

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL**



**“CONDICIÓN CORPORAL EN EL PERIPARTO Y SU RELACIÓN  
CON CAPACIDAD INMUNE Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO EN  
ALPACAS (*Vicugna pacos*)”**

**Presentada por:**

**HUGO WENCESLAO DEZA CALSIN**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR  
*DOCTORIS PHILOSOPHIAE* EN CIENCIA ANIMAL**

**Lima – Perú**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL**

**“CONDICIÓN CORPORAL EN EL PERIPARTO Y SU RELACIÓN  
CON CAPACIDAD INMUNE Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO EN  
ALPACAS (*Vicugna pacos*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR**

***Doctoris Philosophiae***

**Presentada por:**

**HUGO WENCESLAO DEZA CALSIN**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Ph.D. Carlos Vélchez Perales

**PRESIDENTE**

Ph.D. Carlos Gómez Bravo

**ASESOR**

Dra. María Elena Villanueva Espinoza

**MIEMBRO**

Ph.D. Felipe San Martín Howard

**MIEMBRO**

Dr. Wilber García Vera

**MIEMBRO EXTERNO**

## DEDICATORIA

*A mis abuelos Eleuterio y Filomena, con  
quienes descubrí el fascinante mundo de la  
ganadería*

*A mis padres Hugo y Gladys, por su constante e  
inagotable apoyo, porque todo lo que soy se lo  
debo a ellos*

*A mi esposa Katherine, mi compañera para toda  
la vida, por su paciencia y apoyo incondicional.*

## **AGRADECIMIENTO**

Al Dr. Carlos Gómez Bravo, por su apoyo y asesoría en mi trabajo de tesis, a los Doctores Carlos Vilchez, María Elena Villanueva, Felipe San Martín y Wilber García, miembros de mi Comité Consejero, por sus acertadas sugerencias, su desinteresado apoyo y su infinita amabilidad, les quedo muy agradecido.

A los profesores Dr. Curtis R. Youngs, Dr. Robert Van Saun y Dra. Miriam García Orellana, por su constante asesoramiento y apoyo en la ejecución de este trabajo de tesis.

A la Escuela de Post Grado de la Universidad Nacional Agraria La Molina y a su cuerpo docente, por haberme acogido y brindado la oportunidad de adquirir conocimientos durante mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por haber financiado mis estudios de Doctorado y este trabajo de tesis.

Al Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, a los Doctores Juan Zevallos (†), Rolando Alencastre, Rolando Rojas, Rassiel Macedo, Gloria Estefany Mamani e Ingrid Huayta por el apoyo durante la ejecución de éste trabajo de tesis.

A mis queridos y entrañables amigos Pablo, Ronald, Herbert, René, Carlos y Edith; con quienes compartimos carpeta, días de estudio, alegrías y penas.

# ÍNDICE GENERAL

I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	3
2.1. Estado energético en el periparto de la alpaca	3
2.1.1. Ingesta de energía en camélidos sudamericanos	5
2.1.2. Requerimiento de energía en camélidos sudamericanos	7
2.1.3. Valoración del estado nutricional de los animales	8
2.2. Inmunología del periparto	12
2.2.1. El sistema inmune en alpacas	14
2.2.2. Pruebas de evaluación del sistema inmune	21
2.2.3. Efecto de la condición corporal sobre la respuesta inmune	22
2.3. Factores nutricionales que afectan la reproducción en la alpaca	24
III. Materiales y métodos	31
3.1. Efecto de la condición corporal sobre la capacidad inmune	31
3.1.1. Lugar experimental y tratamientos	31
3.1.2. Determinación de la condición corporal	32
3.1.3. Manejo de los partos	32
3.1.4. Manejo de los animales	33
3.1.5. Colección de sangre para evaluación de la función neutrófilo	33
3.1.6. Colecta de plasma para análisis de metabolitos	34
3.1.7. Aislamiento de neutrófilos, morfología, quimiotáxis y fagocitosis	34
3.1.8. Análisis de metabolitos plasmáticos	36
3.1.9. Análisis estadístico	36
3.2. Efecto de la condición corporal sobre el desempeño reproductivo	37
3.2.1. Lugar experimental y tratamientos	37
3.2.2. Determinación de la condición corporal	38
3.2.3. Manejo de los partos	38
3.2.4. Manejo de los animales	39

3.2.5.	Evaluación de la salud uterina _____	39
3.2.6.	Evaluación de la actividad ovárica _____	40
3.2.7.	Empadre de las alpacas _____	41
3.2.8.	Evaluación ultrasonográfica post empadre _____	41
3.2.9.	Toma de muestras de sangre para análisis hormonales _____	42
3.2.10.	Análisis de niveles séricos de progesterona _____	42
3.2.11.	Análisis estadístico _____	43
3.3.	Cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto _____	44
3.4.	Cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre _____	45
IV.	Resultados y discusión _____	46
4.1.	Efecto de la condición corporal sobre la capacidad inmune _____	46
4.1.1.	Condición corporal en el periparto _____	46
4.1.2.	Concentraciones séricas de $\beta$ hidroxibutirato y ácidos grasos no esterificados durante el periparto de alpacas _____	48
4.1.3.	Capacidad inmune de alpacas en el periparto _____	52
4.2.	Efecto de la condición corporal sobre el desempeño reproductivo _____	56
4.2.1.	Condición corporal en diferentes momentos reproductivos _____	56
4.2.2.	Efecto de la condición corporal sobre la salud uterina _____	59
4.2.3.	Efecto de la condición corporal sobre la actividad ovárica al momento del empadre 61	
4.2.4.	Efecto de la condición corporal sobre la formación de cuerpo lúteo y tasa ovulatoria _____	64
4.2.5.	Efecto de la condición corporal sobre las tasas de preñez y mortalidad embrionaria a los 14, 28 y 65 días post empadre _____	67
4.2.6.	Efecto de la condición corporal sobre las concentraciones séricas de progesterona _____	74
4.3.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el pre parto y el parto _____	76
4.3.1.	Relación del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación _____	77

4.3.2.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto sobre la salud uterina	80
4.3.3.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre el desarrollo folicular	81
4.3.4.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre el desarrollo del cuerpo lúteo y tasa ovulatoria	83
4.3.5.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre la tasa de preñez y mortalidad embrionaria	85
4.3.6.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre la tasa de preñez y mortalidad embrionaria	87
4.3.7.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre las concentraciones séricas de progesterona	88
4.4.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre	90
4.4.1.	Relación del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación	90
4.4.2.	Efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre sobre la formación del cuerpo lúteo y tasas ovulatorias	93
V.	Conclusiones	100
VI.	Recomendaciones	102
VII.	Referencias bibliográficas	103
VIII.	Anexos	117

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Calificación de la condición corporal en el periparto de alpacas multíparas	47
Tabla 2. Efecto de la condición corporal y el momento de evaluación sobre los niveles séricos de BHB y AGNE durante el periparto de alpacas multíparas	49
Tabla 3. Función neutrofílica durante el periparto de alpacas multíparas de diferente condición corporal	53
Tabla 4. Condición corporal evaluada en los diferentes eventos reproductivos durante el periparto de alpacas multíparas mantenidas al pastoreo	57
Tabla 5. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas de diferente condición corporal medidos a los $24 \pm 5$ días pos parto (un día antes del empadre)	60
Tabla 6. Diámetro folicular evaluado al momento del empadre ( $24 \pm 5$ días pos parto) en alpacas multíparas mantenidas a pastoreo	62
Tabla 7. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas de diferente condición corporal medido a los 7 días post empadre	65
Tabla 8. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas multíparas de diferente condición corporal	66
Tabla 9. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 14 días post empadre	68
Tabla 10. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 28 días post empadre	69
Tabla 11. Tasas de ovulación y preñez (%) de alpacas multíparas de diferente condición corporal	70
Tabla 12. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas mantenidas al pastoreo	71
Tabla 13. Niveles de progesterona (ng/mL) en alpacas multíparas de diferentes condición corporal a diferentes momentos post empadre	74
Tabla 15. Condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas multíparas que cambian condición corporal entre el parto - parto	78
Tabla 16. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas multíparas de diferente condición corporal evaluados 1 día antes del empadre ( $24 \pm 5$ días pos parto)	81
Tabla 17. Diámetro folicular al momento del empadre a los $24 \pm 5$ días pos parto de alpacas multíparas mantenidas a pastoreo	82
Tabla 18. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas de diferente condición corporal medido a los 7 días post empadre	83



Tabla 19. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas multíparas de diferente condición corporal _____	84
Tabla 20. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 14 días post empadre _____	85
Tabla 21. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 28 días post empadre _____	86
Tabla 22. Tasa de preñez (%) de alpacas de diferente condición corporal _____	87
Tabla 23. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas mantenidas al pastoreo	88
Tabla 24. Niveles de progesterona (ng/mL) en alpacas multíparas de diferentes condición corporal a diferentes momentos post empadre _____	89
Tabla 25. Cambio de la condición corporal entre el parto y el empadre de alpacas multíparas _____	90
Tabla 26. Condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas multíparas que cambian condición corporal entre el parto - empadre _____	91
Tabla 27. Efecto del cambio en la CC entre el parto y el empadre sobre el diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas medido a los 7 días post empadre _____	94
Tabla 28. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas multíparas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre _____	95
Tabla 29. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo medido a los 14 días post empadre de alpacas multíparas preñadas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre _____	96
Tabla 30. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos medido a los 28 días post empadre de alpacas multíparas preñadas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre _____	97
Tabla 31. Tasa de preñez (%) de alpacas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre _____	98
Tabla 32. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre _____	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Condición corporal (CC) en el periparto de alpacas multíparas mantenidas al pastoreo_____	48
Figura 2. Niveles de BHB (mg/dL) en el periparto de alpacas al pastoreo _____	50
Figura 3. Niveles séricos de ácidos grasos no esterificados (mEq/L) en el periparto de alpacas al pastoreo_____	51
Figura 4. Capacidad quimiotáctica, fagocítica y niveles séricos de BHB en diferentes momentos alrededor del parto en alpacas multíparas_____	54
Figura 5. Capacidad quimiotáctica, fagocítica y niveles séricos de AGNE en diferentes momentos alrededor del parto en alpacas multíparas_____	56
Figura 6. Condición corporal a lo largo de todos los eventos reproductivos en el periparto de alpacas mantenidas al pastoreo_____	58
Figura 7. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas de diferente condición corporal medidos a los $24\pm 5$ días pos parto (un día antes del empadre) _____	61
Figura 8. Actividad ovárica al momento del empadre ( $24\pm 5$ días pos parto) en alpacas multíparas mantenidas a pastoreo_____	63
Figura 9. Tasa de preñez (%) de alpacas de diferente condición corporal _____	70
Figura 10. Relación del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas multíparas _____	79
Figura 11. Condición corporal evaluada en diferentes momentos de alpacas que cambian su condición corporal entre el parto y el empadre _____	92

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Determinación de la condición corporal_____	117
Anexo 2. Láminas de quimiotaxis después de la tinción _____	118
Anexo 3. Migración de neutrófilos en la prueba de quimiotaxis _____	118
Anexo 4. Neutrófilos con billas fagocitadas, prueba de fagocitosis_____	119
Anexo 5. Determinación de las concentraciones séricas de BHB y AGNE_____	119
Anexo 6. Evaluación ultrasonográfica de alpacas _____	120
Anexo 7. Determinación del grosor de pared uterina_____	120

## RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la condición corporal en el periparto sobre la capacidad inmune (experimento 1) y el efecto de la condición corporal en el periparto sobre el desempeño reproductivo (experimento 2). En ambos experimentos se clasificaron alpacas multíparas según su condición corporal (CC), en alpacas de CC alta ( $>3.5$ ), media ( $2.5 - 3.5$ ) y baja ( $<2.5$ ). En el experimento 1, se evaluó la CC de las alpacas ( $n=45$ ) a los 7 días preparto, al parto y 7 días pos parto, simultáneamente se tomaron muestras de sangre para evaluar la capacidad quimiotáctica y fagocítica de neutrófilos, y para determinar concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (AGNE). En el experimento 2, se evaluó la CC de las alpacas ( $n=117$ ) a las 4 semanas preparto, al parto, empadre y diagnósticos de gestación (28 y 65 días post empadre). Se evaluó la salud uterina y desarrollo folicular a los  $24 \pm 5$  días posparto, desarrollo de cuerpo lúteo y tasa ovulatoria a los 7 días post empadre y diagnóstico de gestación a los 14, 28 y 65 días. Para el análisis estadístico se usó un diseño completo al azar con arreglo factorial. En el primer experimento, la condición corporal no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre la respuesta de la capacidad inmune o los niveles séricos de BHB y AGNE, pero si hubo efecto ( $P < 0.05$ ) del momento de evaluación, observándose que la respuesta quimiotáctica y fagocítica disminuyen en el preparto, tienen su peor desempeño al momento del parto y mejoran significativamente en el posparto. No hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) en las concentraciones séricas de AGNE por efecto de la condición corporal, momento de evaluación o la interacción de ambos. Las concentraciones séricas de BHB, estuvieron más elevadas en el preparto y parto, y descendieron significativamente en el posparto ( $P < 0.05$ ). En el segundo experimento la CC de todos los grupos experimentales disminuyó desde el momento del parto hasta el momento de diagnóstico de gestación temprana (28 días) y se recuperó hacia los 65 días de gestación. La salud uterina, desarrollo folicular y desarrollo de cuerpo lúteo no fueron seriamente afectados por la condición corporal de las alpacas. El mayor efecto de la condición corporal se observó sobre la tasa ovulatoria, la misma que fue superior ( $P < 0.05$ ) en alpacas de CC baja y media, respecto de alpacas de CC alta; y sobre la tasa de preñez a los 28 y 65 días, siendo superior ( $P < 0.05$ ) en las alpacas de CC alta y media e inferior en alpacas de CC baja. Los niveles de progesterona sérica fueron similares ( $P > 0.05$ ) en los tres grupos experimentales. El cambio en la CC entre el preparto y el parto, y entre el parto y el empadre no tuvieron efectos ( $P > 0.05$ ) sobre las variables reproductivas evaluadas en el presente estudio.

**Palabras claves:** Alpaca, inmunidad, metabolitos, desempeño reproductivo.

## ABSTRACT

In the present study, were evaluated the effect of the body condition score in the peripartum on the immune capacity (experiment 1) and the effect of the body condition score in the peripartum on the reproductive performance (experiment 2). In both experiments, multiparous alpacas were classified according to their body condition score (BCS), in high ( $> 3.5$ ), medium ( $2.5 - 3.5$ ) and low ( $< 2.5$ ) BCS. In experiment 1, the BCS of the alpacas ( $n = 45$ ) was evaluated at 7 days before parturition, at parturition and 7 days after parturition, blood samples were simultaneously taken to evaluate the chemotactic and phagocytic capacity of neutrophils, and to determine concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) and non-esterified fatty acids (NEFA). In experiment 2, the BCS of the alpacas ( $n = 117$ ) was evaluated at 4 weeks before parturition, at parturition, at the mating moment, and in pregnancy diagnoses (28 and 65 days after mating). Uterine health and follicular development were evaluated at  $24 \pm 5$  days postpartum, corpus luteum development and ovulatory rate at 7 days post-mating, and pregnancy diagnosis at 14, 28 and 65 days. For the statistical analysis a randomized complete design with factorial arrangement was used. In the first experiment, the body condition score did not have effect ( $P > 0.05$ ) on the immune capacity response or serum levels of BHB and NEFA, but there was effect ( $P < 0.05$ ) of the time of evaluation, observing that the chemotaxis and phagocytosis decrease at prepartum, have their worst performance at parturition, and significantly improve in the postpartum period. There was not difference ( $P > 0.05$ ) in serum NEFA levels, due to the effect of BCS, time of evaluation or the interaction of both. Serum BHB concentrations were higher at prepartum and parturition, and decreased significantly in the postpartum period ( $P < 0.05$ ). In the second experiment, the BCS of all experimental groups decreased, from parturition to the time of early pregnancy diagnosis (28 days) and recovered towards 65 days of gestation. Uterine health, follicular development and corpus luteum development were not seriously affected by the alpacas BCS. The greatest effect of body condition was observed on the ovulatory rate, which was higher ( $P < 0.05$ ) in alpacas with low and medium BCS, compared to high BCS; and on the pregnancy rate at 28 and 65 days, being higher ( $P < 0.05$ ) in alpacas with high and medium BCS, and lower in low BCS. Serum progesterone levels were similar ( $P > 0.05$ ) in the three experimental groups. The change in the BCS between prepartum and parturition, and between parturition and mating did not have effect ( $P > 0.05$ ) on the reproductive variables evaluated in the present study.

