinciden que los ovarios de las llamas y alpacas tienen una actividad igualmente distribuida; pero estudios recientes reportan que el ovario izquierdo es el más activo que el derecho (Elwishy, 1987).

“En el ovario de las llamas se han encontrado más de un folículo, pero sólo uno desarrolla el mayor tamaño mayor a 7 mm y se vuelve dominante (Adams *et al.*, 1990; Bravo *et al.*, 1990), 30 horas después de la copula ocurre la ovulación; cuando la hembra posee un folículo dominante de tamaño mínimo de 6 mm” (Adams *et al.*, 1990; Ciprian y Pérez, 2000).

1.7. Desarrollo folicular y ovulación

Todas las especies domesticas nacen con una determinada cantidad de ovocitos y folículos, de los cuales no todos serán ovulados llegando a atresarse. A lo largo de la vida de una hembra, “los folículos primordiales se mantienen en un estado de reposo y en cada cierto tiempo, algunos folículos son seleccionados para desarrollarse. El desarrollo folicular es un proceso continuo que culmina con la ovulación del folículo maduro y con la regresión del mismo” (Galina yValencia, 2008).

“El folículo dominante tiene una acción inhibitoria llevando a los folículos subordinados a detener su crecimiento y atresarse. Entre 1 y 3 días de comenzada la regresión del folículo dominante emerge la nueva onda” (Adams et, al 1990; Bravo et, al., 1990).

“La estimulación dada por las hormonas de las células de la teca y la granulosa conlleva a la proliferación y diferenciación de folículos y a la producción de estradiol esto es una forma de reaccionar a las gonadotrofinas. La producción de estradiol establecerá cuál de los folículos tendrá los receptores de la hormona luteinizante necesarios para la ovulación y luteinización. Las perturbaciones en las respuestas de la granulosa y teca a las señales gonadotrópicas interrumpen el crecimiento folicular” (Hafez, 2002).

La copula estimula a la hormona LH a inducir a la ovulación en camélidos sudamericanos; mientras que si no hay estimulación de la copula o solo monta este no es suficiente para generar la ovulación (Fernández Baca et, al., 2002).

Cuando se observe a nivel de los ovarios folículos preovulatorios en alpacas, se recomienda montas con presencia de copula; los cuales pueden durar hasta 5

minutos, generando éste la ovulación espontánea hasta en 5% (Bravo, 1990; Sumar, 1988).

1.8. Superovulación

Es la liberación de una gran cantidad de oocitos, “generalmente resultado de la administración de gonadotropinas exógenas para procedimientos de fecundación asistida. También denominada ovulación múltiple o hiperestimulación ovárica controlada; estos métodos de reproducción asistida también se aplican en las llamas” (Van y Gerneke, 1966).

Para obtener resultados en superovulación con hormonas sintéticas en camélidos sudamericanos se recomienda hacerlo en fase luteal, para ello se recomienda realizar ecografías con la finalidad de buscar ello (Bourke y col, 1995; Monniaux y col, 1983).

Se reportó un estudio de la hormona “eCG durante la fase folicular y luteínica, comprobándose que la efectividad era mayor cuando se aplicaba en la segunda etapa del ciclo. Así, al aplicar la hormona durante la fase folicular se obtuvieron $8,2 \pm 2,3$ cuerpos lúteos, mientras que al hacerlo durante la fase luteal el número medio de cuerpos lúteos fue de $17,8 \pm 8,3$. Los tratamientos súper ovulatorios se basan en la administración de gonadotropinas (gonadotropina coriónica equina – eCG- o de hormona folículo estimulante –FSH-) tras la sincronización de la oleada de crecimiento folicular durante una fase luteal natural (obtenida mediante la inducción de la ovulación) o una fase luteal artificial (mediante la administración exógena de progesterona). Para garantizar la ausencia de un folículo dominante se recurre a la exploración ecográfica del ovario o a la eliminación del mismo” (Velásquez y col 1999).

La superestimulación en camélidos sudamericanos se inicia con la aplicación de hormonas exógenas, ello induce al crecimiento y desarrollo folicular. Estas hormonas pueden ser eCG y FSH; denominándose como etapa luteal inducida, para conllevar a la ovulación; se usan las hormonas GnRH y hCG Posterior a ello se realiza la monta natural, la administración de estas hormonas se realiza en una etapa de receptividad (Ratto, M. et al., 2005).

Existen métodos para sincronizar “la onda folicular en llamas, aplicando dosis inyectables de progesterona y benzoato de estradiol e iniciar tratamientos superovulatorios en ausencia del folículo dominante” (Carretero *et al.*, 2006).

Se reporta la utilización del análogo del GnRH (buserelina); logrando “sincronizar la emergencia de la onda folicular, permitiendo iniciar los tratamientos superestimulatorios entre los días 3 y 6 de la aplicación” (Ferrer y col. 2002).

Se reporta la administración de “50 mg por día de progesterona natural (P4) en 2.0 mL de aceite, durante 12 días lograron inhibir y controlar la onda folicular en el 100% de las llamas y siete días después de finalizado el mismo, la totalidad de las hembras presentaron un folículo con un tamaño mínimo susceptible de ovular ante el estímulo apropiado” (Alberio y Aller 1996).

Un estudio en llamas “realizo la sincronización de la onda folicular con la administración de estradiol, progesterona y LH los cuales permiten la inducción de la sincronización de la onda folicular” (Ratto *et al.*, 2005).

De 26 y 30 horas pos-aplicación de GnRH ocurre la ovulación en camélidos sudamericanos, para ello es importante aplicar un protocolo de superovulación o superestimulación, el cual se aplica en ausencia de un folículo dominante (Ratto *et al.*, 2005).

“La emergencia de la nueva onda folicular pos-inducción de ovulación en llamas ocurre el día 4.6 en promedio” (Ratto *et al.*, 2005).

La hormona eCG es usada como superestimulador, el cual es efectivo con una sola aplicación; este es el resultado de muchas investigaciones (Galina y Valencia, 2008).

Cuando se forma un cuerpo lúteo después de la ovulación, este no tiene la capacidad de respuesta frente a la hormona prostaglandina F_{2α} en los primeros 4 días de la inducción de la ovulación, hay una leve sensibilidad el día 5; recién entre los días 6-8 se puede inducir luteólisis mediante la administración de PGF_{2α} o su análogo (Galina y Valencia, 2008).

“En los protocolos de superovulación, se ha utilizado la hCG para inducir ovulaciones sincrónicas de los múltiples folículos formados, para mejorar la tasa ovulatoria se ha utilizado GnRH” (Galina y Valencia, 2008).

1.8.1. Problemas de superovulación en camélidos:

- “Aproximadamente del 20-30% de hembras a las cuales se le administro un tratamiento de superestimulación no desarrollan folículos. Esto es probablemente debido a que algunas hembras producen inmunidad contra eCG”.
- “La alta luteinización de folículos antes del servicio. Esto ocurre con los tratamientos de eCG y puede deberse a la actividad de LH de esta hormona”.
- Existe una elevada variabilidad en la respuesta entre las hembras tratadas.