**Keywords:** Alpaca, immunity, metabolites, reproductive performance.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, se aprecia un mayor interés en desarrollar sistemas eficientes de crianza de camélidos sudamericanos, ello obedece a que son un recurso genético invaluable de gran adaptación a las duras condiciones climáticas de los altos andes Peruanos y en general de Sudamérica; pues son capaces de aprovechar recursos forrajeros pobres para transformarlos en fibra y carne, permitiendo a los habitantes de las grandes alturas obtener subproductos como la fibra que venden para la compra de productos de primera necesidad y la carne que es su principal fuente de proteína animal, contribuyendo de esta manera con el desarrollo económico sostenible de las familias alpaqueras.

La crianza de camélidos sudamericanos hoy en día se encuentra difundida en varios países; pero hasta éste momento, el Perú sigue siendo el mayor poseedor de camélidos sudamericanos con poco más del 50% de la población mundial. Así mismo, el Perú es el único país que posee las cuatro especies que conforman la familia de los camélidos sudamericanos, de ellas la alpaca y la llama domésticas y criadas con fines productivos, y la vicuña y el guanaco las silvestres. En los últimos años se ha podido apreciar un ligero incremento en la población de alpacas en el Perú; sin embargo, los reportes científicos en la actualidad indican que el desempeño reproductivo no es el más óptimo, reflejado por sus bajas tasas de fertilidad (Ratto et al., 2011; Sapaná et al., 2012; Norambuena et al., 2018), que podrían estar relacionados a problemas nutricionales.

Es posible que los camélidos sudamericanos tengan dificultades en cubrir sus demandas nutricionales con los pastos naturales de los Andes, mucho más en la época de estiaje (mayo – noviembre) que es cuando disminuye enormemente su calidad y cantidad, principalmente el contenido de energía (San Martín y Van Saun, 2014), que podría ser más crítica para la alpaca en el último tercio de gestación, momento que es coincidente con los meses de mayor carestía de alimentos (octubre y noviembre), lo que imposibilitaría la adecuada acumulación de reservas corporales debido al gran consumo de nutrientes por parte del feto.

Una herramienta útil para valorar la cantidad de reservas corporales es la condición corporal, a través de la cual se puede estimar subjetivamente el balance de energético, de esta forma una pérdida en la condición corporal, como la observada inmediatamente después del parto debido al inicio de la lactación, supone la movilización de reservas corporales, producto del balance energético negativo, el que puede afectar la función folicular, la actividad hormonal y la producción de ciertos metabolitos (Beam y Butler, 1999; Meikle et al., 2004).

Este balance energético negativo no sólo puede afectar el normal desempeño reproductivo, sino también puede alterar la función inmune, específicamente la función neutrofílica; debido a la insuficiente disponibilidad de glucosa que impide el adecuado almacenamiento de esta molécula bajo la forma de glucógeno al interior de los polimorfonucleares, dando por resultado la alteración de las funciones quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos (Gálvao et al., 2010) esta alteración de la primera línea de defensa del organismo, hace a la hembra más susceptible a enfermedades, principalmente reproductivas durante el período del parto.

En la actualidad no hay estudios que refieran la ocurrencia de un balance energético negativo en la alpaca y las consecuencias que ello podría tener sobre la capacidad inmune y desempeño reproductivo, razón por la cual se planteó realizar el presente experimento enfocado en evaluar la condición corporal de alpacas hembras en el período del parto y el efecto que podría tener sobre la capacidad inmune valorada a través de la capacidad quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos, así como también evaluar el efecto de la condición corporal de las alpacas sobre el desempeño reproductivo evaluando salud uterina, desarrollo folicular, tasa ovulatoria, tasas de preñez y desarrollo embrionario. Los objetivos planteados en el presente estudio fueron:

- Evaluar el efecto de la condición corporal en el parto de alpacas sobre la capacidad inmune.
- Evaluar el efecto de la condición corporal en el parto de alpacas sobre el desempeño reproductivo.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Estado energético en el periparto de la alpaca**

El periparto es definido como un período de tiempo alrededor del parto, caracterizado por un marcado cambio en el metabolismo para soportar la gestación tardía y el inicio de la síntesis de leche. Durante éste período de tiempo la hembra experimenta una gradual disminución en la ingestión de materia seca que inicia pocas semanas preparto y perdura las primeras semanas posparto, aunado a ello hay un abrupto incremento en la demanda de nutrientes debido al inicio de la lactación, dando por resultado un balance energético negativo (Castañeda-Gutiérrez et al., 2009).

El período entre la gestación tardía y la lactación temprana implica una complicada fase de adaptación en la provisión de nutrientes, utilizados hacia el final de la gestación para el desarrollo del feto que luego del parto deben ser dirigidos para la lactogénesis (Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005).

El insuficiente consumo de materia seca y el incremento en la demanda de energía luego del parto provocan una disminución en las concentraciones séricas de glucosa, lo que conlleva a que la hembra movilice sus reservas de grasa bajo la forma de ácidos grasos no esterificados (AGNE), además de incrementar la glucogénesis hepática con la finalidad de cubrir las demandas de energía (Bell, 1995; Grummer, 1993; Drackley, 1999).

El periparto y sus ajustes metabólicos han sido casi inexplorados en la alpaca, el estudio más aproximado al respecto fue publicado por Burton et al. (2003) en el que indican que existe una variación en las concentraciones séricas de los metabolitos como glucosa, la misma que incrementa drásticamente al momento del parto y luego desciende a sus valores normales hacia la tercera semana posparto; mientras que los AGNE se mantienen constantes durante todo el periparto.



El inicio de la lactación en los rumiantes es seguido por un incremento en los requerimientos de agua y nutrientes tales como la glucosa, aminoácidos y ácidos grasos, los cuales son precursores en la síntesis de leche, siendo la prioridad para el animal en lactación proveer la cantidad suficiente de nutrientes a la glándula mamaria lo que implica un cambio en el metabolismo, de ésta manera las reservas formadas durante la gestación deberán ser movilizadas en la mayoría de las veces bajo la forma de ácidos grasos no esterificados (Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005). Durante el período del parto en rumiantes ocurre una disminución en la ingesta de materia seca, que en el caso de vacas inicia 2 a 3 semanas preparto, aunado a un abrupto incremento en la demanda de nutrientes debido al inicio de la lactación dando por resultado un estado de balance energético negativo y una gran movilización de reservas de las grasas corporales bajo la forma de ácidos grasos no esterificados (Bell, 1995; Grummer, 1993; Drackley, 1999).

La disminución en las concentraciones de glucosa en sangre y frecuentemente también la insulina son típicos en el balance energético negativo en asociación con un incremento en la gluconeogénesis hepática. Si ocurre una lipólisis excesiva durante la lactación temprana, la capacidad oxidativa del hígado puede ser excedida dando por resultado la acumulación de triglicéridos en el hígado y cetosis las cuales reducen la capacidad gluconeogénica del hígado. La cetogénesis hepática debido a una incompleta oxidación de los ácidos grasos no esterificados (AGNE) está también relacionada con un moderado incremento en las concentraciones de betahidroxibutirato (Bell, 1995; Grummer, 1993).

Un único reporte de los perfiles metabólicos durante el pre y post parto de alpacas, hace suponer que todo ello no es diferente en las alpacas, en las cuáles el parto tiene efectos sobre las concentraciones sanguíneas de metabolitos y electrolitos, los cuales sufren variaciones desde el final de la gestación hasta los primeros 14 días post parto, manifestado por una interacción entre glucosa, nitrógeno ureico y hormonas al momento del parto (Burton et al., 2003). Además tal como en las otras especies, los requerimientos energéticos de la preñez en alpacas están en función a las necesidades de energía para soportar el desarrollo fetal, de la placenta, útero y glándula mamaria en adición a la energía necesaria para el mantenimiento (Van Saun, 2014).

La variación en las concentraciones séricas de los metabolitos es la respuesta frente a los cambios en las demandas de energía, la cual incrementa de 138.8 a 160.9 Kcal kcalEM/kgPV<sup>0.75</sup> durante los últimos tres meses de gestación (Van Saun, 2014). Una vez que se da el parto e

inicia la producción de leche se genera un incremento en las demandas de energía la cual está en función a la composición y volumen de producción de leche, además de los requerimientos de mantenimiento. En camélidos la composición de leche tiene en promedio 13.1% de sólidos totales, 6.5% de lactosa, 3.4% de proteína total y 2.7% de grasa (Parraguez et al., 2003; Morin et al., 1995), lo que implica una adición en los requerimientos de energía en 700.2 Kcal EN/Kg de leche; asumiendo un 74% de eficiencia en la conversión de energía metabolizable se requeriría 946.2Kcal de EM/Kg de leche (NRC, 1985).

### **2.1.1. Ingesta de energía en camélidos sudamericanos**

La alpaca miembro de la familia de los camélidos sudamericanos, es una especie bien adaptada a las grandes alturas en las que puede aprovechar eficientemente los pobres recursos forrajeros que son abundante durante una corta estación de lluvias entre los meses de enero a marzo y que escasean el resto del año durante la temporada de estiaje; este cambio en la disponibilidad de alimento no sólo afecta la cantidad de alimento ofrecido sino además la calidad del mismo, siendo el contenido de energía uno de los componentes del alimento que es de mayor importancia para el normal desempeño productivo y reproductivo de los camélidos sudamericanos (Van Saun, 2014).

Los efectos de la deficiente ingesta de energía en los camélidos sudamericanos se manifiestan por una muy baja producción de leche en los animales en lactación o por un crecimiento deficiente o lento (Van Saun, 2014), además una carencia en el suficiente aporte de energía para los animales puede recaer en la alteración de la respuesta inmune (Hammon et al., 2006)

Debido a la gran variabilidad en los tipos de alimentos que puede consumir un animal, la ingestión debe ser medida en base al consumo de materia seca, éste consumo voluntario de alimento de los animales mantenidos al pastoreo es uno de los factores más limitantes para un adecuado desempeño productivo, debido a que el consumo de materia seca es fundamental en la contribución de la disponibilidad de nutrientes suficientes para el mantenimiento de una salud y producción adecuadas. El consumo de materia seca es afectado por muchos factores entre los que se destacan el llenado físico del rumen – retículo y factores de retroalimentación metabólica (Tarazona et al., 2012)

En relación a otras especies de rumiantes domésticos y silvestres el consumo de alimento en los camélidos es el más bajo, independientemente de la forma en la que sea expresada la ingestión de alimento (Dittmann et al., 2014). Es así, que en los camélidos la ingesta diaria de materia seca es en promedio 1.4 a 1.6 veces menos en comparación a los otros rumiantes domésticos (Dittmann et al., 2014); específicamente, al comparar la ingesta de materia seca en llamas y alpacas esta es 35% y 26% menos en comparación a la de ovinos (San Martin y Van Saun, 2014), habiéndose reportado un consumo promedio del 1.8% de materia seca en relación a su peso vivo (San Martin y Bryant, 1989)

La calidad del alimento es un factor limitante en el consumo de alimento para la mayoría de los rumiantes; sin embargo, en los camélidos no genera el mismo efecto, pues a diferencia de los otros rumiantes el contenido de fibra en la dieta, valorado por el contenido de fibra detergente neutro, no tiene relación inversa con el consumo de materia seca en los camélidos (Dittmann et al., 2014). De otra parte, la baja tasa de consumo de alimento observado en camélidos sudamericanos en comparación con otros rumiantes es también el resultado de un mucho mayor tiempo de retención de partículas en el tracto digestivo de los camélidos (Van Saun, 2006, San Martin y Van Saun, 2014) y de una adaptación metabólica que los camélidos han desarrollado como fruto de su adaptación a ambientes áridos y hostiles, lo que implicó modificaciones en su metabolismo, lo cual no sólo correspondería a la más baja emisión de metano en comparación a los otros rumiantes; sino además, en el caso específico de hembras gestantes sería debido a la muy baja tasa de crecimiento del feto en el ambiente intrauterino comparado con los demás rumiantes. También se ha indicado la gran habilidad de los camélidos para reciclar urea, mecanismo de adaptación que hace posible que sus requerimientos de energía sean menores en comparación a otras especies (Dittmann et al., 2014)

El balance energético está estrechamente relacionado al consumo de alimento; en especies como el bovino más que el ovino es posible observar balance energético negativo en el periparto, más acentuado en hembras de primer parto que en aquellas multíparas, debido a que las primeras requieren distribuir parte de los nutrientes ingeridos para su crecimiento; así mismo, cabe la posibilidad de que el balance energético se dé durante toda la etapa de transición sobre todo en aquellas hembras de primer parto, porque además de encontrarse en crecimiento requerirían de una mayor repartición de energía para el desarrollo de la glándula mamaria en comparación a las vacas adultas (Grummer et al., 2004)

El balance energético negativo en el parto, sería además debido a una disminución de la ingesta de materia seca y no exclusivamente debida al incremento de los requerimientos de energía para el crecimiento fetal (Grummer et al., 2004); o el espacio que ocupa el feto en la cavidad abdominal, que podría limitar el espacio para el volumen ruminal, lo cual no es del todo cierto toda vez que el crecimiento del feto se da a lo largo del último trimestre; mientras que, la disminución de la ingesta de materia seca ocurre las semanas finales de gestación, por lo que la capacidad física del rumen no es la causa de la disminución de la ingesta de materia seca en el parto (Park et al., 2001).

Otro aspecto que tiene influencia sobre el consumo de materia seca y como tal el consumo de energía que recae directamente en el balance energético, es el cambio en las concentraciones sanguíneas de hormonas esteroideas (Grummer et al., 2004); así el incremento de los niveles de estrógeno sanguíneo serían responsables de la disminución en la ingestión del alimento antes del parto, pues existe una correlación negativa entre la ingestión de alimento y los niveles séricos de  $17\beta$ -estradiol al final de la gestación en borregas; estrógenos que durante el período anterior al parto juegan un rol importante en el incremento de la actividad contráctil del útero y el desarrollo de la glándula mamaria (Green et al., 1994)

### **2.1.2. Requerimiento de energía en camélidos sudamericanos**

Los requerimientos de energía para camélidos sudamericanos son aún limitados, mucho más si se desea obtener requerimientos según el estado fisiológico de los animales. Los primeros alcances de requerimientos de energía para camélidos sudamericanos son resultado de procesos matemáticos de extrapolación de datos a partir de los requerimientos nutricionales de caprinos con un especial ajuste debido a más bajo requerimiento de energía en los camélidos sudamericanos en comparación a las cabras y ovejas, resultado de ello se disponen de las tablas de requerimientos nutricionales publicado en el National Research Council (NRC, 2007).

Un requerimiento promedio de energía para llamas de 72.85Kcal/Kg de peso vivo metabólico ( $pv^{0.75}$ ) fue aceptado como el requerimiento de mantenimiento por la NRC, el cual después de un ajuste en los requerimientos de energía de mantenimiento quedó en 74.00 Kcal/Kg $pv^{0.75}$ , basado en un almacenaje de energía cero. Los requerimientos de energía para

la alpaca están acorde con el modelo de la NRC, además debido a las claras diferencias en el peso vivo entre alpacas y llamas es necesario indicar que los requerimientos de energía serían especie - específicos (Van Saun, 2014).

Durante la preñez los requerimientos de energía están en función a las necesidades para el soporte fetal, placenta, útero y crecimiento de la glándula mamaria en adición a los requerimientos de mantenimiento, debido que al igual que otras especies el mayor crecimiento de la cría en el ambiente uterino se da en el último tercio de gestación es necesario incrementar el aporte de energía y según estimaciones los requerimientos para los meses 8, 9 y 10 de gestación deberían corresponder al 1.27, 1.55 y 1.92 veces más respecto del requerimiento de mantenimiento y una vez que se da el parto se debe tener en cuenta el requerimiento de energía necesario para producir un Kg de leche, este para el caso de alpacas sería de 1296 kcal EM/Kg de leche producida (Van Saun, 2014).

### **2.1.3. Valoración del estado nutricional de los animales**

La mejor medida de la adecuada nutrición de un animal es que este goce de buena salud y tenga óptimos desempeños productivos y reproductivos, pero en muchas ocasiones medidas cuantitativas son necesarias para realizar una adecuada evaluación, una forma muy práctica de evaluar el estado nutricional está relacionado al estado corporal del animal; sin embargo, son los análisis de ciertos metabolitos en sangre los que hacen posible la valoración del estatus nutricional de los animales (Van Saun y Herdt, 2014)

#### ***Calificación de la condición corporal***

El monitoreo del consumo de materia seca es un reto para la mayoría de ganaderías, siendo muchas veces imposible poder hacer su medición de manera individual, algunas veces se realiza la valoración del consumo de materia seca de manera grupal, pero aun así resulta ser un procedimiento tedioso y caro; frente a ello el uso de medidas indirectas como la valoración de la condición corporal y los cambios en la misma ayudan a estimar la cantidad de reservas de tejido adiposo y balance energético de los animales (Roche et al., 2009)

La reserva de energía más importante para la hembra que inicia la lactación, lo constituye su tejido adiposo, el cual durante procesos crónicos de déficit de energía y frente a la respuesta tisular y de hormonas clave es movilizado para mantener el equilibrio fisiológico

(homeostasis), movilizándose bajo la forma de ácidos grasos no esterificados; ésta movilización se encuentra controlada por muchos factores dentro de ellos los genéticos y la acción de las enzimas reguladas principalmente por la ingestión de alimento. La acumulación de reservas de energía durante la gestación y el uso de las mismas en el parto e inicio de la lactación es gracias a las modificaciones en el metabolismo de los lípidos, en el que se suceden cambios en los perfiles endocrinos, lipólisis y lipogénesis para incrementar las reservas de lípidos durante la preñez y el subsecuente uso de las mismas, como respuesta genética de los animales para salvaguardar la sobrevivencia del neonato (Roche et al., 2009) El uso de las reservas de almacenamiento de energía ha sido medido utilizando técnicas muy sencillas, referidas a apreciar la forma de ciertas regiones del cuerpo de los animales, en razón a que los cambios en el peso vivo no se encuentran relacionados con los cambios en el peso de los tejidos grasos. Como resultado, se han implementado múltiples sistemas que permiten apreciar de manera subjetiva los almacenes de reserva de energía que reflejan el grado de adiposidad de la hembra, estas valoraciones fueron denominadas puntuaciones o calificación de la condición corporal (Roche et al., 2009)

En la actualidad la calificación de la condición corporal, es una herramienta de manejo muy útil y práctica, ampliamente utilizada para evaluar las reservas de energía y por lo tanto el estatus nutricional; en muchas investigaciones esta herramienta es utilizada para valorar la cantidad y movilización de reservas de tejido adiposo y estatus nutricional al momento del parto y durante varios momentos de la lactación temprana con la finalidad de determinar su relación con la fertilidad, salud animal, parámetros metabólicos y producción de leche (Hoedemaker et al., 2009).

Los cambios en la condición corporal durante la lactación responden a cambios en el balance energético, y a medida que las demandas de energía superan la ingestión de energía la hembra moviliza sus reservas de lípidos y adelgaza, por lo tanto compromete su condición corporal (Banos et al., 2004), de ésta forma el comportamiento de los perfiles en la calificación de la condición corporal son inversos a los perfiles de producción de leche y alcanzan su punto más bajo cuando se produce la mayor cantidad de leche, una vez que la demanda de energía es cubierta se reponen las reservas de energía (Roche et al., 2009) y como tal hay un cambio positivo en la calificación de la condición corporal.

Como se describió en párrafos anteriores la ingesta de materia seca juega un rol muy importante en el control de la homeostasis y la movilización de las reservas de energía, pues se ha observado que hembras que llegan con una sobre condición al parto (>4puntos) tienen un menor consumo de materia seca inmediatamente después del parto, en comparación a hembras de baja condición corporal que suelen tener un mejor consumo de materia seca; además de ellos, en vacas la genética también juega un rol importante pues hay indicios de que se estaría dando una programación genética en las vacas Holstein para que éstas tengan diferentes niveles de condición corporal durante la gestación y el parto (Chevel et al., 2018). La primera especie en la que se realizó la valoración de la condición corporal fue la vaca, en un inicio la valoración sólo incluía la valoración de la región del lomo y el maslo de la cola; hoy en día, los sistemas de calificación son más acuciosos y consideran más regiones del cuerpo e incluyen el tórax, dorso, lomo, grupa, costillas, procesos espinosos de las vértebras lumbares, tuberosidades coxal e isquiática, vértebras coccígeas anteriores (maslo de la cola) y muslo (Roche et al., 2009). En alpacas y llamas se han extrapolado las escalas existentes en otras especies, con modificaciones importantes en la metodología de valoración debido a que los camélidos son especies que cuentan con una cubierta de fibra que impide valorar la condición corporal sólo por observación como el caso del vacuno, por ello en los camélidos es importante realizar la palpación de la región de las costillas, cruz, dorso, lomo y pelvis y por inspección se valoran la región del pecho y muslos (Van Saun y Herdt, 2014). Un primer sistema categorizó la condición corporal desde 1 (emaciada) hasta 10 (obesa); sin embargo, en la actualidad se ha validado el sistema de calificación de condición corporal en un rango de 1 (emaciada) hasta 5 (obesa) con puntuaciones de 0.5 (Van Saun y Herdt, 2014), indistintamente de la escala utilizada, valores bajos reflejan emaciación y valores altos equivalen a obesidad (Roche et al., 2009). En camélidos, tal como en otras especies la valoración de la condición corporal se realiza en las diferentes etapas de vida de los animales; considerando que aún hay una carencia en el conocimiento de la relación entre los almacenes de reserva de energía y los mecanismos implicados en la movilización de estos en las alpacas y llamas (Van Saun y Herdt, 2014).

### ***Análisis de metabolitos sanguíneos***

La importancia de la valoración del estatus nutricional cobra importancia desde el punto de vista que esta puede influenciar funciones corporales y metabólicas, ante ello el uso de algunos parámetros sanguíneos pueden ser usados para definir el estado de salud y balance nutricional de una animal, además es de importancia señalar que los análisis sanguíneos sin

una apropiada calificación de la condición corporal, examen del animal y evaluación nutricional no es una forma muy apropiada de valorar el estado nutricional (Van Saun y Herdt, 2014)

### ***Glucosa***

Fowler (1998), reporta concentraciones normales de glucosa en alpacas con un rango de 4.3 a 9.9 mmol/L; éste rango es el doble de lo reportado en vacunos. Altos niveles de glucosa sanguínea en relación a otros rumiantes pueden ser debidos a la resistencia a la insulina o la inhabilidad de los camélidos para cambiar su metabolismo de grasas a carbohidratos (Cebra et al., 2001).

En el período del periparto en alpacas los rangos oscilan entre 6.6 a 12.7 mmol/L, con las más altas concentraciones alrededor del momento del parto (Burton et al., 2003), es claro observar en los rumiantes que los niveles de glucosa se incrementan 2 a 3 días antes del parto, seguido por un significativo descenso los 20 días posteriores al parto (Bell, 1995).

Es posible observar un incremento en los niveles de glucosa durante la gestación a la vez que el consumo por los tejidos de la madre disminuye, debido a que el útero absorbe el 30 a 50% de la glucosa materna (Bell, 1995) y por ende las concentraciones séricas del glucosa se mantienen bajas antes del parto (Burton et al., 2003). En borregas las concentraciones de glucosa aumentan en aproximadamente el 50% durante las 3 últimas semanas de gestación, con la ocurrencia del pico al momento del parto y luego decaen las siguientes 8 semanas después del parto (Husted et al., 2008).

### ***Ácidos grasos no esterificados***

En el periparto, en respuesta a una disminución en la disponibilidad de glucosa, un incremento en la lipólisis libera ácidos grasos no esterificados (AGNE), los cuales circulan por el cuerpo y la sangre. Los AGNE pueden ser utilizados directamente como fuente de energía por varios tejidos tales como el músculo, ser utilizados para la síntesis de la leche por la glándula mamaria o ser tomados por el hígado, el cual toma del 15 al 20% de AGNE de la sangre, convirtiéndolos en cuerpos cetónicos y triacilgliceridos (McArt et al., 2013).



Las concentraciones séricas de ácidos grasos no esterificados (AGNE) por lo general son bajas durante la gestación, pero si son significativamente afectados por el nivel nutricional en la etapa final del período de gestación (Husted et al., 2008).

En un estudio llevado a cabo en alpacas para evaluar las concentraciones séricas de AGNE en el periparto, no pudieron observar un efecto significativo del parto sobre las concentraciones séricas de éste metabolito, lo cual fue atribuido al estrés provocado a los animales al momento de realizar la toma del peso vivo y la obtención de las muestras de sangre, lo que pudo provocar que los valores fluctúen (Burton et al., 2003). Debido a que el control de la lipólisis podría ser atribuida a la epinefrina, cortisol o una combinación de ambas con otros factores hormonales (Cebra et al., 2001).

### ***Beta hidroxibutirato***

Los lípidos sanguíneos que pueden ser medidos incluyen a los ácidos grasos no esterificados, los triglicéridos y el beta hidroxibutirato (BHB). Los AGNE mayormente representan la movilización de lípidos de las reservas de tejido adiposo. El BHB es un cuerpo cetónico que es un producto fisiológico de los glúcidos y lípidos, sus precursores son las grasas y los ácidos grasos de la dieta, así como los depósitos de grasa del animal (Cebra, 2014).

El BHB es un indicador indirecto de los AGNE, pero también refleja un ambiente hormonal que indica que la oxidación de la grasa hepática es incompleta en lugar de la oxidación completa o re esterificación a triglicéridos (Cebra, 2014). En camélidos en estados de ayuno, pudiendo observarse una movilización de grasas acentuada lo que incrementa las concentraciones séricas de ácidos grasos no esterificados (AGNE) hasta aproximadamente valores de 0.6 a 0.7 mEq/L; además de un incremento en la cetogénesis reflejado por un incremento en las concentraciones de beta hidroxibutirato (BHB) hasta aproximadamente 2.5 a 4.0 mg/dL sin efectos perjudiciales para la salud (Tornquist y Cebra, 2014)

## **2.2. Inmunología del periparto**

Muchos estudios han demostrado una disminución de la función inmune durante el período del periparto en vacas, pero las causas de inmunosupresión no están completamente entendidas (Waldron, 2013). Está es un área emergente de investigación dedicada a evaluar la interrelación entre las adaptaciones metabólicas y su manejo con el sistema inmune en el período del

periparto; en el cual muchos de los desórdenes metabólicos afectan sobre todo a las hembras productoras de leche y están relacionadas con el tipo de alimentación que recibe esta hembra en el periparto (Curtis et al., 1985).

La función primaria del sistema inmune es proveer de un sistema de defensa contra los organismo invasores, algunos cambios en su eficiencia pueden ser suficientes para la prevalencia de enfermedades (Drackley, 1999). Es ampliamente reconocido que el periodo del periparto es crítico para la salud, productividad y rentabilidad sobre todo en vacas lecheras, porque muchos cambios metabólicos y enfermedades infecciosas son muy comunes en éste período (Drackley, 1999; Jahan et al., 2015).

Durante el periparto, el metabolismo se ve obligado a cambiar de las demandas de preñez e incluir aquellas necesarias para la lactación, con un incremento en la demanda de nutrientes, lo que conlleva a un estado de balance energético negativo durante la lactación temprana. La falta de la disponibilidad de energía suficiente hace que la hembra en el periparto tenga una respuesta inmune deficiente, manifestada a través de una reducida capacidad de respuesta de casi todos los tipos de células del sistema inmune (Kehrli, 2015).

Se ha observado como una característica en el periparto de vacas la neutrofilia, eosinopenia, linfopenia y monocitosis (Meglia et al., 2001). Los neutrófilos son el tipo de células que están mayormente involucradas con la limpieza de bacterias después de una infección (Gilbert et al., 2005); sin embargo, durante el periodo de balance energético negativo, las vacas experimentan una reducción en la función de los polimorfonucleares, incluyendo una reducida capacidad de fagocitosis y capacidad aniquilante (Galvão, 2012; Cai et al., 1994).

Se ha observado que una disminución en las reservas de glucógeno disponible para los polimorfo nucleares es uno de los factores que median esta respuesta (Galvão et al., 2010), otros factores son un incremento en las concentraciones séricas de AGNE y BHB (Hammon et al., 2006; Galvão et al., 2010). En particular en vacas que desarrollan enfermedades uterinas tienen un pronunciado incremento de AGNE y BHB y una disminución de la fagocitosis de los patógenos por parte de los polimorfo nucleares sanguíneos (Kim et al., 2005). Elevadas concentraciones de AGNE y BHB pueden también contribuir con una disminución en las concentraciones de anticuerpos que se unen con sus antígenos (van Kneegsel et al., 2007).

### **2.2.1. El sistema inmune en alpacas**

El sistema inmune lleva a cabo dos funciones importantes con la finalidad de mantener el equilibrio fisiológico y la sobrevivencia brindando protección al organismo de patógenos ajenos, este complejo sistema está compuesto de diferentes células y moléculas inmunes, agrupadas en el sistema inmunitario innato y adquirido (Kindt et al., 2007)

El sistema inmune innato comprende todos los mecanismos de defensa que carecen de memoria y su función es proteger al cuerpo de agentes infecciosos externos, reducir el número y la virulencia de los microorganismos y coordinar las respuestas con el sistema inmune adquirido (Levy, 2007), este sistema se activa algunos minutos a horas después de la invasión de los patógenos y su principal respuesta es una inflamación aguda frente a la infección producida por los patógenos, generando la movilización de sus componentes celulares y la acción de los componentes moleculares en el tejido afectado, las células especializadas del sistema inmune reconocen diferente clase de moléculas presentes en la superficie de los patógenos lo que les permite diferenciarlas de las propias del organismo (Kindt et al., 2007; Delves y Roitt, 2000)

Los componentes celulares del sistema inmune innato se originan en la médula ósea, éstos incluyen granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), macrófagos, células dendríticas, células aniquilantes naturales y linfocitos T. Los macrófagos poseen receptores para carbohidratos que no son normalmente expuestos sobre las células de los vertebrados, tales como la manosa y por lo tanto pueden distinguir entre una molécula propia del cuerpo y una foránea (Delves y Roitt, 2000). Los macrófagos y los neutrófilos tienen receptores para anticuerpos y complemento que cubre al microorganismo y facilita su fagocitosis. Las células dendríticas están localizadas en diferentes tejidos y constantemente evalúan el ambiente para identificar agentes infecciosos cuando se encuentran por primera vez con los invasores (Woolums, 2010). Las células dendríticas, son las presentadoras de antígenos más potentes que existen, además tiene una capacidad única de activar a los linfocitos T, después de la captación de los antígenos las células dendríticas se dirigen a los órganos linfoides donde se produce la presentación de antígenos a los linfocitos T (Delves y Roitt, 2000).

Las respuestas del sistema inmune pueden ser divididas en dos tipos: innata (no adaptativa o no específica) y adaptativa o respuesta inmune específica. La respuesta innata es generalmente

efectiva sin una exposición previa al patógeno y no es alterada por una exposición repetida al agente infeccioso. La inmunidad adaptativa es específica y cuenta con memoria, así es altamente específica para un patógeno en particular y mejora con cada sucesivo encuentro con el mismo patógeno (Male, 2006).

De las células del sistema inmune, los linfocitos (B, T y NK) son las responsables de la respuesta inmune adaptativa. El mayor grupo son las células T, capaces de reconocer antígenos, pero sólo cuando presentan en su superficie el complejo mayor de histocompatibilidad. Las células B son genéticamente programadas con receptores en su superficie para un patógeno. Las células NK también tienen la capacidad de reconocer los cambios en la superficie que ocurre en las células (Dalin et al., 2004).