1.8.2. Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) es una hormona que fue descubierta por Cole y Hart en el año 1930 al comprobarse que la administración del suero de la yegua gestante a un grupo de ratas estimulaba el crecimiento folicular e incrementaba la tasa de ovulación, estableciendo así la base del tratamiento superestimulador (Roche et al., 1984).

Esta glicoproteína en los días 46 a 130 se encuentra en grandes cantidades en el suero de las yeguas preñadas y presenta en una misma molécula actividades biológicas propias de la FSH y de la LH (González et al., 1978).

La molécula está compuesta por dos subunidades una α y otra β . La primera es la responsable de las actividades FSH y LH, mientras que la subunidad β determina la amplitud de su actividad. El alto contenido en ácido siálico de la molécula de eCG le confiere una larga vida media, que supera ampliamente a las de la FSH y

la LH. Su vida media se cifra en torno a las 40 horas, aunque puede llegar a persistir hasta 10 días (Schams y col, 1978).

El alto contenido de ácido siálico es favorable puesto que este induce a la superestimulación con una sola aplicación; las repeticiones ya no son necesarias (Hafez y col, 2002).

La recolección del suero de las yeguas preñadas va a depender del día de recolección para ser eficaz. Por ejemplo cuando se recolecta el día 37 de preñez no tiene la capacidad de inducir a la superestimulación ovárica; a diferencia que cuando se recoge el día 42 si llega estimular en mínima proporción a diferencia del día 80 de gestación tiene su máxima estimulación (Roche et al., 1984).

La hormona eCG se caracteriza por tener la ventaja muy notable que una sola administración puede llegar a inducir la superestimulación deseada y el reducido precio a diferencia de otras hormonas (Roche et al., 1984).

La desventaja de usar la hormona eCG es que éste tiene una vida media prolongada; ello induce a que se siga estimulando el crecimiento folicular de forma permanente después de que se dio la ovulación, el cual induce a que se siga produciéndose estradiol. Todo esto conlleva a que haya una alteración a nivel del útero y la migración del embrión (Roche et al., 1984).

“En llamas no existen diferencias en la tasa de respuesta ovárica a ambas sustancias 17.9 ± 2.2 folículos tras el tratamiento con FSH y 17.7 ± 2.2 folículos en las tratadas con eCG” (Ratto et al., 2005).

Otra de las desventajas de la hormona eCG es que este puede llegar a persistir hasta 10 días por el componente que este tiene que es el ácido sialico que basta

una sola aplicación para inducir a la superestimulación ovárica; llegando a superar en vida media a las hormonas como FSH y LH. Con una sola administración es suficiente (Hafez et al., 2002).

Un estudio revela “la respuesta de superestimulación ovárica en alpacas y llamas a las cuales se le administro la hormona eCG en emergencia de crecimiento de la onda folicular, el resultado muestra que en las llamas se produjo el desarrollo de $12,8 \pm 1,4$ folículos y $8,1 \pm 1,0$ cuerpos lúteos, mientras que en las alpacas solamente se desarrollaron $7,5 \pm 1,2$ folículos y $5,9 \pm 1,3$ cuerpos lúteos” (Huanca y col, 2007).

1.9. Embriones

1.9.1. Desarrollo embrionario

El desarrollo del embrión inicia con la división celular a partir del cigoto, el cual realiza su recorrido por el oviducto hasta ingresar en el útero, pero, es específica la duración en cada especie. Así el día 7 se encuentra en estado de blastocisto temprano, el día 8 en estado de blastocisto colapsado y día 9 en blastocisto elongado. El tamaño de los embriones medidos en diámetro el día 6 post ovulación de 381 a 480 μ m, día 7 de 600 a 673 μ m, día 8 de 8 a 8.8 mm (Picha et al., 2013).

Tabla 1. Tiempo de pasaje del embrión desde el oviducto hasta el útero y formación del blastocito en las diferentes especies.

Especies	Pasaje dentro del útero		Tiempo en que se forma el blastocisto (días post ovulación)
	Días después de la ovulación	Estado de desarrollo	
Cerda	2	4-8 células	5-6
Vaca	3-3	8-16 células	7-8
Oveja	3	8-16 células	6-7
Yegua	5-6	mórula	6
Perra	8	blastocisto	8

Fuente: (Hyttel et al., 2010).

1.9.2. Morfología embrionaria

“Los embriones obtenidos a los 6 a 7 días del empadre, en hembras superovuladas, presentan una variación de tamaño entre 0.1 a 1 mm, y normalmente se encuentran en estadio de blastocisto expandido liberado. El diámetro promedio de un total de 163 embriones de llama, fue de $527.1 \pm 168.0 \mu\text{m}$, respectivamente. La expansión del trofoblasto se extiende desde un promedio de 1.2 mm en diámetro en el día 6.5 a 7.5, hasta 83 mm de longitud al día 13 a 14. Esta tasa acelerada de desarrollo embrionario se le podría relacionar al aparentemente reconocimiento materno temprano de la preñez en estas especies” (Adams et, al., 1990).

1.9.3. Recolección de embriones

La recolección de embriones se realiza por lo general por el método no quirúrgico. Lo primero que se realiza es la sujeción del animal para luego aplicarle un tranquilizante; introduciendo la mano enguantada se saca todas las heces del recto y se realiza la limpieza del área perineal, después se aplica un anestésico epidural con la finalidad de insensibilizar dicha zona. Se ingresa una sonda Foley al interior del útero para lo cual se atraviesa la cérvix para dicha maniobra se ayuda con la otra mano enguantada por el recto; se insufla un balo de 20 a 30 ml de aire para anclarlo, luego se introduce un medio de lavado previamente atemperado y con leves masajes se evacua el medio de lavado hacia el filtro recolector, este proceso se repite por lo menos tres veces con aproximadamente 500 ml de medio de lavado (Skidmore, 2000; Huanca et, al., 2004).

1.9.4. Evaluación de embriones

“Al realizar la clasificación de embriones nos basamos en su aspecto morfológico, con el apoyo de una pipeta fina de vidrio, la que permitirá desplazar los embriones para evaluarlos desde distintos ángulos” (Hafez, 2000; Palomino, 2000). “Se debe observar la integridad de la membrana prelucida y su esfericidad” (Palomino, 2000).

Cuando se realiza la colección de embriones estos deben de estar desarrollados acorde al día de colección; colectándose máximo hasta 48 horas de retraso (Hafez, 2000).

“Se deben excluir a los embriones de menos de 32 células, y que estén en los días 6to y 7mo, por ello estas células deben de ser claras y de contorno regular, siendo la opacidad un signo de degeneración, este sistema de evaluación morfológica no constituye un test absoluto de la viabilidad embrionaria. Pero, se presentan

diferencias significativas en el porcentaje de preñez cuando se transfieren embriones de calidad media con respecto a la calidad buena o excelente”. (Hafez, 2000; Palomino, 2000; Witenberg et, al., 1987).