Otro grupo de células del sistema inmune son los fagocitos, de ellos son los neutrófilos los que se encuentran en mayor cantidad, denominados también polimorfonucleares (PMN), ellos representan la primera línea de defensa (no específica), ya que se mueven hacia el material extraño para capturarlo y destruirlo, con la ayuda de procesos tales como la quimiotaxis, adherencia, ingestión y digestión (Paape et al., 2003; Dalin et al., 2004).

### ***Características de los neutrófilos***

Los neutrófilos son leucocitos polimorfonucleares (PMN) y forman la primera línea de defensa celular contra los patógenos invasores. Su denominación “polimorfonuclear” es debida a su característico núcleo segmentado polimórficamente; la presencia de numerosos gránulos citoplasmáticos también es otra de sus características que le provee constituyentes necesarios para aniquilar a las bacterias y constituyen los grandes almacenes de glucógeno para la obtención de energía, finalmente su superficie altamente ondulada es una característica en su morfología celular usada para la fagocitosis de las bacterias y la formación de las vacuolas fagocíticas (Paape et al., 2003).

La superficie de los PMN está cubierta por numerosos receptores que tienen la finalidad de detectar los quimioatrayentes, los mismos que les permiten migrar hacia las áreas de inflamación. De su gran variedad de receptores que posee, algunos se ligan a las inmunoglobulinas y los componentes del complemento, permitiendo al PMN realizar la fagocitosis y cumplir con su función bactericida; otros en cambio, se ligan a las toxinas bacterianas y citoquinas que inician la fosforilación de la proteína tirosina para la síntesis y

expresión de la funcionalidad importante de los receptores de la superficie celular que son usados en defensa del patógeno invasor (Paape et al., 2003).

Los neutrófilos de los camélidos sudamericanos tienen una morfología similar a la mayoría de los rumiantes, presentan un núcleo segmentado, conectado por finos filamentos o constricciones; una característica particular, es la presencia de una variable proporción de neutrófilos que presentan hipersegmentación del núcleo (1-21%); a diferencia de las otras especies, los neutrófilos de los camélidos son pequeños, profusos y redondeados, además gránulos son encontrados en el citoplasma de neutrófilos maduros (Azwai et al., 2007; Hajduk, 1992). La cuenta total de neutrófilos está en un rango de 6750 a 14750 células/ $\mu$ L en la llama (Azwai et al., 2007) y de 2000 a 13300 células/ $\mu$ L en la alpaca (Hajduk, 1992), valores que son significativamente mayores a los reportados en los otros rumiantes de granja (Foster et al., 2009)

La característica principal de respuesta de la inmunidad innata después de la invasión de patógenos es desencadenar una respuesta inflamatoria aguda. Las proteínas del complemento cubren la superficie de los patógenos y también sirven como quimioatrayentes de neutrófilos. La permeabilidad es incrementada debido a la liberación de histamina y las proteínas de complemento. En paralelo, las sustancias liberadas por los patógenos y el daño tisular regulan la expresión de adhesión de las moléculas sobre el endotelio inflamado, las células alertadas, como los neutrófilos, se hacen presentes en la infección. Los neutrófilos circulantes reconocen la adhesión de moléculas, expresada sobre la superficie del endotelio a través de su receptor L-selectina (CD62L) iniciando el proceso sólo rodan alrededor de la pared del vaso e iniciando su activación. Una vez activados por los quimioatrayentes, los PMN rápidamente liberan CD62L de su superficie y la reemplazan con otra molécula de adhesión denominada  $\beta$ -integrina (CD18). Esta se une principalmente a la molécula – 1 sobre el endotelio inflamado bajo la influencia de mediadores inflamatorios. Los neutrófilos activados pasan a través de la pared de los vasos sanguíneos, guiados por el gradiente quimiotáctico para acumularse en el lugar de infección, donde se ubican para fagocitar a los patógenos y aniquilarlos por producción de moléculas intracelulares tóxicas incluyendo especies reactivas de oxígeno, radicales hidroxilo, ácido hipocloroso, óxido nítrico, péptidos y proteínas catiónicas antimicrobiales y lisozimas (Delves y Roitt, 2000; Ley et al., 2007)

### ***Quimiotaxis de neutrófilos***

La quimiotaxis es movimiento de las células en respuesta a señales químicas liberadas en un tejido afectado, estas señales son conocidas bajo el nombre de quimioatrayentes, como las quimioquinas; los quimioatrayentes son inmovilizados en la vasculatura por glicosaminoglicanos (GAG) o sulfato de heparán y extravascularmente pueden unirse a la matriz extracelular y guiar la migración de los neutrófilos hacia los lugares de lesión (Petri y Sanz, 2018). Los neutrófilos responden a múltiples quimioatrayentes que se secretan de diferentes fuentes, estos son de una gran diversidad química y en función a ella pueden dividirse en cuatro familias: lípidos, péptidos N-formilados, anafilotoxinas complementarias y quimioquinas (McDonald y Kubes, 2011).

Los lípidos quimioatrayentes son mayormente eicosanoides derivados del ácido araquidónico; estos no se encuentran almacenados, más bien son rápidamente sintetizados después de una activación; una vez que el ácido araquidónico es liberado a través de una acción de la fosfolipasa citosólica A2, este puede ser metabolizado por múltiples rutas. El más potente lípido quimioatrayente es el leucotrieno B4 (LTB4), otro lípido quimioatrayente relevante es el PAF, ambos a través de su interacción con sus receptores activan y polarizan los neutrófilos, particularmente vía protein quinasa C. Del grupo de los N-formilados, la molécula más representativa es la N-formil-L-metionil-1-leucocil-1-fenilalanina (FMLP) producida por la bacteria; como el péptido N-formil se encuentra en la mitocondria bacteriana puede funcionar como un quimiotáctico asociado a daño molecular, de esta manera promueve la quimiotaxis de los neutrófilos *in vivo* e *in vitro* y del grupo de las anafilotoxinas, el C5a es el más potente quimioatrayente (Petri y Sanz, 2018)

Las quimioquinas son citoquinas con actividad quimiotáctica (Petri y Sanz, 2018). Estas son moduladores clave de la inflamación, participan en la inflamación aguda y crónica vía una compleja y algunas veces contradictoria red de interconexiones. Es posible clasificar a las citoquinas en base a su respuesta inmune y la actividad que realizan en células específicas; las citoquinas desarrollan funciones específicas dependiendo del tipo y localización de las células. Las citoquinas pro inflamatorias claves son la interleucina-1 (IL-1), IL-6 y el factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ), todas ellas ejercen su acción vía señalización de los receptores de citoquina tipo I, estructuralmente diferentes de los receptores de otras citoquinas; en contraste, la citoquina pro inflamatoria crítica IL-8, realiza su señalización vía receptores acoplados a la proteína G ubicada en la membrana celular (Turner et al., 2014)

Los quimioatrayentes de neutrófilos transmiten sus señales a través de la interacción con receptores acoplados a proteínas G expresados en las superficies celulares, de esta forma estimulan la quimiotaxis de los neutrófilos que está conformada por tres diferentes eventos; primero se detecta una gradiente del quimioatrayente, ésta sustancia interactúa con su receptor en la superficie de los neutrófilos; luego se da la polarización celular y finalmente la motilidad celular, estos dos últimos eventos conllevan a un reordenamiento del citoesqueleto y con ello el cambio de forma de la célula, de redondeada a elongada con pseudópodos en la parte delantera que ayudan al movimiento progresivo y unos urópodos en la parte posterior, lo que les permite moverse tanto en el espacio intravascular como extravascular a lo largo de una gradiente de concentración (Petri y Sanz, 2018)

En la microvasculatura venosa postcapilar, los neutrófilos se someten a una cascada de reclutamiento orquestada para migrar a lo largo de un gradiente quimiotáctico al sitio de la lesión tisular. El endotelio activado expresa selectinas que al enganchar sus ligandos a los neutrófilos, facilitarán el anclaje inicial y la elongación. Los neutrófilos son capaces de detectar quimioquinas y otras moléculas derivadas de lesiones que son detectadas en el endotelio por los glicosaminoglicanos (GAG), receptores de membrana hepato compartidos como receptores de antígeno para quimioquinas (DARC), así como proteoglicanos de sulfato de heperanos (HSPG). La activación a través de la interacción del receptor acoplado a la proteína G (GPCR) genera señales de entrada y salida que lideran la activación de la integrina y la adhesión firme. Los neutrófilos se arrastran después de una manera dependiente a lo largo de un gradiente de quimioquinas intraluminal a un sitio de trans migración óptimo para atravesar las barreras de la pared del vaso venular y seguir. Una vez dentro del tejido, los neutrófilos migran de manera quimiotáctica, necrotáctica y haptotáctica hacia el sitio de la lesión (Petri y Sanz, 2018; Turner et al., 2014).

### *Interleucina-8*

La interleucina-8 (IL-8) también conocida como CXCL8, es una de las citoquinas más ampliamente estudiada y es un mediador inflamatorio importante, ésta fue originalmente identificada por su rol en la quimioatracción de los neutrófilos por lo cual fue denominada factor quimiotáctico de neutrófilos (NCF) y proteína activadora de neutrófilos (NAP-1). Su función principal es el reclutamiento de los neutrófilos, aunque también es responsable de la migración quimiotáctica y la activación de los monocitos, linfocitos, basófilos y eosinófilos, conduciéndolos hacia el lugar de inflamación. Aunque la IL-8 puede unirse a

ambos receptores CXCR1 y CXCR2, se ha reportado que su señalización quimiotáctica es principalmente vía CXCR1; después de su unión a los receptores un número de señales en cascada son activadas dentro de las células para inducir la quimiotaxis y la degranulación. Estas cascadas son iniciadas principalmente vía la activación de las proteínas G intracelulares que dan por resultado la disociación de la proteína del receptor y la separación de las sub unidades  $G\alpha$  y  $G\beta\gamma$ . Las subunidades de la proteína G luego estimulan las enzimas adenilato ciclasa o fosfolipasa C que pueden activar la señalización de MAPK y cambiar la expresión génica para promover la supervivencia, proliferación e inflamación celular; de otra parte, la Il-8 vía señalización de fosfatil inositol 3 kinasa (PI3K) estimula la liberación de los almacenes de calcio intracelular que estimulan la degranulación, éstos gránulos contienen muchas moléculas efectoras, tales como proteínas mieloperoxidasas antimicrobiales, defensinas y lisozimas. Además la asociación entre MAPK y PI3K inducen la expresión de la adhesión de moléculas tales como las integrinas y Mac-1 que son requeridas para la quimiotaxis; de ésta manera la Il-8 media el reclutamiento y la activación de los neutrófilos vía un complejo mecanismo de señalización y adhesión extracelular de moléculas (Turner et al., 2014)

### ***Inhibición de la quimiotaxis de los neutrófilos***

La quimiotaxis de los neutrófilos puede ser limitada o alterada, este fenómeno no está del todo esclarecido; sin embargo, hallazgos en la actualidad indican que las quimioquinas encargadas de activar el movimiento de los neutrófilos hacia el lugar de afección pueden tener una acción contraria y actuar como quimio repelentes, esta acción se da cuando estas sustancias se encuentran en altas concentraciones, de ésta manera alteran la respuesta de los neutrófilos. La alteración de la quimiotaxis por esta acción anti quimiotáctica sería debida a una disminución de CXCR1 (uno de los principales receptores de IL-8) en la superficie celular de los neutrófilos. Otros eventos que propician la migración reversa o detienen la migración de los neutrófilos serían debidos a la endocitosis de las quimioquinas por las células endoteliales e interferencia de la unión de las quimioquinas con los glucosaminoglicanos (GAGs) cuya función es la inmovilización de las quimioquinas (Petri y Sanz, 2018).

### ***Fagocitosis***

La fagocitosis es un activo proceso mediado por receptores en el que una célula internaliza un organismo objetivo. Éste proceso requiere el reordenamiento del citoesqueleto, en el que



la membrana plasmática del fagocito se extiende alrededor de su objetivo, iniciando un proceso que eventualmente crea una vacuola unida a la membrana, denominada fagosoma. Aunque los macrófagos y los neutrófilos son fagocitos profesionales y usan similares mecanismos de internalización de objetivos, hay diferencias en como realizan la fagocitosis y el resultado final del proceso. El mecanismo de fagocitosis usado por ambos tipos de células incluye la extensión de pseudópodos los cuales envuelven los agentes objetivos IgG opsonizados; pero a diferencia de un macrófago, el neutrófilo no demora más de 20 segundos en engullir una molécula o microorganismo objetivo marcado por opsonización, procedimiento que a un macrófago le toma varios minutos; esta rapidez en la ejecución de la fagocitosis por parte de los neutrófilos puede ser debida a una más sencilla maduración del fagosoma y a que contiene un gran número de gránulos preformados que rápidamente se fusionan con los fagosomas (Nordenfelt y Tapper, 2011).

Los neutrófilos pueden secretar moléculas efectoras en el ambiente extracelular y en los fagosomas. Estos procesos involucran la formación de vesículas secretorias y muchos diferentes tipos de gránulos citoplasmáticos, los cuales contienen una abundante cantidad de moléculas efectoras. En adición, la activación del complejo NADPH oxidasa en los neutrófilos genera especies reactivas de oxígeno (ROS), involucrados en la precisa regulación de la fusión de los componentes de los gránulos con el fagosoma y/o la membrana plasmática. Una precisa regulación de la programación y orientación asegura la liberación eficiente de los gránulos contenidos y previene el daño tisular del hospedero (Nordenfelt y Tapper, 2011).

Un rasgo característico de los neutrófilos es la abundancia de un variable tamaño de sus gránulos; éstos hacen a los neutrófilos parte de la familia de los granulocitos que también incluyen a los eosinófilos y basófilos, células inmunes menos abundantes. Los gránulos de los neutrófilos se pueden dividir en tres diferentes tipos: los primarios peroxidasa positivos o gránulos azurófilos, los secundarios o gránulos específicos y los terciarios o granulos gelatinasa. Los gránulos azurófilos contienen muchas sustancias antimicrobiales y son considerados los más potentes de los tres tipos de gránulos; éste tipo de gránulos incluyen varias clases de enzimas líticas y defensinas, éstas pueden alcanzar una muy alta concentración en los fagosomas después de su liberación; la muerte de las bacterias se produce presumiblemente debido a que éstos péptidos hacen poros en la membrana bacteriana. El cuándo y el donde responden los neutrófilos, son en parte determinados por la

movilización y orientación diferencial de los diferentes tipos de gránulos, los más fácilmente movilizables son las vesículas secretorias y sus contenidos son importantes en las fases iniciales de inflamación debido a que poseen múltiples receptores de membrana asociados, los cuales están involucrados en la interacción patógeno – hospedero. Luego los gránulos gelatinasa son secretados a medida que los neutrófilos se extravasan en el tejido y se arrastran hacia el sitio de inflamación. Los gránulos gelatinasa contienen receptores involucrados en la migración dirigida y enzimas que degradan ECM (Nordenfelt y Tapper, 2011).

### **2.2.2. Pruebas de evaluación del sistema inmune**

Es probable que los nutrientes influyeran muchos si no es que todos los aspectos del sistema inmune. Así, son múltiples y complejos métodos para la valoración de la función inmune, dependiendo de las condiciones experimentales, la disponibilidad de facilidades analíticas y del interés de los investigadores (Field, 1996).

Las medidas clásicas de funcionalidad *in vivo* incluyen: (1) medida de la respuesta a la hipersensibilidad retardada por valoración en la piel; (2) títulos de anticuerpos séricos o de la inmunidad humoral en respuesta a inmunización primaria o secundaria; (3) niveles sanguíneos de diferentes grupos de linfocitos como también las concentraciones séricas de citoquinas y otros mediadores inmunes; (4) el peso de los órganos linfoides; y (5) morbilidad y recuperación de enfermedades infecciosas (Li et al., 2007).

Las pruebas *in vitro* de valoración de la función inmune a menudo consisten en: (1) el metabolismo de los inmunocitos; (2) blastogénesis linfocitaria (proliferación celular) en respuesta a la citogénesis; (3) morfología celular y apoptosis, (4) fagocitosis de partículas; y (5) la producción de anticuerpos, citoquinas y sustancias citotóxicas de bajo peso molecular (Li et al. 2007).

El uso de los lipopolisacáridos (LPS) en pruebas *ex vivo* de estimulación de sangre entera, es otro método que resulta ser eficiente en la evaluación de la capacidad secretoria de citoquinas por los leucocitos y establece una valoración rápida de la respuesta inmune. La prueba cutánea de la carragenina, muy sencilla en su ejecución, puede ayudar a evaluar la diapédesis y los cambios en la función de los leucocitos; ambas constituyen herramientas de investigación para evaluar la funcionalidad del sistema inmune de vacas en el parto (Jahan et al., 2015).

### **2.2.3. Efecto de la condición corporal sobre la respuesta inmune**

Los neutrófilos representan la primera línea de defensa del organismo frente a agentes extraños; pero su función es alterada alrededor del parto, el mismo que produce muchos cambios metabólicos, fisiológicos e inmunes alterando la habilidad de los neutrófilos para proveer de una efectiva respuesta inmune frente a una infección, esta incapacidad está cada vez más relacionada con la nutrición en el periparto (Crookenden et al., 2017), pues el cambio en el estatus nutricional y la pérdida en condición corporal producen la alteración de la función inmune innata reduciendo la capacidad de defensa del organismo contra enfermedades (Chebel et al., 2018).

Reportes previos indican que el cambio en la condición corporal es consecuencia de un insuficiente aporte de energía en la dieta y una disminución en la ingesta de materia seca, lo cual está asociado con la movilización de lípidos (Grummer et al., 2004). La hidrólisis del tejido adiposo, específicamente los triacilglicéridos genera un incremento en las concentraciones séricas de ácidos grasos no esterificados (AGNE) (Graugnard et al., 2012; Grummer et al., 2004), éstos son captados y oxidados por el hígado produciendo los cuerpos cetónicos como el  $\beta$ -hidroxibutirato (Graugnard et al., 2012), que incrementa su concentración en plasma en respuesta a un desbalance de energía; tanto el  $\beta$  – hidroxibutirato (BHB) como otras cetonas han demostrado afectar importantes funciones de las células inmunes, haciendo más susceptible a la hembra de sufrir algunas enfermedades uterinas; ésta disminución de la función de los polimorfo nucleares (PMN) inicia antes del parto, alcanza su valor más bajo muy cerca del parto y se extiende durante la lactación temprana, para recuperar su normal función a las seis semanas posparto (Hammon et al., 2006; Graugnard et al., 2012).

La alteración de la función inmune sería consecuencia de una insuficiente fuente de energía para los polimorfo nucleares, así lo demostró un estudio realizado por Galvão et al. (2010), quienes observaron que existe una disminución en las concentraciones de glucógeno en los PMN en todas la vacas entre la primera y la tercera semana pos parto, lo que provocaría que los PMN tengan una ineficiente respuesta frente a la contaminación bacteriana, haciendo al animal más susceptible de enfermarse. Estas reservas de glucógeno en los PMN están estrechamente relacionadas con las concentraciones séricas de glucosa, las que pueden incrementarse alrededor del parto como consecuencia de un incremento en las concentraciones séricas de

cortisol que podría inducir la glucogénesis en hígado pero la elevación del cortisol puede contrariamente también afectar la función inmune deprimiéndola (Galvão et al., 2010).

El incremento de las concentraciones séricas de cortisol contribuiría en la disminución de la actividad de los PMN debido a que propicia una reducción de la actividad quimiotáctica y la habilidad migratoria de los PMN, tal incremento se daría al momento del parto y perduraría hasta los dos días posteriores a este, esta elevación además de alterar la capacidad migratoria también incrementaría el tiempo de vida de los PMN (Pathak et al., 2015), acompañado de otros cambios dramáticos en los patrones de tránsito de leucocitos, incluyendo un incremento en el conteo celular y un incremento en la proporción de células inmaduras; además, paralelamente la capacidad quimiotáctica y la capacidad oxidativa son alteradas (Graunard et al., 2012).

En ciertas ocasiones, a pesar de que las hembras ingieren dietas con diferente contenido energético en el pre parto, no se observan diferencias significativas en las concentraciones séricas de AGNE en el posparto entre hembras que reciben raciones altas en energía respecto de aquellas que consumen una dieta isoenergética; además, no es posible distinguir la existencia de algún grado de cetosis entre ambos grupos de vacas; ésta similitud en las concentraciones de AGNE entre vacas sobrealimentadas y las que reciben una ración que cubre sus requerimientos energéticos no afecta la capacidad quimiotáctica de los PMN, muy por el contrario estas pequeñas diferencias en el contenido de AGNE entre ambos grupos de vacas si afecta la capacidad fagocítica que es mayor en las vacas sobre alimentadas (Graunard et al., 2012). Esta mayor actividad fagocítica sería consecuencia de una mayor concentración sanguínea de glucosa, que es la principal, sino la única fuente de energía utilizada por los PMN y macrófagos para la fagocitosis (Moyes et al., 2009); pues se sabe que la glucosa es el combustible preferido por las células inmunes más que los aminoácidos, cuerpos cetónicos o ácidos grasos, (Graunard et al., 2012). Es por esta razón que cuando se elevan las concentraciones séricas de BHB disminuye la capacidad quimiotáctica (Moyes et al., 2009)

Las diferencias en el contenido de energía en la dieta o el cambio en la condición corporal, además de propiciar la producción de metabolitos que afectan la capacidad inmune, también juegan un rol importante en la inmuno-modulación (Lange et al., 2016), pues tanto el cambio en el peso vivo como en la condición corporal afectan la regulación transcripcional de los neutrófilos, lo que refleja el potencial rol de la dieta preparto para modificar los cambios en la función neutrófilo durante el periparto y la programación de éstas células para retornar a su

función normal, de esta forma la nutrición durante la transición podría afectar la expresión de los genes involucrados en la adhesión y migración de los neutrófilos, mediación de la respuesta inmune, duración de la vida media y acción antimicrobiana (Crookenden et al., 2017)

### **2.3. Factores nutricionales que afectan la reproducción en la alpaca**

Por mucho tiempo se pensó que las alpacas y las llamas pertenecían al grupo de hembras de estacionalidad reproductiva; sin embargo, hoy en día se sabe que no son estacionales, ya que la actividad ovárica folicular ocurre a lo largo de todo el año y no es dependiente de la estación del mismo, fotoperíodo, temporada de lluvias o temperatura, pues estos factores ambientales no afectan el desarrollo folicular o la presencia de folículos de un diámetro mayor a 6 mm (Bravo y Sumar, 1989). Sin embargo, el apareamiento y parto usualmente están circunscritos a la época de lluvias en los que la temperatura ambiental es más favorable en los Andes Peruanos, además de una mayor abundancia y mejor calidad de alimento (Fernandez –Baca, 1993; San Martín y Van Saun, 2014).

Los camélidos no tienen un ciclo estral regular como las especies de ovulación espontánea y por lo tanto no muestran los distintos período del ciclo estral (Vaughan, 2011); por ello en camélidos es preferible referirse a la actividad ovárica en términos de fase folicular o fase luteal (Aba, 2014). Ambas fases de la actividad ovárica afectan el comportamiento reproductivo de las hembras, siendo éstas receptivas al macho durante la fase folicular, cuando los niveles de estradiol están altos y los niveles de progesterona son basales; el tiempo que toma la hembra para adoptar la posición decúbito esternal, con el cual la hembra demuestra la receptividad sexual no es un indicador confiable de las concentraciones plasmáticas de estradiol o del diámetro folicular (Vaughan, 2011).

Posterior a la cópula la cual induce la ovulación, se da el desarrollo del cuerpo lúteo acompañado de un marcado incremento en los niveles séricos de progesterona, dando por resultado la fase luteal; en esta fase las alpacas manifiestan su comportamiento por un consistente rechazo al macho cuando este se coloca al lado de ellas, huyen frente al intento de monta, propician coceadas y escupitajos al macho (Vaughan, 2011).

En un intento por explicar la continua receptividad de la hembra, se ha propuesto que la sobreposición de las ondas de crecimiento folicular mantienen las concentraciones

sanguíneas de estradiol a un nivel suficiente para mantener la receptividad sexual (Vaughan, 2011). En esta superposición de las ondas foliculares un nuevo folículo emerge e inicia su crecimiento antes del final de la regresión del folículo dominante, produciendo la coexistencia de folículos regresionando y creciendo por varios días (Aba, 2014). Si ocurre una asincronía entre dos ondas de desarrollo folicular sucesivas, las concentraciones de estradiol pueden caer lo suficiente para disminuir la receptividad sexual y estas hembras manifiestan su comportamiento a través de una indiferencia frente al macho más que un comportamiento no receptivo o de rechazo (Vaughan, 2011).

Durante las ondas de desarrollo folicular en camélidos se pueden distinguir cuatro tipos de folículos: folículos pequeños en crecimiento, folículos maduros pre ovulatorios, folículos en regresión y algunos folículos grandes anovulatorios (Hoffman, 2006; Aba, 2014). Una relación inversa entre el diámetro del folículo y el número total de folículos detectados en los ovarios indican que el crecimiento folicular en alpacas ocurre en ondas (Vaughan et al, 2004). En alpacas la emergencia de una onda folicular es caracterizada por la aparición de numerosos folículos antrales (3 mm) seguido por el continuo crecimiento de usualmente un folículo (folículo seleccionado), pero algunas veces crecen dos o tres folículos (con un diámetro mayor de 3-5mm), el folículo seleccionado se convierte en dominante y continua creciendo hasta alcanzar su tamaño ovulatorio ( $\geq 6\text{mm}$ ); mientras que, los otros en la cohorte denominados folículos subordinados regresionan por atresia. Si se produce la cópula el folículo maduro ovula y da lugar a la formación del cuerpo lúteo; mientras que, si no hay cópula el folículo inicia su regresión (Vaughan et al, 2004).

Estas características de crecimiento y regresión continuos en la onda folicular de los camélidos sudamericanos han sido divididas en tres fases. La fase de crecimiento, en la que se da el desarrollo de los folículos, esta fase en alpacas y llamas toma alrededor de 5-9 días. La fase de maduración o estática, cuando los folículos alcanzan el tamaño preovulatorio de 6-12mm, esta fase es mantenida por 2-8 días. La fase de regresión, en la que los folículos que no ovularon inician su regresión, esta fase tiene una duración 3-8 días (Vaughan, 2011). La existencia de un folículo regresionando por atresia a lo largo de 3-8 días permite la emergencia de una nueva cohorte de folículos 2-3 días después de la primera disminución del tamaño del folículo dominante. El crecimiento de nuevos folículos y la regresión de grandes folículos pueden superponerse por 1-4 días en alpacas y llamas, debido a ello y en ausencia de ovulación se podría esperar encontrar un folículo de 6-7mm en cualquier

momento de la onda folicular. Las ondas foliculares se mantienen activas durante la lactación, en ésta etapa el diámetro máximo de los folículos es mucho menor en comparación al diámetro de los folículos de alpacas que no están produciendo leche; de similar manera, el intervalo inter onda es menor en alpacas en lactación. La duración del intervalo inter-onda en las alpacas es de 10-22 días, se ha atribuido que la mayor duración del intervalo está asociado con el mayor diámetro máximo del folículo ovulatorio suponiendo que este se mantiene funcional por más tiempo (Vaughan, 2011)

La copula es importante en los camélidos, debido a estimula la liberación de LH requerida para la ovulación, este estímulo es mucho más necesario que la retroalimentación del estrógeno folicular, de allí que la cópula es referida como inducción o reflejo de ovulación. La cópula se da en posición decúbito ventral con una duración promedio de 15-20 minutos, el tiempo de cópula no está relacionado con la inducción de la ovulación o con la tasa de fertilidad de las alpacas (Vaughan, 2011).

El plasma seminal que las alpacas y llamas depositan al interior de los cuernos uterinos durante la copula, posee el denominado factor inductor de la ovulación, el cual ha demostrado no sólo provocar la ovulación en alpacas y llamas sino también tiene efectos luteotrópicos cuando es administrado por vía intramuscular o intrauterina; éste componente tienen una secuencia de aminoácidos idéntica al factor de crecimiento nervioso  $\beta$  ( $\beta$ -NGF), el cual por si sólo puede producir la ovulación (Berland et al., 2016). Este factor de ovulación más la estimulación mecánica de la cervix por el pene durante la cópula, son los principales responsables para el reflejo neuro endocrino de la ovulación, los cuales presumiblemente dan por resultado una repentina y gran liberación de GnRH; otros estímulos como el visual, auditivo, olfatorio, físico y feromonal incluyendo la vocalización del macho también contribuyen a las señales nerviosas, tal es así que es posible que hembras que no están siendo apareadas pero se encuentran al costado de un par que está apareándose pueden ovular sin cópula (Vaughan, 2011)

El primer incremento de LH en alpacas y llamas ocurre entre 15-40 minutos después del inicio del apareamiento y el pico ocurre entre las 2-3 horas post apareamiento; el aumento de LH provoca el reinicio de la meiosis en el ovocito, desagrega la cohesividad de las células del cúmulus, propicia la ruptura de la pared folicular para la liberación del complejo cúmulos-ovocito y disminuye las concentraciones séricas de estradiol. La habilidad de

ovulación en respuesta a la cópula depende parcialmente del diámetro y estado de desarrollo de los folículos dominantes al momento del apareamiento; folículos con un diámetro menor a 6mm tienen fallas en la ovulación; mientras aquellos que miden entre 6-15 mm son capaces de ovular, principalmente cuando se encuentran en la fase de crecimiento e inicio de la fase estática. El intervalo entre el apareamiento y la ovulación es aproximadamente de 30 horas con un rango de 24-36 horas (Vaughan, 2011); el rango de tiempo a la ovulación no varía aun dependiendo del mecanismo utilizado para provocar la misma, pues en un estudio realizado por Ratto et al. (2006) el tiempo entre el apareamiento y la ovulación fue de 29-30 horas indistintamente si se utilizaron hormonas exógenas (LH, GnRH) o monta natural para provocar la ovulación.

El cuerpo lúteo se forma después de la ovulación, primeramente la cavidad folicular es llenada con sangre para formar el cuerpo hemorrágico y 2 a 5 días después del apareamiento el cuerpo lúteo se desarrolla en el lugar en el que se produjo la ovulación, este desarrollo es asociado con un incremento en los niveles de progesterona plasmática entre los 4-6 días después del empadre (Ratto et al., 2006). La neo formación del cuerpo lúteo puede ser claramente detectada por laparoscopia 3 a 4 días después del apareamiento en alpacas y con ultrasonografía 4 a 5 días después del apareamiento. El tamaño máximo del cuerpo lúteo es de 12 a 14 mm en el día 8 o 9 después del apareamiento, después de este tiempo su tamaño disminuye rápidamente en animales que no preñan. La regresión completa del cuerpo lúteo ha sido reportada entre 15 y 18 días pos cópula. En animales que preñan el diámetro máximo es de aproximadamente 16 mm y puede ser observado a los  $21.4 \pm 1.2$  días (Aba, 2014).

Ha sido demostrado que el cuerpo lúteo es necesario para el mantenimiento de la preñez durante toda la gestación. Una estrecha relación es observada entre los cambios morfológicos del cuerpo lúteo detectado por ultrasonografía y los cambios de concentración de progesterona plasmática excepto durante la luteolisis cuando disminuye la progesterona 1 a 3 días después de que los cambios morfológicos son detectados (Aba, 2014).

Respecto del efecto de la calificación de la condición corporal, dos puntos a considerar son de importancia; el primero de ellos hace referencia a la calificación de la condición corporal en un momento dado y el segundo hace referencia al cambio en la condición corporal durante un determinado período de tiempo, según Domecq et al. (1997), el segundo aspecto es uno de los más influyentes sobre el desempeño reproductivo, demostrando que la valoración de



la condición corporal al momento del parto no guardaba relación con el número de servicios por concepción; sin embargo, la magnitud en la que se da la pérdida en la condición corporal entre el parto y el primer servicio puede afectar negativamente la tasa de concepción por diferentes fallas al primer servicio más aún en hembras con más de un parto; reportes como éste, dejan en evidencia que el balance energético durante el período seco y el inicio de lactación son importantes para obtener adecuadas tasas de concepción al primer servicio (Chevel et al., 2018; Roche et al., 2009; Domecq et al., 1997), aunado a ello la condición corporal de los animales y su variación en un período de tiempo como la lactación temprana tiene una gran probabilidad de estar relacionado con las enfermedades metabólicas (Roche et al., 2009).