Tabla 2. Clasificación de embriones en camélidos

Grado del embrión	Características
GRADO I	Embrión de excelente calidad, con tamaño acorde al tiempo de colección, perfectamente esférico y superficie plana
GRADO II	Embrión bueno, con las características del grado I pero con algunas irregularidades en el contorno.
GRADO III	Embrión de calidad media, embrión pequeño que presenta manchas negras, contorno irregular y con algunas células protruidas
GRADO IV	Embrión colapsado, exponiendo áreas oscuras degeneradas y con muchas células sobresalientes
GRADO V	Embrión muy oscuro, fragmentado, colapsado, no Transferible

Fuente: (Skidmore et al. 2004).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

El trabajo de investigación se realizó en el centro experimental de pampa del Arco, laboratorio de Fisiología Veterinaria de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria – Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; distrito de Ayacucho de la provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho a una altitud de 2735 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 12 - 18 °C, precipitación pluvial promedio de 500 mm , humedad relativa de 40 – 50%, latitud sur a 13°10'09" y 74°11'53" longitud oeste (Senamhi, 2018).

2.2. Materiales y Equipos

Material biológico

- 08 llamas hembras
- 02 llamas machos

De laboratorio

- Buffer Fosfato Salino-PBS
- Tubería en Y
- Camisetas sanitarias
- Mandril o dilatador cervical
- Guantes descartables

- Sonda Foley

Reactivos y hormonas

- Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)
- Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH)
- Prostaglandina F2 α

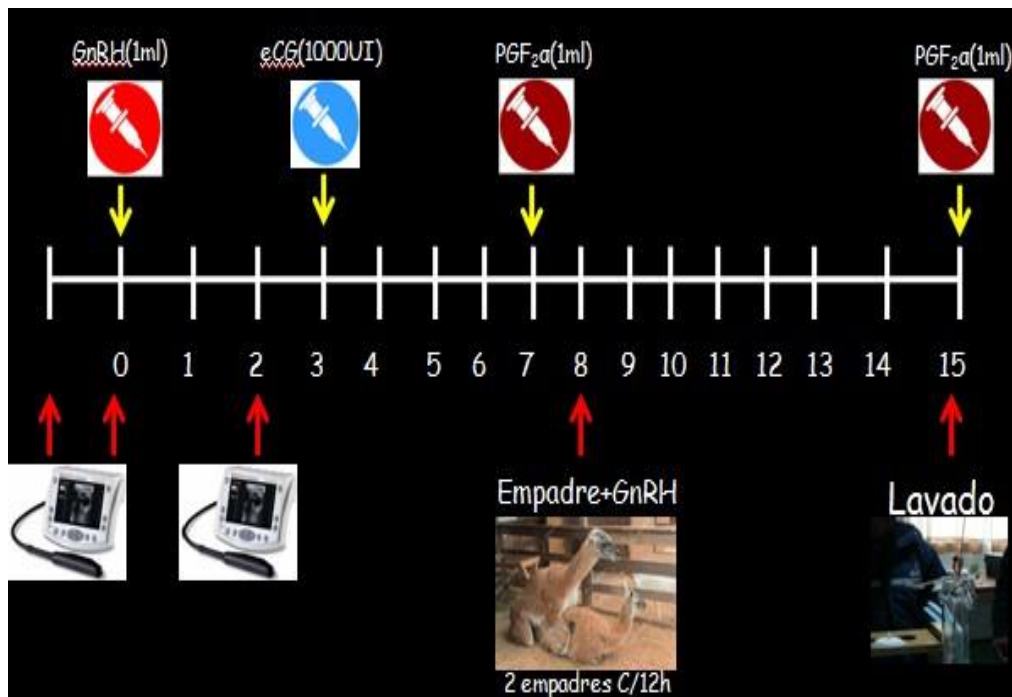
Equipos

- Ecógrafo
- Estereomicroscopio
- Platina térmica
- Sonda Foley

2.3. Técnicas de procedimiento y análisis de datos

En primer lugar se realizó la evaluación ecográfica de los ovarios de las donadoras; donde se busca encontrar folículos mayores o iguales a 7mm. Esto se realiza durante dos días continuos; las donadoras seleccionadas con una condición corporal de 2.5 y 3 recibieron 1ml acetato de gonadorelina (GnRH) para inducir a la ovulación, 2 días después se evalúan a las donadoras; para constatar la ovulación del folículo dominante, si se produce la ovulación se inicia el tratamiento con la hormona gonadotropina coriónica equina(eCG). Como se puede observar en la figura 1.

Figura 1. Protocolo de súper ovulación en llamas donadoras de embriones



Fuente: Elaboración propia

En el proceso de obtención de embriones se utilizaron las siguientes hormonas:

- “GONASYN GDR® contiene Gonadorelina, análogo sintético de la hormona hipotalámica GnRH, en solución inyectable y su administración es 1 ml por vía intramuscular profunda (IM)”.
- “NOVORMON® 5000, Gonadotropina coriónica equina purificada, su administración es por vía intramuscular (IM) profunda; se usó como dosis única de 800 y 1000 UI para cada tratamiento y por donadora”.
- “LUTALYSE® Dinoprost trometamina, como agente luteolítico, se administra por vía intramuscular (IM) profunda a una dosis de 1ml por animal”.

2.4. Recolección y evaluación de embriones

- El día 7 de octubre de 2018; se realizó la recolección de embriones después del empadre por un procedimiento no quirúrgico en llamas hembras de aproximadamente 3 años; las cuales presentaron en sus ovarios 2 o más cuerpos lúteos. Para empezar con el proceso de recuperación de embriones en llamas donadoras se inyectó a cada llama acepromazina (Promazil®) a una dosis de 1ml para relajarlas y tranquilizarlas, “en seguida se procedió a inmovilizarlas en un brete de sujeción elaborada para tal fin, después de ello se realizó la evacuación del contenido rectal y se les aplicó clorhidrato de lidocaina a dosis de 2 ml, para anestesiarse la región epidural caudal. Finalmente, se realizó la limpieza de la zona vulva con abundante agua y jabón carbólico posterior a ello se secó con papel toalla”.
- “En primer lugar, se inicia ubicando a la cérvix; para luego introducir un dilatador cervical (mandril), cubierto por la sonda Foley de 2 vías de 18 mm de diámetro con una camiseta sanitaria”.
- En la luz del cuerno uterino es fijada la sonda Foley con una jeringa con 20 ml de aire, para la obstrucción del mismo, este es comprobado con movimientos hacia la parte anterior y posterior de la sonda Foley; comprobándose que este ya no se mueva.
- El lavado de los cuernos uterinos se realizó con un medio PBS Dulbecco, para ello en primer lugar se atempera a 37° C. En primer lugar se introduce 250 ml del medio de lavado y en la siguiente repetición más 250 ml, utilizándose en total 500

ml, este medio es introducido a través de la sonda Foley el cual previamente está conectado a la tubería en Y.