El adecuado balance energético reflejado por concentraciones homeostáticas de insulina y glucosa, permite que una hembra pueda tener una involución uterina completa, ovular un folículo dominante en el post parto temprano y continuar teniendo ciclos estrales normales (Roche, 2006). El retraso en el reinicio de la actividad ovárica en el post parto es asociado con un pronunciado balance energético negativo (BEN) en el período del post parto temprano (Butler, 2003) y como tal un cambio en la condición corporal debido a la pérdida de la misma al inicio de la lactación. La mejora del desempeño reproductivo durante éste período crítico, es necesario no sólo para permitir que la hembra llegue a ovular un ovocito competente, sino además debe proveer un ambiente uterino favorable para la fertilización y desarrollo embrionario y fetal (Pursley y Martins, 2011).

El BEN puede tener efectos severos sobre los folículos en desarrollo que para el caso de los bovinos toman al menos 60 a 80 días de crecimiento desde sus estados pre antrales tempranos (folículo primario o secundario) hasta alcanzar su tamaño maduro y estar listos para la ovulación; si durante éste período de tiempo los folículos son expuestos a condiciones adversas tales como balance energético negativo severo, estrés calórico o enfermedades pos parto, podrían afectar la expresión génica; dando por resultado, daño o alteración en el desarrollo del ovocito, que podría generar la formación de folículos maduros disfuncionales, los cuales producirían ovocitos pobres, además de la formación de un cuerpo lúteo debilitado. Ello, debido a que los folículos pre antrales en desarrollo son altamente activos en términos de síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, también es durante éste período de tiempo que el número de células de la granulosa alrededor del ovocito incrementan linealmente, lo mismo que las células de la teca (Britt, 1992).

Ambos grupos de células cumplen un rol importante en la regulación del crecimiento folicular mediante acciones autocrinas y paracrinas, a través de una fina coordinación en la actividad celular requerida para la biosíntesis de hormonas bajo el control de las gonadotropinas, de ésta forma las células de la teca sintetizan andrógenos que son el sustrato para la secreción de estradiol, gracias al proceso de aromatización que sufren en las células de la granulosa; esta perfecta coordinación se da gracias a la acción parácrina de los andrógenos sobre las células de la granulosa que controlan la esteroidogénesis inducida por la FSH; en una acción recíproca el estradiol por su parte estimula la producción de androstenediona por las células de la teca y disminuye la producción de progesterona (Allegrucci et al., 2003)

Ésta acción de las células de la granulosa pueden ser seriamente afectada por cambios en la dieta, pues cuando las hembras reciben una dieta que contiene el doble de los requerimientos de mantenimiento se incrementan las concentraciones circulantes de insulina e IGF-I, éste incremento está asociado con un incremento en el número de pequeños folículos y el potencial de las células de la granulosa para secretar estradiol, en este efecto las concentraciones de FSH circulante no tienen un papel importante. El rol de la insulina y la IGF-I en la regulación del reclutamiento de folículos y diferenciación de las células de la granulosa corresponden a cambios en la concentración de los componentes del sistema IGF-I en el fluido folicular, lo cual se cree altera la sensibilidad o respuesta de los folículos a la FSH; por lo tanto, contribuyen directamente a los cambios en el número y tamaño de los folículos y afectan el potencial esteroidogénico de las células de la granulosa de los pequeños folículos (Armstrong et al., 2002)

Después del parto se reinicia la actividad ovárica, explícitamente el desarrollo folicular en respuesta a una elevación en las concentraciones plasmáticas de FSH independientemente del balance energético negativo, éste estado fisiológico de sub nutrición al que se enfrenta la hembra al inicio de la lactancia, afecta la secreción de LH e interfiere en los normales procesos de ovulación; además la baja disponibilidad de energía durante el balance energético negativo reduce la respuesta ovárica a la estimulación de LH, afectando el crecimiento folicular y la secreción de estrógeno (Butler, 2003). En camélidos, específicamente en llamas que son sometidas a restricción nutricional se observan respuestas similares en las que una disminución en el aporte energético suprime el desarrollo folicular y del cuerpo lúteo, además generan muy bajas concentraciones plasmáticas de progesterona

y leptina (Norambuena et al., 2013); sin embargo estas diferencias en el desarrollo y el estado nutricional de las alpacas antes de la temporada de apareamiento no genera ningún efecto en la eficiencia reproductiva de alpacas (Norambuena et al., 2018)

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Efecto de la condición corporal sobre la capacidad inmune**

##### **3.1.1. Lugar experimental y tratamientos**

###### ***Lugar experimental***

El experimento fue conducido desde diciembre del 2016 a enero del 2017 en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano (Umachiri, Melgar, Puno, Perú) ubicado en las coordenadas geográficas 14°47'37" latitud sur y 70°47'50" longitud oeste, a una altitud de 3974m.s.n.m., a la altura del Km 1200 de la carretera Puno – Cusco. El análisis de metabolitos fue realizado en el laboratorio de sanidad animal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA, La Molina, Lima, Perú).

###### ***Animales***

Alpacas multíparas preñadas (n=45) de la raza Suri fueron utilizadas en el estudio, asignadas según su condición corporal a cada uno de los tres tratamientos aproximadamente 4 semanas antes de la fecha esperada de parto. Para el presente experimento la sincronía de los partos fue esencial, debido a que no debería haber una diferencia mayor a dos días en el momento de la ocurrencia de los partos entre las hembras a evaluar, debido a que las evaluaciones de la capacidad inmune se realizaron a intervalos exactos de 07 días, por ésta razón diferente número de animales fueron excluidos de cada grupo experimental: 04 en el grupo de condición corporal alta, 07 en el grupo de condición corporal media y 05 en el grupo de condición corporal baja, los cuales parieron fuera del margen de tiempo necesario; por lo que finalmente el número de animales en cada uno de los tratamientos fue CCA: n=11; CCM: n=08; CCB: n=10.

###### ***Tratamientos***

Según la condición corporal de las alpacas en el preparto las hembras fueron asignadas a uno de los tres tratamientos: Tratamiento condición corporal baja (CCB, n=15), tratamiento condición corporal media (CCM, n=15) y tratamiento condición corporal alta (CCA, n=15). En CCB se incluyeron las hembras con condición corporal menor a 2.5 puntos, en CCM

aquellas que tuvieron una condición corporal entre 2.5 y 3.5 puntos y en CCA se consideraron las hembras con condición corporal mayor a 3.5 puntos, en base a la escala de 5 puntos (desde 1: extremadamente delgada hasta 5: obesa) descrita por Van Saun y Herdt (2014). El rango entre puntos fue dividido cada 0.25 puntos.

### **3.1.2. Determinación de la condición corporal**

La calificación de la condición corporal (CCC) valoró la cantidad de musculatura y grasa subcutánea almacenada en la región del lomo de las alpacas. La CCC utilizó la escala de 1(emaciada) a 5 (obesa) reportada por Van Saun y Herdt (2014). Brevemente, la CC1 (emacida) correspondió a los animales en los que no se palpó grasa y la cantidad de musculatura entre la piel y los huesos fue poca. Las costillas, apófisis transversas y espinosas de las vértebras lumbares y huesos pélvicos estuvieron prominentes. CC2 (delgada), se consideraron a los animales que tuvieron ligera cobertura de grasa sobre los huesos, pero sus costillas y apófisis de las vértebras lumbares fueron fácilmente palpables. CC3 (moderada), tuvieron una apariencia suave en general, con ligera cobertura de grasa sobre las costillas y apófisis de las vértebras lumbares. Las costillas y apófisis de las vértebras lumbares pudieron ser palpadas con ligera presión. CC4 (exceso), apariencia de gordura con visible cobertura de grasa; fue necesario aplicar moderada a firme presión para palpar las estructuras óseas bajo la piel. CC5 (obesa), excesiva cobertura de grasa en todo el cuerpo con apariencia redondeada. Las prominencias óseas no pudieron ser palpadas.

### **3.1.3. Manejo de los partos**

Las crías de alpaca nacieron desde el 27 de diciembre de 2016 hasta el 18 de enero de 2017. Todos los partos se produjeron entre las 6:00 am y las 3:00pm y cuando los animales se encontraron en las praderas de pastoreo. En ninguno de los animales fue necesaria la asistencia al momento del parto. Inmediatamente después del nacimiento se desinfectó el ombligo de las crías con una solución antiséptica y cicatrizante (Cascol ®), a continuación se identificaron las crías y las madres con cintas de colores similares. La identificación de las crías con aretes metálicos se realizó el día siguiente al nacimiento antes de que salieran a pastorear.

#### **3.1.4. Manejo de los animales**

Las alpacas fueron manejadas en conjunto con todos los animales de majada experimental bajo el esquema de manejo tradicional, el que se describe a continuación. Para lograr la sincronía en los partos se eligieron al azar las 45 alpacas utilizadas en el experimento, de un grupo de 120 animales aproximadamente, que habían sido empadrados bajo la modalidad de empadre controlado en el lapso de tres días. Los animales elegidos fueron incorporados a la majada formada con todos los animales que fueron utilizados en la ejecución del trabajo de tesis. Antes de ser trasladados a su nueva cabaña todas las hembras fueron desparasitadas, no se observaron abortos después de la faena.

La cabaña destinada para el pastoreo de las alpacas tuvo un área aproximada de 40 Has, la calidad y disponibilidad de las pasturas en toda la extensión fue aparentemente homogénea, la composición florística de la pradera incluía las siguientes especies: *Festuca dolichophylla*, *Muhlenbergia fastigiata*, *Muhlenbergi peruviana*, *Stipa ichu*, *Calamagrostis vicunarum*, *Alchemilla pinnata*, *Distichia humilis*, *Hordeum muticum*, *Poa sp.*, entre las principales.

Las alpacas fueron alojadas en un corral construido con malla de alambre, el cual fue movido periódicamente cada 7 a 15 días, con la finalidad de evitar que estuviera excesivamente húmedo, además durante las noches se colocó una manta de polipropileno alrededor del corral para cortar las corrientes de aire, esto con la finalidad de proteger a las crías del frío causado por las corrientes de aire y para prevenir los ataques de zorro.

Las alpacas fueron sacadas a pastorear diariamente, aproximadamente a las 6:00am y retornaban a su corral entre las 4:00 y 5:00pm, el abrevado se realizó *ad libitum* en bebederos de cemento utilizando agua de subsuelo.

#### **3.1.5. Colección de sangre para evaluación de la función neutrófilo**

La colección de sangre para la evaluación de la función neutrófilo se realizó 7 días antes de la fecha esperada de parto (d-7), al momento del parto (d0) y 7 días después del parto (d+7), para la colecta de sangre se utilizó una aguja hipodérmica 18Gx1” a la que se le acopló 10cm de tubería de venoclisis. Brevemente, se esquiló un área de 16cm<sup>2</sup> en el tercio inferior del cuello sobre el canal yugular, se limpió el exceso de fibra y a continuación se colocó una venda alrededor del cuello del animal, se realizó la antisepsia del lugar de punción con

alcohol de 96° y seguidamente se procedió con la venipunción en ángulo de 45°, la sangre fue colectada en tubos cónicos de 15mL previamente heparinizados (225UI de heparina sódica), terminada la colecta se tapó cada uno de los tubos, se invirtió gentilmente y se colocó en una caja térmica que contenía hielo picado, la sangre fue transportada al laboratorio para el inicio del proceso de aislamiento de neutrófilos en un lapso no mayor a 30 minutos.

### **3.1.6. Colecta de plasma para análisis de metabolitos**

Una vez que los tubos llegaron al laboratorio fueron centrifugados a 1200 x g por 20 minutos, del plasma resultante de la centrifugación se tomaron alícuotas de 1500uL por duplicado de cada animal, las alícuotas fueron colocadas en microviales, los cuales se rotularon y congelaron inmediatamente a -25°C hasta su posterior análisis de metabolitos.

### **3.1.7. Aislamiento de neutrófilos, morfología, quimiotáxis y fagocitosis**

El protocolo de aislamiento de neutrófilos fue ajustado en base al protocolo publicado por Moyes et al. (2009). Brevemente, inmediatamente después de la llegada de los tubos a laboratorio, estos fueron centrifugados (1200 x g) por 20 minutos. Después de la centrifugación, el plasma, la capa de células blancas y un tercio de las células sanguíneas rojas (CSR) fueron descartadas. El remanente de células fue transferido a un tubo cónico de 15mL donde fue lisado con 7.2mL de agua desionizada helada, se invirtieron gentilmente los tubos por un espacio no mayor a 30 segundos, a continuación la isotonicidad fue restaurada por adición de 0.8mL de PBS 10X (pH 7.4). La solución fue centrifugada por 10 minutos (400 x g) y el sobrenadante fue decantado. El pellet resultante fue luego lavado adicionando 8mL de PBS 1X y centrifugado por 5 minutos (1000 x g). Después del último lavado el pellet fue resuspendido en 500uL de PBS, la concentración de neutrófilos fue determinada con una cámara de Neubauer y la vitalidad fue determinada con la coloración azul tripan (0.1%), el promedio de vitalidad de los polimorfonucleares fue 93.4%.

***Quimiotáxis de neutrófilos***, el protocolo de quimiotáxis utilizado en el presente experimento fue ajustado en base al propuesto por Moyes et al. (2009). El quimioatrayente utilizado en el experimento fue la IL-8 (Sigma – Aldrich Co) y como medio de control el RPMI-1640 (Sigma – Aldrich Co). El quimioatrayente fue reconstituido y ajustado a una concentración final de 100ng/mL, se prepararon alícuotas de 10uL que fueron almacenadas a -20°C hasta su uso. Inmediatamente antes de su uso se adicionó 990uL de PBS 1X. Se colocó por

duplicado 30uL de IL-8 y 30uL de medio de control en los pocillos de la cámara de microquimiotáxis (Neuro Probe, Gaithersburg, MD), a continuación la base de la cámara fue cubierta con un filtro libre de polivinilpirrolidona que tuvo un tamaño de poro de 5um (Neuro Probe), luego se colocó la tapa de la cámara y se incubó aproximadamente por 5 minutos para establecer el equilibrio térmico. Después de la incubación, 30uL de neutrófilos ajustados a una concentración de  $3 \times 10^6$  células/mL fueron adicionados a cada pocillo. Para ajustar la concentración necesaria se utilizó RPMI-1640 (Sigma – Aldrich Co) con 5% de suero fetal bovino (FBS). Finalmente la cámara se llevó a incubación por espacio de una hora a 37°C, 5.0% de CO<sub>2</sub> y 95% de humedad. Para la incubación se adecuó una cámara de incubación portátil en base al diseño empleado por Suzuki et al. (1999). Brevemente, la incubación se realizó en una caja plástica (ancho 15cm, largo 20cm y alto 8cm), los requerimiento de CO<sub>2</sub> fueron alcanzados agregando gránulos efervescentes (420mg de ácido tartárico, 460mg de bicarbonato de sodio) en una placa Petri (35mm de diámetro y 20mm de altura) a la que se le agrego 5mL de agua bidestilada para la liberación de CO<sub>2</sub>. Después de la incubación, el lado no-celular del filtro fue lavado 3 veces con PBS 1X y luego se dejó secar a medio ambiente. Una vez seco, el lado celular fue coloreado usando el kit de tinción Differential Quik Stain (Polysciences Inc.). A continuación el filtro se montó sobre una lámina portaobjetos y se dejó secar para su posterior lectura, la misma que se realizó con un microscopio óptico utilizando una magnificación de 100X, cinco campos fueron evaluados, determinando el número de neutrófilos que emigraron en respuesta al quimioatrayente o medio de control.