- Luego se procedió a realizar leves masajes en el cuerno uterino, seguidamente se libera el medio de lavado.
- Posterior “a la colección de embriones se administra 1ml de prostaglandina (PG F₂ alfa) - LUTALYSE®; a todas la donadoras”.
- Luego de realizar el lavado, el filtro con el contenido es trasladado al laboratorio de Fisiología Veterinaria para su posterior evaluación y clasificación de embriones para ello utilizamos el estereomicroscopio.
- En el laboratorio; “Se dejó por un lapso de tiempo de 10 minutos para que haya sedimentación, el sobrenadante fue eliminado hasta dejar de 20 a 30 ml en el fondo del filtro, esta cantidad se vertió a una placa Petri” (Pérez, 1994).
- En el estereomicroscopio se inicia la evaluación de embriones en el cual buscamos que estos se encuentren en un estado “íntegro como la zona pelucida, que no haya deformaciones, que no presente manchas oscuras, por este motivo nos basamos en la clasificación realizada por (Skidmore et al., 2000), descrita en la tabla 2 en este caso solo seleccionamos embriones de clase o de grado I y II. Estos fueron aspirados de forma individual a una pajuela de 0.25mL con medio demantenimiento y se mantuvo en platina térmica a 38.2°C, hasta el momento desu congelación”.

2.5. Diseño Estadístico

Se utilizó el Diseño estadístico Completo al Azar (DCA), para la evaluación del número de embriones obtenidos por tratamiento con “la aplicación del programa estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadístico) versión 9.2. En el diseño se tuvo 2 dosis de eCG y 3 repeticiones (Superovulaciones) en las Llamas donadoras de embriones; el modelo aditivo lineal del diseño experimental es el siguiente”:

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

Dónde:

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

μ = Efecto de la media general

τ_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

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

Las características fueron:

- Dosis: 2 {T1 y T2}
- Repeticiones: 3
- Unidades Experimentales: 8

Tratamientos

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

Así mismo para la evaluación de la calidad embrionaria se utilizó la prueba Chi Cuadrado cuya fórmula es la siguiente:

$$X^2 = \sum (o_i - e_i)^2 / e_i \text{ (Kaps and Lamberson, 2010)}$$

Dónde:

X^2 = Es la chi cuadrada calculada

o_i = Es la frecuencia observada en la i-ésima fila, j-ésima columna

e_i = Es la frecuencia esperada en la i-ésima fila, j-ésima columna.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. N° de embriones obtenidos por superovulación con eCG en llamas (*Lama glama*)

Se recuperaron un total de 49 embriones provenientes de 8 llamas donadoras de embriones, los cuales fueron evaluados y clasificados; según categorías (Stringfellow y Seidel, 1998).

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

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
T1 800 UI	4.67 ^a	0.8165	4.0	6.0
T2 1000 UI	3.50 ^b	0.5477	3.0	4.0
Total de embriones	28(57.14%)	21(42.85%)		

La tabla 3 muestra el número promedio de embriones recuperados para el tratamiento 1 que fue $4,67 \pm 0,82$ y para el tratamiento 2 fue $3,50 \pm 0,55$, existiendo diferencia significativa entre el número promedio de embriones recuperados ($p < 0.05$), siendo superior con el tratamiento 1.

Al análisis estadístico donde se determina que hay diferencia estadística significativa entre tratamientos siendo superior el tratamiento 1 de 800 UI de

eCG, frente al tratamiento 2 de 1000 UI de eCG, esta diferencia se debería a la cantidad de receptores presentes en las células de la granulosa y la teca interna, externa para el efecto de las actividades biológicas de la hormona folículo estimulante y hormona luteinizante que son importantes para la foliculogénesis (González et al., 1978). Esto también puede deberse a factores propios de cada donadora.

Así mismo el incremento de la dosis de 800 a 1000 UI de eCG no tiene un efecto positivo en la producción y recuperación de embriones, pero si representa un costo adicional en 20% al costo de hormona eCG, la que se podría llegar a usar en una llama donadora de embriones y obtener mayor número de embriones.

Al respecto, (Pacheco et al., 2020), en un estudio similar, al utilizar dos tratamientos con dosis menores de 500 y 700 UI eCG, reportan haber obtenido 1,6 y 2,6 embriones respectivamente, resultando valores inferiores en referencia al presente estudio, estos resultados se deben a la existencia de fallas ovulatorias o luteinizaciones tempranas, “frecuencia de quistes foliculares y cuerpos lúteos persistentes que fueron mayores en el tratamiento 1 respecto al tratamiento 2, mientras que la frecuencia de metritis y torsiones cervicales fueron similares para ambos tratamientos. Así mismo el efecto de la edad y el número de partos es un factor que influiría considerablemente para la obtención de embriones”. “Ello también se debería a la dosis de eCG utilizada, tal como señala” (Trasorras *et al.*, 2017), que a mayor dosis se tiene mejor respuesta.

Trasorras et al., (2017), reporto haber obtenido una producción de $3,04 \pm 0,11$ embriones en llamas tratadas con 1000 UI de eCG, el número de embriones

Obtenidos es similar al presente estudio, lo cual nos indicaría que con una dosis

de 1000 UI de eCG se obtienen un promedio de 3 embriones, teniendo siempre en consideración los factores inherentes de cada donadora de embriones.

Velásquez y Novoa (1999), reportan en un estudio que con dosis de 500 UI de eCG se obtuvo 0% de tasa de recuperación embrionaria, estos resultados son completamente inferiores al presente estudio; esta nula tasa de colección embrionaria sería como efecto de la baja dosis utilizada de eCG y que esta no tuvo la actividad biológica suficiente para que desencadene la cascada de la hormona FSH y LH como consecuencia no se produjo un número adecuado de “folículos preovulatorios y una ovulación múltiple”. (Scaramuzzi et al., 2011), “indica que cuando las concentraciones de FSH comienzan a bajar por la retroalimentación negativa que ejerce el estradiol y la inhibina del folículo dominante, en ausencia de LH o por escasez de sus receptores los folículos subordinados entran en atresia y por consiguiente no hay la producción de folículos preovulatorios”.

Vaughan et. al., (2013), refiere haber obtenido 2,5 y 3 embriones al utilizar dosis de 1000 y 1500 UI de eCG, estos resultados son inferiores a los obtenidos en el presente estudio, esta diferencia se debería al efecto de factores fisiológicos propios de las donadoras, al método de recolección, momento o estadio de los embriones en el que fueron recolectados, (Sumar y Picha 2014), afirman que los embriones descienden hacia el útero con variaciones en el tiempo obteniendo diferentes estadios así el día 7 se encuentran en estado de blastocisto temprano, el día 8 en estado de blastocisto colapsado y día 9 en blastocisto elongado, y estas colectas en diferentes días influyen directamente en el número de embriones recolectados.

3.2. Calidad de embriones obtenidos por súper ovulación en llamas (*Lama glama*)

Tabla 4. Calidad de embriones recuperados de Llamas donadoras de embriones sometidas al tratamiento superovulatorio con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a dosis de 800UI y 1000UI.