***Fagocitosis de neutrófilos***, la fagocitosis de neutrófilos fue realizada de acuerdo a los procedimientos descritos por Moyes et al. (2009). Antes de realizar la incubación de los neutrófilos con las billas fluorescentes (Fluoresbrite Yellow-Green Carboxylate 1.75 um Microspheres; PolySciences, Warrington, PA), las billas fueron pre-cubiertas con suero fetal bovino inactivado por calor (FBS; 250 uL de FBS por 1uL de billas), la mezcla fue incubada a temperatura ambiente por 45 minutos. Una vez aislados los neutrófilos se ajustaron a una concentración de  $2 \times 10^6$  células/mL en un volumen de 800uL con RPMI-1640 (Sigma – Aldrich Co) conteniendo 5% de FBS en un microtubo de plástico de 1.5mL (Biologix Research Company, USA). Una cantidad de 200uL de billas pre-cubiertas con FBS fueron adicionadas a la suspensión celular para obtener un ratio de 1:30 (células: billas), las pruebas se realizaron por duplicado. Terminado el procedimiento los microtubos fueron llevados a incubación por 2 horas a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> y 95% de humedad relativa, la incubación



se realizó con la misma metodología realizada en la quimiotáxis. Después de la incubación se realizó la centrifugación a 1200 x g por 5 minutos, se realizó dos lavados con 500uL de PBS 1X. Finalmente se realizó el fijado de las células con 50uL de una solución de paraformaldeído al 4% en PBS. Las muestras fueron almacenadas a 4°C y protegidas de la luz hasta su lectura, la misma que se realizó haciendo uso de un microscopio óptico a 100X, se contabilizó el número de neutrófilos que ingirieron billas, contabilizando como mínimo 100 células por muestra, a continuación se obtuvo el porcentaje de neutrófilos que fagocitaron uno o más billas en relación al total de neutrófilos observados.

### **3.1.8. Análisis de metabolitos plasmáticos**

Con el fin de establecer la ocurrencia de balance energético negativo se midieron las concentraciones séricas de metabolitos plasmáticos, betahidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) 7 días previos a la fecha esperada de parto, al momento del parto y 7 días después del parto. Las concentraciones séricas de AGNE fueron determinadas usando un kit comercial (NEFA-C kit; Wako Diagnostics, Inc., Richmond, VA) en base al método modificado por Johnson y Peters (1993). Las concentraciones séricas de BHB fueron también determinadas usando un kit comercial ( $\beta$ -Hidroxubutyrate Liquicolor kit, Stanbio Diagnostics, Texas). Las muestras para AGNE y para BHB fueron corridas por duplicado, se incluyó una muestra control la que también fue corrida por duplicado.

### **3.1.9. Análisis estadístico**

Los datos de condición corporal, concentraciones séricas de los metabolitos: ácidos grasos no esterificados y  $\beta$ -hidroxibutirato, capacidad quimiotáctica y capacidad fagocítica fueron analizados en el presente experimento. La distribución normal de cada variable fue evaluada usando el Test de Shapiro – Wilk (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013), cuando fue necesario los datos porcentuales fueron transformados con la función Arco Seno antes del análisis estadístico. Los datos fueron analizados por medidas repetidas usando el procedimiento PROC GLM del software Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013). El modelo usado fue un diseño completo al azar con un arreglo factorial de 3 x 3, que incluyó tres niveles para el factor condición corporal: alta, media y baja y tres niveles para el factor momento de evaluación: 7 días preparto, parto y 7 días posparto, la interacción condición corporal x momento de evaluación y los efectos aleatorios de alpacas dentro de condición corporal y el error experimental.

El promedio y error estándar del promedio son reportados para todos los datos cuantitativos y para los datos porcentuales sólo el promedio. Se determinó diferencia significativa cuando  $P < 0.05$ , la diferencia de medias fue evaluada con la opción Tukey-Kramer (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013)

### **3.2. Efecto de la condición corporal sobre el desempeño reproductivo**

#### **3.2.1. Lugar experimental y tratamientos**

##### ***Lugar experimental***

El experimento fue conducido desde enero del 2017 a junio del 2017 en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano (Umachiri, Melgar, Puno, Perú) ubicado en las coordenadas geográficas 14°47'37" latitud sur y 70°47'50" longitud oeste, a una altitud de 3974m.s.n.m., a la altura del Km 1200 de la carretera Puno – Cusco. El análisis de los niveles séricos de progesterona por radio inmuno análisis (RIA) se realizó en los meses de noviembre del 2017 a enero del 2018 en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

##### ***Animales***

Alpacas multíparas preñadas (n=117) de la raza Suri fueron incluidas en el estudio, asignadas según su condición corporal a cada uno de los tres tratamientos aproximadamente 4 semanas antes de la fecha esperada de parto.

Todas las hembras de este experimento fueron mantenidas al pastoreo sobre praderas naturales formando un solo rebaño. La primera evaluación de la condición corporal se realizó aproximadamente 4 semanas antes de la fecha esperada de parto, distribuyéndose las hembras en cada uno de los tratamientos en base a su condición corporal. Las siguientes evaluaciones de condición corporal se realizaron al momento del parto, el día del apareamiento, 28 días post apareamiento y 65 días post apareamiento.

De las 117 hembras incluidas en el experimento, sólo 111 hembras (94.9%) fueron receptivas al macho cuando se evaluó su receptividad sexual, de las 06 alpacas que tuvieron un comportamiento indiferente al macho durante todo el estudio, 02 fueron de condición corporal alta, 03 de condición corporal media y 01 de condición corporal baja. Finalmente

se retiró 01 hembra más de condición corporal baja, debido a que presentaba el grosor de la pared de los cuernos uterinos (CU) bastante superior al promedio (CU derecho: 38mm y CU izquierdo: 36mm) quedando 110 hembras que fueron empadradas.

### ***Tratamientos***

Las alpacas fueron asignadas a cada uno de los tres tratamientos según su condición corporal en el pre parto: tratamiento condición corporal baja (n=39) que consideró a todas las hembras que tuvieron una calificación de condición corporal menor a 2.5; tratamiento condición corporal media (n=54), en el que las hembras tuvieron una condición corporal entre 2.5 y 3.5 y tratamiento condición corporal alta (n=24) conformado por las hembras con condición corporal mayor a 3.5. La calificación de la condición corporal se realizó utilizando una escala de 5 puntos (Van Saun y Herdt, 2014).

#### **3.2.2. Determinación de la condición corporal**

La calificación de la condición corporal (CCC) valoró la cantidad de musculatura y grasa subcutánea almacenada en la región del lomo de las alpacas. La CCC utilizó la escala de 1(emaciada) a 5 (obesa) reportada por Van Saun y Herdt (2014). Brevemente, la CC1 (emacida) correspondió a los animales en los que no se palpó grasa y la cantidad de musculatura entre la piel y los huesos fue poca. Las costillas, apófisis transversas y espinosas de las vértebras lumbares y huesos pélvicos estuvieron prominentes. CC2 (delgada), se consideraron a los animales que tuvieron ligera cobertura de grasa sobre los huesos, pero sus costillas y apófisis de las vértebras lumbares fueron fácilmente palpables. CC3 (moderada), tuvieron una apariencia suave en general, con ligera cobertura de grasa sobre las costillas y apófisis de las vértebras lumbares. Las costillas y apófisis de las vértebras lumbares pudieron ser palpadas con ligera presión. CC4 (exceso), apariencia de gordura con visible cobertura de grasa; fue necesario aplicar moderada a firme presión para palpar las estructuras óseas bajo la piel. CC5 (obesa), excesiva cobertura de grasa en todo el cuerpo con apariencia redondeada. Las prominencias óseas no pudieron ser palpadas.

#### **3.2.3. Manejo de los partos**

Las crías de alpaca nacieron desde el 01 de enero hasta el 10 de febrero de 2017. Todos los partos se produjeron entre las 6:00 am y las 3:00pm y cuando los animales se encontraron en las praderas de pastoreo. En ninguno de los animales fue necesaria la asistencia al

momento del parto. Inmediatamente después del nacimiento se desinfecto el ombligo de las crías con una solución antiséptica y cicatrizante (Cascol ®), a continuación se identificaron las crías y las madres con cintas de colores similares. La identificación de las crías con aretes metálicos se realizó el día siguiente al nacimiento antes de que salieran a pastorear.

#### **3.2.4. Manejo de los animales**

Las alpacas fueron manejadas en conjunto con todos los animales de majada experimental bajo el esquema de manejo tradicional, el que se describe a continuación. Un total de 120 animales aproximadamente, que habían sido empadrados bajo la modalidad de empadre controlado en el lapso de quince días fueron incluidos en el experimento. Los animales elegidos fueron incorporados a la majada formada con todos los animales que fueron utilizados en la ejecución del trabajo de tesis. Antes de ser trasladados a su nueva cabaña todas las hembras fueron desparasitadas, no se observaron abortos después de la faena.

La cabaña destinada para el pastoreo de las alpacas tuvo un área aproximada de 40 Has, la calidad y disponibilidad de las pasturas en toda la extensión fue aparentemente homogénea, la composición florística de la pradera incluía las siguientes especies: *Festuca dolichophylla*, *Muhlenbergia fastigiata*, *Muhlenbergi peruviana*, *Stipa ichu*, *Calamagrostis vicunarum*, *Alchemilla pinnata*, *Distichia humilis*, *Hordeum muticum*, *Poa sp.*, entre las principales.

Las alpacas fueron alojadas en un corral construido con malla de alambre, el cual fue movido periódicamente cada 7 a 15 días, con la finalidad de evitar que estuviera excesivamente húmedo, además durante las noches se colocó una manta de polipropileno alrededor del corral para cortar las corrientes de aire.

Las alpacas fueron sacadas a pastorear aproximadamente a las 6:00am y retornaban a su corral entre las 4:00 y 5:00pm, el abrevado se realizó *ad libitum* en bebederos de cemento utilizando agua de subsuelo.

#### **3.2.5. Evaluación de la salud uterina**

La evaluación de la salud uterina se realizó a través de inspección ultrasonográfica del aparato reproductor de la hembra adaptando la metodología descrita por You et al. (2013) y Rodriguez et al. (2014). Se utilizó un equipo de ultrasonido portátil (WED 3100V, WELLD

Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China) y un transductor lineal (6.5 MHz) que fue cubierto con gel ecográfico y protegido con una camiseta sanitaria de polipropileno (35cm de largo y 30cm de diámetro), para lubricar el transductor se utilizó aceite mineral. Se protegió la mano y antebrazo con un guante obstétrico, se lubricó adecuadamente con aceite mineral y suavemente se introdujo en el recto del animal. El transductor fue dirigido en sentido craneal hasta observar la vejiga, enseguida se ubicaron los cuernos uterinos y se congeló la imagen. Utilizando el modo B/B se pudo observar la imagen de ambos cuernos uterinos en la pantalla del ultrasonógrafo, seguidamente se realizó la medición del grosor de la pared de los cuernos uterinos utilizando la opción *measure*, de manera paralela se realizó la evaluación de las características ecogénicas y de contenido de los cuernos uterinos. El tiempo de evaluación por cada animal osciló entre 5 a 7 minutos.

### **3.2.6. Evaluación de la actividad ovárica**

***Comportamiento sexual de las hembras***, el reflejo de monta fue evaluado a los  $24 \pm 5$  días, para ello se utilizaron corrales de un área de  $400\text{m}^2$  (20m x 20m) en el cual se colocaron grupos de 25 a 30 alpacas hembras, a continuación se introdujeron 2 alpacas machos los cuales cortejaron a las hembras. Se consideró reflejo positivo a la monta, cuando las hembras adoptaron la posición de cópula en menos de 2 minutos de cortejo, la identificación de las hembras se realizó con pintura de diferente color en distintas regiones del cuerpo (cabeza, orejas, cuello, cruz y grupa) según el día de trabajo y con el objeto de realizar el seguimiento ultrasonográfico posterior.

***Desarrollo folicular***, se realizó por evaluación ultrasonográfica transrectal adaptando la metodología empleada por Adams et al. (1989) y Pierson y Ginther (1984). Se utilizó un equipo de ultrasonido portátil (WED 3100V, WELLD Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China) equipado con un transductor lineal de 6.5MHz, el modo ecográfico empleado fue el B/B a tiempo real. Los ovarios fueron reconocidos porque tuvieron una apariencia ultrasonográfica de tejido blando y bordes irregulares. Los folículos se distinguieron por ser estructuras anecoicas de forma circular y pared delgada. Se congelaron las imágenes de ambos ovarios en la pantalla del ultrasonógrafo, seguidamente se realizó la medición del diámetro de todos los folículos utilizando la opción *measure*. Folículos de un diámetro  $\geq 3\text{mm}$  fueron detectables.

### **3.2.7. Empadre de las alpacas**

Después de la evaluación ultrasonográfica de los ovarios y detectado un folículo de tamaño ovulatorio (6 – 12mm de diámetro) se realizó el empadre adaptando la metodología descrita por Garcia (2009). Se colocaron las hembras receptivas y con un folículo ovulatorio en un corral de 20m x 20m donde esperaron a los machos, seguidamente ingresaron los machos reproductores uno a uno, distribuyéndoseles individualmente a cada una de las hembras al azar. Durante la copula se observó la conducta sexual de los machos y se corroboró la penetración del pene por inspección elevando ligeramente la cola de la hembra, se registraron los números de aretes del macho y hembra, y el tiempo de cópula. Los machos realizaron sólo una cópula por día, el uso de los machos fue con intervalos de 2 días.

### **3.2.8. Evaluación ultrasonográfica post empadre**

*Ovulación y cuerpo lúteo*, siete días después del empadre las hembras fueron evaluadas por comportamiento sexual, registrándose las hembras que rechazaron al macho. La evaluación ultrasonográfica de los ovarios se realizó a todas las hembras (tanto a las que aceptaron como a las que rechazaron al macho), la metodología empleada fue similar a la descrita para la evaluación del desarrollo folicular. Se consideró que la hembra ovuló cuando fue posible observar ultrasonográficamente la presencia del cuerpo lúteo, el cual tuvo por lo general una apariencia redondeada, con una densidad de tejido suave distinguible del estroma ovárico, fue posible observar la presencia de una cavidad en el cuerpo lúteo de algunos animales. Una vez que las imágenes de ambos ovarios fueron congeladas en la pantalla del equipo de ultrasonografía se determinó el diámetro del cuerpo lúteo y folículos utilizando la opción *measure*.

*Diagnóstico de preñez por ultrasonografía*, se realizó a los 14 y 28 días posteriores al empadre, para ello se adecuó la metodología descrita por You et al. (2013). A los 14 días post empadre, se diagnosticó como preñada a una hembra cuando fue posible observar la vesícula embrionaria, cuya característica ultrasonográfica fue apreciada como una acumulación de líquido anecoico en el lumen del cuerno uterino, la vesícula tuvo una forma esférica cuando se realizó una vista transversa del cuerno uterino. A los 28 días, se realizó la confirmación de la preñez, se consideró preñada cuando fue posible observar al embrión propiamente dicho que tuvo la apariencia de una estructura ecogénica dentro de la vesícula embrionaria, separado de la cavidad uterina por la membrana amniótica que se apreció como

una línea hipo ecogénica muy pegada a la pared del cuerno uterino. En ese mismo momento se realizó la evaluación del latido cardíaco.

***Diagnóstico de preñez por palpación rectal***, se realizó a los 65 días post empadre, para ello las hembras fueron sujetadas de pie en una manga de sujeción. Las alpacas fueron diagnosticadas como preñadas cuando fue posible sentir el útero con fluido y la pared del cuerno uterino ligeramente más delgado, uno de los cuernos fue más grande que el otro y en su longitud sobrepasaba la cavidad pélvica. En las hembras que no estuvieron preñadas, ambos cuernos fueron fácilmente palpables, simétricos entre sí, cabían perfectamente en la palma de la mano y estuvieron ubicados en cavidad pélvica.