CALIDAD DE EMBRIONES			
CATEGORIA DE EMBRIONES	T1 800 UI	T2 1000 UI	TOTAL
Excelente	10 (35.7%)	8 (38.1%)	18 (36.7%)
Bueno	8 (28.6%)	7 (33.3%)	15 (30.6%)
Regular	3 (10.7%)	2 (9.5%)	5 (10.2%)
Mala	3 (10.7%)	0 (0%)	3 (6.1%)
Intransferible	4 (14.3%)	4 (19.0%)	8 (16.3%)
TOTAL	28 (100%)	21 (100%)	49 (100%)

En la tabla 4. Se observa la Calidad de embriones recuperados por superovulación en llamas a dosis de 800UI y 1000UI con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) según categorías: “excelente 35.7% y 38.1%, buena 28.6% y 33.3%, regular 10.7% y 9.5%, mala 10.7% y 0% e intransferible 14.3% y 19.0% para los T1 y T2, no existiendo diferencia estadística significativa entre tratamientos ($\alpha=0.05$)”.

Como puede apreciarse en la Tabla 4, en términos porcentuales en cada una de las categorías no existe variación significativa para la calidad de embriones recolectados. Independiente a la dosis aplicada, para la categoría excelente es de solo 2.3%. Para las categorías buena y regular, las diferencias de 7.7 1.2, respectivamente, aun cuando las diferencias son ligeramente mayores que en la categoría anterior, resultan también similares. Por otro lado, merece destacar que al margen de la cantidad total de embriones recuperados, las de categoría excelente a buena resultan superiores a las de calidad regular, mala e intransferibles, situación que debe advertirse para futuros trabajos.

Los resultados obtenidos son ligeramente inferiores a los reportados por (Stringfellow y Seidel, 1998), “quienes clasificaron embriones de acuerdo a la calidad embrionaria y obtuvo en categoría de excelente 36.7%, buena 30.6%, regular 10.2%, mala 6.1% e intransferible 16.3%. estos resultados son ligeramente inferiores a nuestro trabajo de investigación”; Sin embargo (Evangelista et al., 2009), “reporto 74,03 % grado 1, el 14,29 % de grado 2, el 6,49 % de grado 3, el 5,19 % de grado 4 y ningún embrión de grado 5, siendo estos últimos superiores a los obtenidos en el presente estudio, esta diferencia es atribuida al efecto sinérgico de las diferentes hormonas utilizadas en la superovulación como la hormona luteinizante y progesterona, del mismo modo esta variación de la calidad embrionaria estaría influenciada por los cambios hormonales propios de las donadoras de embriones y cambios estructurales en los fluidos foliculares durante el desarrollo folicular de las donadoras superovuladas, y que podría afectar la fertilización y desarrollo embrionario temprano” (Callensen *et al.*, 1986).

Huanca et al., (2021), reporta recuperación de embriones con 700UI de eCG, en

25 alpacas divididos en 2 tratamientos, de los cuales obtuvo 83.3% y 75.0% embriones transferibles y 16.7% y 25.0% de embriones no transferibles. Estos resultados son superiores a nuestro trabajo de investigación ello se debe a factores externos (el tipo de medio usado, calidad espermática, grado de pureza de la hormona superovulatoria) e internos (calidad de ovocitos), como las técnicas usada al momento de realizar la cosecha de embriones y a la experiencia de colector.

Novoa, et al.; (1999), refiere un estudio realizado en alpacas, con las dosis de 500 y 700UI de eCG y 750UI de hCG. En los cuales obtuvo 25 embriones de los cuales 16 de excelente calidad, 6 de buena calidad y 3 de mala calidad. Estos resultados son inferiores a nuestro trabajo de investigación; la variación se debe a la dosis utilizada; puesto que son inferiores a nuestro trabajo de investigación, otra causa probable sería la forma de cosechar los embriones puesto que se realizó por el método quirúrgico (laparotomía ventro medial). Otro factor sería como dijo (Trasorras *et al.*, 2017), que a mayor dosis se tiene mejor respuesta.

Correa et al., (1997) y Ratto et al., (1997), “reportaron receptividad continua en hembras; por 5 días consecutivos; a las cuales se les administro 20 mg pFSH (NIH-FSH-P1) intramuscular cada 12 horas durante 5 días (dosis total de 200 mg). Posterior a la última dosis de FSH, las hembras fueron tratadas con una dosis de 750 IU de hCG para inducir ovulación; de los cuales 500 y 1000 IU de eCG fue óptima para inducir múltiple crecimiento folicular en llamas” (Bravo et al., 1990). “con un rango de embriones trasferibles que van de 0 a 2 por hembra.

Estos resultados son inferiores a nuestro trabajo de investigación; los cuales podrían

deberse a factores propios de cada hembra y a al sinergismo de las hormonas utilizadas; puesto que cada donadora responde de forma particular”.

Recientemente, (Bravo et al.; 2004) reportó un promedio 3,9 embriones transferibles y 3 a 7 cuerpos lúteos en alpacas a las cuales se les administro la hormona eCG. Sin embargo, no se reportó cuáles fueron los protocolos que se usaron. “Basados en estos resultados, se ha mencionado que la colección de embriones en hembras sin estimular podría ser una opción alternativa a este problema” (Taylor et al., 2000).

IV. CONCLUSIONES

1. La administración de las dosis de 800 UI y 1000 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) influyen favorablemente en el número de embriones recuperados; del cual la dosis de 800 UI tiene una diferencia significativa.
2. Las dosis de 800 y 1000 UI de eCG no influye sobre la calidad obtenida de embriones en función a la clasificación empleada.

V. RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos de investigación con el propósito de validar las dosis obtenidas de gonadotropina coriónica equina (eCG) en la superovulación de llamas en rebaños en campo.
2. Realizar trabajos de investigación en transferencia de los embriones obtenidos por superovulación con Gonadotropina Coriónica Equina, en rebaños de llamas.
3. Realizar trabajos de investigación en la criopreservación de los embriones obtenidos para salvaguardar el material genético de Llamas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, G., Sumar, J. and Ginther, O. 1990. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.*, 24: 127-138.
2. Agüero A, y Rutter B 2001. Follicular dynamics in (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology*. 34, 1119-1127.
3. Alberio R H Aller J F, 1996. *Animal Reproduction Science*. 121.
4. Apaza, 2017. Inseminación Artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. Memorias. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
5. Bravo, et al. 2004. The first 10 days of the alpaca embryo. In: 15th International Congress on Animal Reproduction. Abstract. Porto Seguro. Brazil. pp. 84
6. Bravo et al., 1990. *The Reproductive process of south American camels*, Seagull Printing. United States of America.
7. Bustinza, V. 2001. *La Alpaca: Crianza, Manejo y Mejoramiento*. 1 ed. Puno, Perú, Editorial Universitaria. 343 p.
8. Bourke y col. 1995, Mmiaux y col. 1983. Composition and characteristics of waves during the bovine oestrous cycle *Animal Reproduction Science* 20 187-
9. Callesen H, Greve T y Hyttel P 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*. 25, 71-86.
10. Carretero et al., 2006. Embryo production in superstimulated llamas pre-treated to inhibit follicular growth. *Small Ruminant Res* (2010) 88:32–37.
11. Correa J, Ratto M H y Gatica R. 1997. Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con progesterone y gonadotropinas. *Arch. Med. Vet.*

12. Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS). 2004.
13. Del Campo, M. R., C. H. Del Campo and G. P. Adams. 1995. The application of new reproductive technologies to South American camelids. *Theriogenology*. 43, 21 –30.
14. Elwishy, 1987 cytometry, internucleosomal DNA fragmentation, and lysosomal enzyme activities in granulosa cells and follicular fluid. *Mol Reprod Dev*. 55(3):270- 281.
15. Ferrer, M.; A. Agüero; M. Chaves; F. Russo y B. Rutter. 2002. Sincronización de la onda folicular mediante el uso de busarelina en la llama (*Lama glama*). Área de Teriogenología. Facultad de ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. *In.Vet*. ISSN: 1514-6634. 2002, 4(1): 7-11.
16. Fernández-Baca, S., Madden, D. and Novoa, C. 2002. Effect of different mating stimuli on induction ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert*. 22: 3-20.
17. Galina, C. y Valencia, J. 2008. Reproducción de los animales domésticos, Tercera edición. Editorial - limusa. México.
18. Gonzales, ML; Huanca, T; Cárdenas, O. 1978. Evaluación de la fertilidad en alpacas inseminadas, *Spermova* 1(1):64-65.
19. Gordon s. 1994 Galina, C. y Valencia, J. (2008). Reproducción de los animales domésticos, Tercera edición. Editorial - limusa. México.
20. Hafez B. 2002. Llamas y alpacas. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México.
21. Hafez, E. Palomino. witenberg 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. México: 7ª ed. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill.
22. Huanca, et al.,2021. Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (eCG) en la respuesta Ovárica y la producción de embriones en alpacas (*Vicugna pacos*).

23. Hafez B. 2002. Llamas y alpacas. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México.
24. Huanca, W.; M. Ratto; A. Cordero; A. Santiani; T. Huanca; O. Cárdenas y G. Adams. 2008. Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. Resumen V Congreso Mundial de Camélidos, Catamarca–Argentina.
25. Huanca, W. 2007; Palomino A; Sumar 2000. Camelidos sudamericanos del Perú. Resumen de Camélidos.
26. Hyttel, P., Sinowatz, M., Vejlsted 2010. Essentials of domestic animal embryology, Sunders. El Servier Limited Cap 6, Pag 68-70.
27. Instituto Nacional de estadística e información (INEI), 2013.
28. Ministerio de Agricultura, 2004
29. Novoa, 1999. Dosis de gonadotropinas (eCG y hCG) superovulación y obtención de embriones en alpacas. Rev. Inv. Vet Perú; 10(1): 48-53.
30. Novoa, C. y J. Sumar. 1968; Bravo et al., 1995. Colección de huevos in vivo y ensayos de transferencia en alpacas. III Boletín Extraordinario, IVITA, UNMSM pp. 31-34.
31. Pacheco C., Velez M. y Garcia V., 20020. Rev Inv Vet Perú 2020; 31(3): e18731 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18731>
32. Palomino, H. 2000. Biotecnología del Transplante y Micromanipulación de Embriones de Bovinos y Camélidos Sudamericanos. Editores Importadores, Perú.
33. Pérez, G. 1994. Efecto de la GnRH (Gonadorelin) sobre el desarrollo folicular, método de inducción de ovulación y embriones en alpacas. Tesis Maestría Ganadería Andina.

34. Picha Y., A.Tibary, M. Memon, R.Kasimanickan, and J. Sumar. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology* 79: 702-708.
35. Ratto M, Huanca W, Singh J y Adams G P. 2005: Comparison of the effect of natural mating, LH and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Animal. Reproduction Science*. 91 (3-4), 299-306.
36. Ratto MH, Silva ME, Huanca T, Cordero A, Huanca W. 2015. Inducción de superovulación en camélidos. *Spermova* 5: 253-257.
37. Roche Ireland. 1984. *Clinical Theriogenology*.
38. Sato 1982, Garcia y col. 2005. *Bioteología del Transplante y Micromanipulación de Embriones de Bovinos y Camélidos Sudamericanos*. Editores Importadores, Perú.
39. Sato y Montoya 1990 Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*. 19, 55-81.
40. San Martin, 1968. Exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Science* 69, 37-46.
41. Scaramuzzi Rensis 2011 – *Teriogenología*.
42. Schams D, B Berisha - *Reproducción en animales domésticos*, 2004 - Wiley Online Library.
43. Stringfellow D.A y Givens M.D. 1998. Categoria de embriones production of livestock embryos. *Animal Production Sciences*, 60-61: 629-642.
44. Skidmore, L. 2000, Huanca et al., 2004. Embryo transfer. *Lecture Notes for the Shorter Course in Reproduction in the Dromedary Camel*. Publiser: International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA. pp 4.
45. SENAMHI, Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología, 2018. Reportes

- Enero-Abril Shaw J., A. Oranratnachai and A. Trounson. Fundamental cryobiology of mammalian oocytes and ovarian tissue. *Theriogenology* 53(1): 59-72.
46. Sumar J, Picha Y. 2014. Embryo transfer. In: Cebra C, Anderson D, Tibary wA, Van Saun R, Johnson L (eds). *Llama and alpaca care*. Canada: Elsevier. p 315-321.
 47. Sumar y Leyva 1978. corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand.* 83,133-141.
 48. Sumar, 1985; Fowler 1989. *Llamas y Alpacas. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Mexico: Editorial Interamericana – Mc Graw – Hill.
 49. Sumar, J. 2000. Renoval of the ovarios or ablation of the corpus luteum and its.
 50. Tibary y Anouse 1997 and Rowson, L. (1973). Experiments on the low temperature preservation of cow embryos. *Vet. Rec.* 92: 686-690.
 51. Tibary, A. 2001. Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, Vancouver, BC, Canada, 12-15 september*. pp: 387-396.
 52. Trasorras, V.L., 2017. Effect of eCG superstimulation and buserelin in cumulus–oocyte complexes recovery and maturation in llamas (*Lama glama*).
 53. Van y Gerneke 1966 Lectin binding patterns and carbohydrate mediation of sperm binding to llama oviductal cells in vitro.
 54. Vaughan, 2013. Ovarian follicular inter-wave intervals in alpacas. In: *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reprod*
 55. Vaughan y Tibary 2006. Ovarian follicular inter-wave intervals in alpacas. In: *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reprod*
 56. Velásquez, C., Novoa, M.C. 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. 234–238.

57. Velásquez, C., Novoa, M.C., Bravo 1995. Superovulación con eCG aplicada en fase folicular. Veterinary Information Service.
58. Koford 1957; San Martin y col. 1968 . The vicuna and the Puna. Ecological Monographs 27: 153-219.
59. Zirena, N. 1978. Comparación de dos métodos físicos semen fresco de alpaca y su relación con la calidad. Tesis Med. Vet. Lima, Perú.

ANEXOS

ANEXO 1. Panel fotográfico



Foto N° 1. Llamas donadoras de embriones



Foto N° 2. Materiales de campo



Foto N° 3. Evaluación ecográfica de los ovarios de las donadoras



Foto N° 4. Hormona Gonadotropina coriónica equina (eCG)



Foto N° 5. Aplicación de la hormona Gonadotropina coriónica equina (eCG)



Foto N° 6. Monta natural



Foto N° 7. Aplicación del tranquilizante (Acepromazina).



Foto N° 8. Evacuación del contenido rectal previo a la colección de embriones



Foto N° 9. Preparación del material para realizar la recolección de embriones.



Foto N° 10. Colección de embriones mediante lavado uterino.



Foto N° 11. Selección y evaluación de la calidad embrionaria

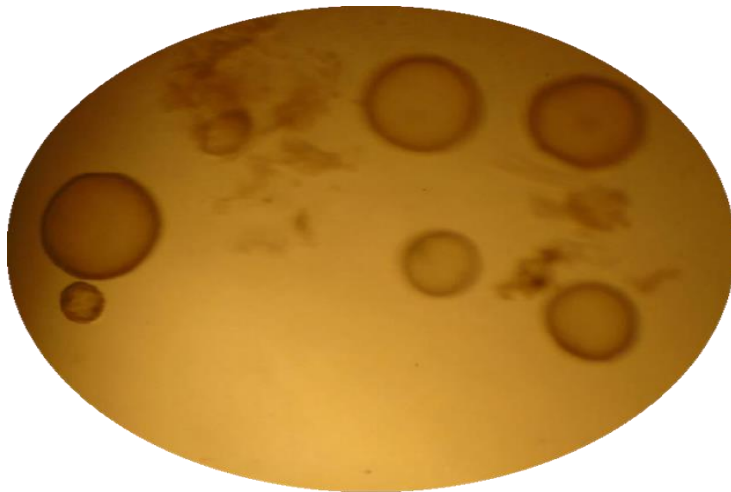


Foto N° 12. Embriones de excelente calidad

ANEXO N° 2. Registro de las llamas

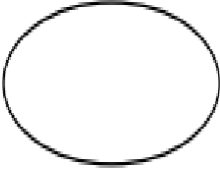
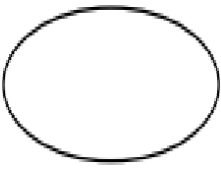
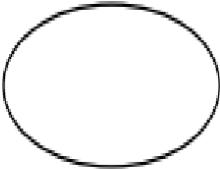
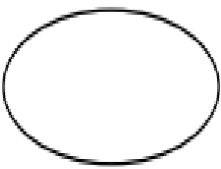

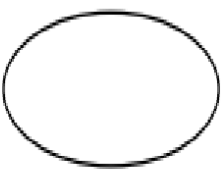
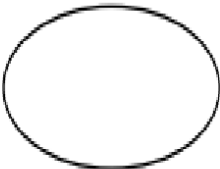
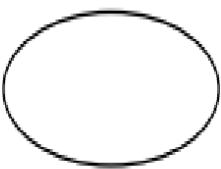
Fecha.....

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

ANEXO N° 3. Registro ecográfico de las donadoras

ID HEMBRA:

MOTIVO ECO: **OBSERVAC.:**

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

**ANEXO N° 4. Resultados estadísticos de la evaluación de dos dosis de eCG
en llamas**

Tabla N° 5. Número de embriones recuperados

The SAS System						
The TTEST procedure						
Variable: NÚMERO DE EMBRIONES RECUPERADOS						
tratamiento	N°	Mean	Stand DV	Stand Err	Minimum	Maximum
T1	6	4.6667	0.8165	0.3333	4.000	6.000
T2	6	3.5000	0.5477	0.2236	3.000	4.000
Diff(1-2)				0.4014		

Gráfico N° 1. Distribución de número de embriones recuperados

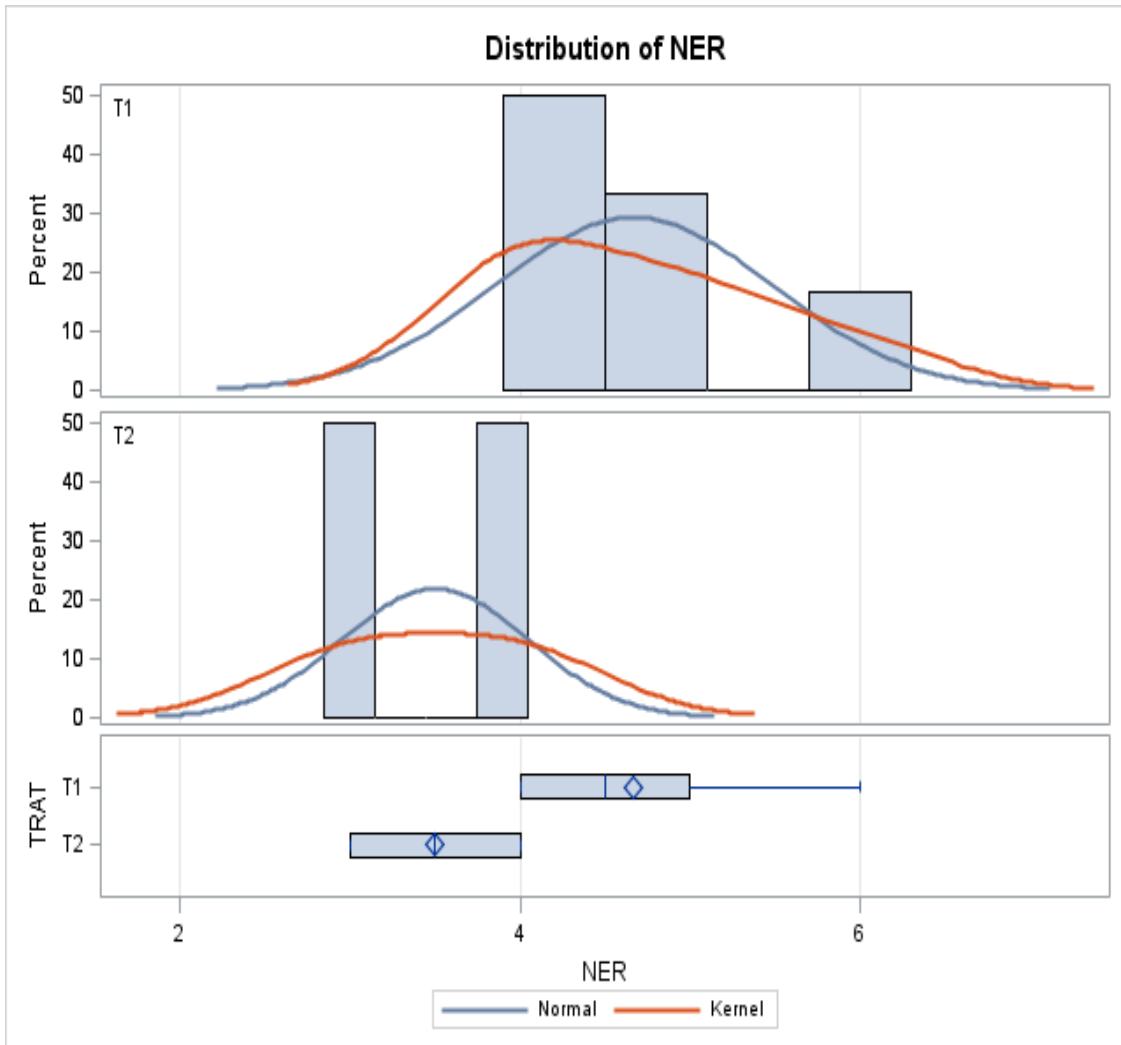


Tabla N° 6. Tratamiento de Calidad de embriones recuperado por tabulación cruzada

			Calidad					
			E	B	R	M	I	Total
Tratamiento	T1	Recuento	10	8	3	3	4	28
		% dentro de Tratamiento	35,7%	28,6%	10,7%	10,7%	14,3%	100,0%
	T2	Recuento	8	7	2	2	4	21
		% dentro de Tratamiento	38,1%	33,3%	9,5%	0%	19,0%	100,0%
Total		Recuento	18	15	5	3	8	49
		% dentro de Tratamiento	36,7%	30,6%	10,2%	6,1%	16,3%	100,0%

Tabla N° 7. Prueba de chi-cuadrada

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

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

Tabla N°8. Prueba de varianza

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

t calculada: 2.91 > t tabulada: 1.8125

Equality of Variances

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

H0: Varianza del T1=Varianza del T2

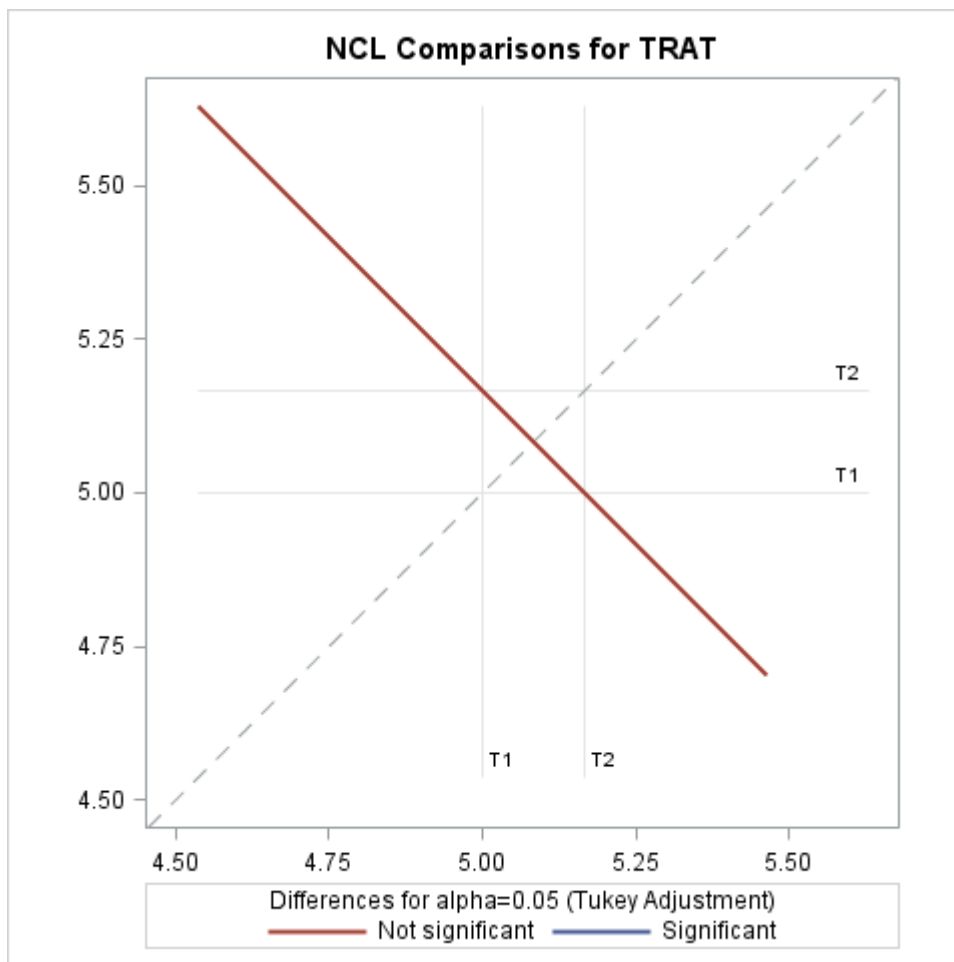
Ha: Varianza del T1≠Varianza del T2

Valor -p es < 0.05 (existe diferencia estadística significativa) *

Valor -p es < 0.01 (existe diferencia estadística altamente significativa) **

Valor -p es ≥ 0.05 (No existe diferencia estadística significativa) ns

GRAFICO N° 2 Comparación entre tratamientos



**UNSCH**ESCUELA DE
POSGRADO**CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD 029-2023-UNSCH-EPG/EGAP**

El que suscribe; responsable verificador de originalidad de trabajo de tesis de Posgrado en segunda instancia para la **Escuela de Posgrado - UNSCH**; en cumplimiento a la Resolución Directoral N° 198-2021-UNSCH-EPG/D, Reglamento de Originalidad de trabajos de Investigación de la UNSCH, otorga lo siguiente:

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

Autor:	BACH. LILY LUZ HUAMÁN NAJARRO
Maestría:	CIENCIAS
Mención:	SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL
Título de tesis:	EVALUACIÓN DE DOS DOSIS DE ECG EN LLAMAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, AYACUCHO – 2018
Evaluación de originalidad:	15 % de similitud
N° de trabajo:	2008633030
Fecha:	07-feb.-2023

Por tanto, según los artículos 12, 13 y 17 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación, es procedente otorgar la constancia de originalidad con depósito.

Se expide la presente constancia, a solicitud del interesado para los fines que crea conveniente.

Ayacucho, 07 de febrero del 2023.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA DE POSGRADO
Ing. Edith Geovana Asto Pera
Responsable Área Académica

EVALUACIÓN DE DOS DOSIS DE eCG EN LLAMAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, AYACUCHO – 2018

por Lily Luz Huamán Najarro

Fecha de entrega: 07-feb-2023 12:35p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2008633030

Nombre del archivo: HUAMAN_NAJARRO_070223.docx (1.85M)

Total de palabras: 11314

Total de caracteres: 59058

EVALUACIÓN DE DOS DOSIS DE eCG EN LLAMAS PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES, AYACUCHO – 2018

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	6%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	spermova.pe Fuente de Internet	1%
4	docplayer.es Fuente de Internet	1%
5	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	dspace.usc.es Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	<1%
9	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words