### **3.2.9. Toma de muestras de sangre para análisis hormonales**

Muestras de sangre fueron tomadas a los 7, 14 y 28 días post empadre para determinar los niveles séricos de progesterona. Las muestras fueron tomadas antes de que las hembras fueran evaluadas por ultrasonografía, para ello fueron adecuadamente sujetadas en posición decúbito ventral, se realizó la hemostasia de la vena yugular, se desinfectó adecuadamente el área de punción con alcohol 96°. La venipunción se realizó con una aguja de colección de sangre (Multiple Use Drawing Needle 21G x 1", VACUETTE®, Greiner Bio-One North America, Inc.) acoplada a un soporte; la sangre fue colectada en un tubo sellado al vacío con anticoagulante (BD Vacutainer® con EDTA K<sub>2</sub>, BD Diagnósticos, México DF). La cantidad de sangre obtenida en cada tubo fue de aproximadamente 3mL, dos tubos fueron colectados de cada animal. Terminada la colecta de la muestra, se retiró el tubo de colecta y se invirtió gentilmente 30 veces sujetándolo con los dedos pulgar e índice. A continuación los tubos fueron colocados en un rack dentro de una caja térmica que contenía paquetes de hielo. El tiempo entre la toma de muestras y el transporte al laboratorio no excedió las 2 horas. Ya en el laboratorio, las muestras fueron centrifugadas a 1200 x g por espacio de 10 minutos. El plasma fue absorbido de cada tubo con la ayuda de una micropipeta de 1000uL y depositado en microviales de 1.5mL (Biologix Research Company, USA), las muestras de plasma fueron congeladas a menos 20°C hasta su posterior análisis.

### **3.2.10. Análisis de niveles séricos de progesterona**

La determinación cuantitativa *in vitro* de progesterona se realizó por radioinmunoensayo (RIA) haciendo uso del kit DIA source PROG-RIA-CT (DIA source Immuno Assays S.A.,

Louvain-la-Neuve, Belgium). Primeramente, las muestras fueron descongeladas a medio ambiente, luego fueron homogenizadas usando un bortex. Se reconstituyeron los estándares según lo indicado en el protocolo del kit; los estándares utilizados fueron 0.00 ng/mL, 0.20 ng/mL, 0.86 ng/mL, 2.70 ng/mL, 8.00 ng/mL, 15.90 ng/mL y 36.40 ng/mL.

Se rotularon por duplicado los tubos recubiertos para los estándares y controles e individuales para las muestras, además 2 tubos normales fueron marcados para las cuentas totales. A continuación se colocó 50uL de estándares, controles y muestras en sus respectivos tubos, se les agregó 500uL de PROG marcado con  $I^{125}$  en cada tubo incluyendo los de las cuentas totales. Se realizó la incubación y lavados, terminado éste procedimiento se realizó la medición de la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un contador Gamma (Mini Instruments Type 6-20, USA). En base a las lecturas y las concentraciones de los estándares se realizó la construcción de la curva de calibración, luego por interpolación se determinaron los valores de las concentraciones de las muestras desde la curva de calibración.

### **3.2.11. Análisis estadístico**

Los datos de condición corporal, grosor de la pared de los cuernos uterinos, diámetro de folículos ováricos, diámetro del cuerpo lúteo, tasa ovulatoria, tasa de preñez, tasa de mortalidad embrionaria y concentraciones séricas de progesterona fueron analizados en el presente experimento. La distribución normal de cada variable continua fue evaluada usando el Test de Shapiro – Wilk (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013). Los datos de las variables continuas fueron analizados por medidas repetidas usando el procedimiento PROC GLM del software Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013). Los resultados de las tasas fueron analizados a través del test de Chi-cuadrado usando el procedimiento PROC FREQ del software Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013). El modelo usado para evaluar los resultados de la calificación de la condición corporal fue un diseño completo al azar con un arreglo factorial de 3 x 5, que incluyó tres niveles para el factor condición corporal: alta, media y baja y cinco niveles para el factor momento de evaluación: preparto, parto, empadre, preñez a los 28 días y preñez a los 65 días, la interacción condición corporal x momento de evaluación y los efectos aleatorios de alpacas dentro de condición corporal y el error experimental.



El modelo usado para el análisis del grosor de la pared de los cuernos uterinos fue un diseño completo al azar con un arreglo factorial de 3 x 2, con tres niveles para el factor condición corporal (alta, media y baja) y dos niveles para el factor cuerno uterino (izquierdo y derecho), la interacción condición corporal x cuerno uterino, los efectos aleatorios de alpacas dentro de condición corporal y el error experimental.

El modelo usado para el análisis del diámetro de folículos ováricos y diámetro de cuerpo lúteo fue un diseño completo al azar con un arreglo factorial de 3 x 2, con tres niveles para el factor condición corporal (alta, media y baja) y dos niveles para el factor ovario (izquierdo y derecho), la interacción condición corporal x ovario, los efectos aleatorios de alpacas dentro de condición corporal y el error experimental.

El modelo usado para el análisis de los datos de niveles séricos de progesterona fue un diseño completo al azar, en el que los tratamientos estuvieron representados por la condición corporal: alta, media y baja.

El promedio y error estándar del promedio son reportados para todos los datos cuantitativos y para los datos porcentuales sólo el promedio. Se determinó diferencia significativa cuando  $P < 0.05$ , la diferencia de medias fue evaluada con la opción Tukey - Kramer (SAS Institute Inc, versión 9.4, 2013).

### **3.3. Cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto**

Para realizar éste análisis se realizó la recategorización de las alpacas utilizadas en el experimento 3.2, para ello se dividieron las alpacas en tres grupos según su cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto en: alpacas que ganan condición corporal, alpacas que mantienen condición corporal y alpacas que pierden condición corporal.

Se consideró ganancia de la condición corporal cuando la diferencia ( $\Delta$ ) entre la condición corporal al parto menos la condición corporal en el preparto fue mayor a cero ( $\Delta > 0$ ), se consideró mantenimiento de la condición corporal cuando la diferencia en la condición corporal entre ambos momentos fue igual a cero ( $\Delta = 0$ ) y se consideró pérdida de la condición corporal cuando la diferencia entre ambos momentos fue menor a cero ( $\Delta < 0$ ).

El análisis de los datos producto de la re - categorización de los animales se realizó utilizando los mismos modelos estadísticos detallados en el punto 3.2.11.

### **3.4. Cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre**

Para realizar éste análisis se realizó la recategorización de las alpacas utilizadas en el experimento 3.2, para ello se dividieron las alpacas en tres grupos según su cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre en: alpacas que ganan condición corporal, alpacas que mantienen condición corporal y alpacas que pierden condición corporal.

Se consideró ganancia de la condición corporal cuando la diferencia ( $\Delta$ ) entre la condición corporal al empadre menos la condición corporal en el parto fue mayor a cero ( $\Delta > 0$ ), se consideró mantenimiento de la condición corporal cuando la diferencia en la condición corporal entre ambos momentos fue igual a cero ( $\Delta = 0$ ) y se consideró pérdida de la condición corporal cuando la diferencia entre ambos momentos fue menor a cero ( $\Delta < 0$ ).

El análisis de los datos producto de la re - categorización de los animales se realizó utilizando los mismos modelos estadísticos detallados en el punto 3.2.11.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Efecto de la condición corporal sobre la capacidad inmune**

#### **4.1.1. Condición corporal en el parto**

La condición corporal de las alpacas se mantuvo constante desde el momento del parto hasta el parto, pero luego disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) al momento del parto. La diferencia en la condición corporal entre grupos experimentales se mantuvo durante todo el experimento ( $P < 0.05$ ) y no se apreció el efecto de la interacción de la condición corporal por el momento de evaluación. Tales resultados se pueden apreciar en la tabla 1 y figura 1.

La disminución en la condición corporal de las alpacas después del parto; obedecería a la adaptación fisiológica que tienen los mamíferos para disponer de sus reservas corporales con la finalidad de soportar el incremento en las demandas de energía producto del inicio de la lactación, esta característica funcional prioriza la síntesis de leche y con ello un cambio en el metabolismo con el fin de proveer los nutrientes necesarios para la cría (Svennersten-Sjaunja y Olson, 2005; Roche et al., 2009), hasta el momento en que la cría pueda conseguir alimento de otras fuentes; de esta manera, la madre asegura la sobrevivencia de su cría y la perpetuación de la especie (Bewley y Schutz, 2008).

En el presente estudio, la disminución de la condición corporal observada a la primera semana posparto en las alpacas de todos los grupos experimentales no sólo sería debido al inicio de la producción de leche; sino además, a un rápido incremento en la producción de leche en las alpacas en las primeras semanas posparto, pues se sabe que en alpacas mantenidas al pastoreo el pico de producción se alcanza a las dos semanas posparto; mientras que en alpacas que reciben suplementación alimenticia este incremento en la producción de leche continúa hasta alcanzar el pico de producción a las tres semanas posparto (Gonzales et al., 2007).

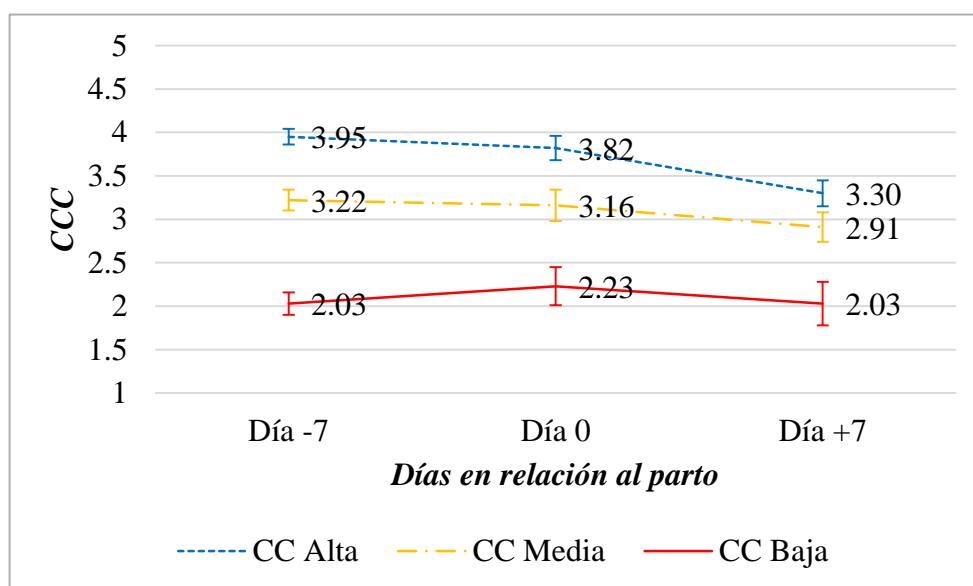
**Tabla 1. Calificación de la condición corporal en el periparto de alpacas multíparas**

<b>Tratamiento</b>	<b>Calificación de condición corporal</b>
<i>Condición x Momento</i>	
CC Alta Preparto	3.95 ± 0.09
CC Alta Parto	3.82 ± 0.14
CC Alta Posparto	3.30 ± 0.15
CC Media Preparto	3.22 ± 0.12
CC Media Parto	3.16 ± 0.18
CC Media Posparto	2.91 ± 0.17
CC Baja Preparto	2.03 ± 0.13
CC Baja Parto	2.23 ± 0.22
CC Baja Posparto	2.03 ± 0.25
<b>Condición corporal:</b>	
Alta	3.69 ± 0.09 <sup>a</sup>
Media	3.09 ± 0.09 <sup>b</sup>
Baja	2.09 ± 0.12 <sup>c</sup>
<b>Momento de evaluación:</b>	
Preparto	3.09 ± 0.17 <sup>a</sup>
Parto	3.09 ± 0.16 <sup>a</sup>
Posparto	2.75 ± 0.15 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	
Condición x Momento	0.3682
Condición corporal	< 0.0001
Momento evaluación	0.0217

<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Al parecer en las alpacas, el rápido incremento en la producción de leche es necesario para cubrir los requerimientos nutricionales de desarrollo de las crías y evitar que estas pierdan peso y condición corporal, lo que las haría más susceptibles a las duras condiciones climáticas del medio ambiente en el que viven; pues según lo observado en el presente estudio las crías de alpaca dependen exclusivamente de la leche materna durante las primeras 2 a 3 semanas después de su nacimiento, luego de éste período de tiempo se puede observar

que las crías obtienen alimentos de otras fuentes, principalmente forrajes; pues ya empiezan a ingerir los pastos suaves de las praderas donde son pastoreadas en conjunto con sus madres.



**Figura 1. Condición corporal (CC) en el periparto de alpacas multíparas mantenidas al pastoreo**

#### **4.1.2. Concentraciones séricas de $\beta$ hidroxibutirato y ácidos grasos no esterificados durante el periparto de alpacas**

Las concentraciones séricas de  $\beta$  hidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (AGNE), evaluados en diferentes momentos respecto del parto en alpacas multíparas de diferente condición corporal se muestran a continuación en la tabla 2. El momento de evaluación tuvo efecto significativo sobre las concentraciones séricas de BHB ( $P < 0.05$ ), pero no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre las concentraciones séricas de AGNE. Las concentraciones séricas de BHB fueron más altas al momento del preparto, descendieron al momento del parto y tuvieron los menores valores al momento del posparto (figura 2); mientras que las concentraciones séricas de AGNE mostraron una tendencia a disminuir del preparto al posparto (figura 3). En tanto que la condición corporal o la interacción de la misma con el momento de evaluación no tuvieron efecto ( $P > 0.05$ ) sobre las concentraciones séricas de BHB y AGNE.

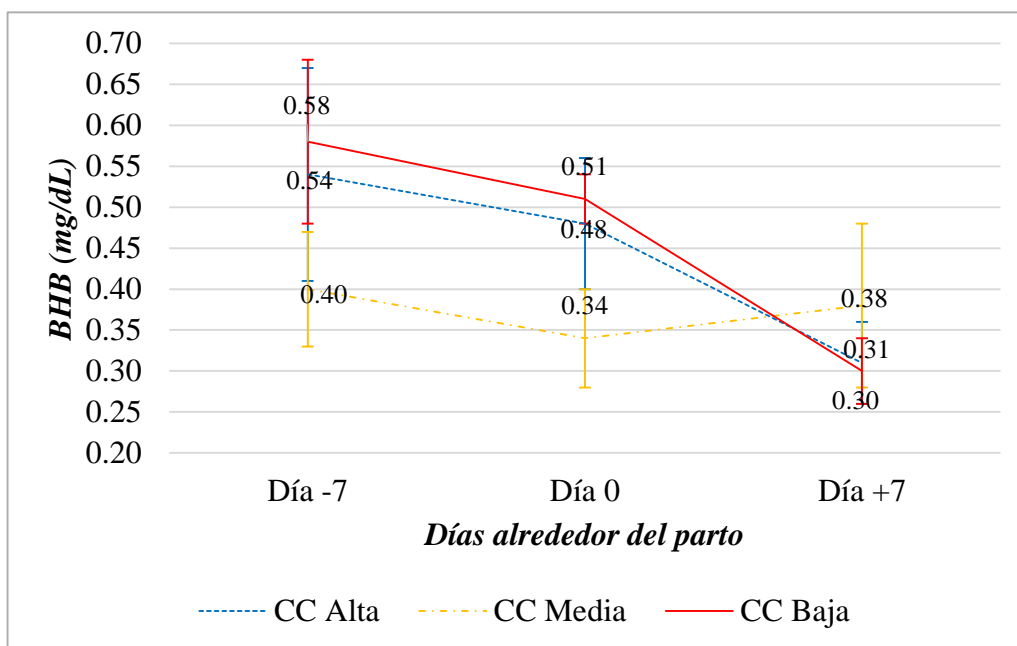
**Tabla 2. Efecto de la condición corporal y el momento de evaluación sobre los niveles séricos de BHB y AGNE durante el parto de alpacas multíparas**

<b>Tratamiento</b>	<b>BHB (mg/dL)</b>	<b>AGNE (mEq/L)</b>
<b>CC Alta Preparto</b>	0.54 ± 0.13	0.25 ± 0.05
<b>CC Alta Parto</b>	0.48 ± 0.08	0.14 ± 0.03
<b>CC Alta Posparto</b>	0.31 ± 0.05	0.14 ± 0.02
<b>CC Media Preparto</b>	0.40 ± 0.07	0.12 ± 0.03
<b>CC Media Parto</b>	0.34 ± 0.06	0.13 ± 0.03
<b>CC Media Posparto</b>	0.38 ± 0.10	0.13 ± 0.03
<b>CC Baja Preparto</b>	0.58 ± 0.10	0.18 ± 0.04
<b>CC Baja Parto</b>	0.51 ± 0.03	0.19 ± 0.04
<b>CC Baja Posparto</b>	0.30 ± 0.04	0.12 ± 0.02
<b>Condición corporal:</b>		
<b>Alta</b>	0.44 ± 0.05	0.18 ± 0.02
<b>Media</b>	0.37 ± 0.04	0.13 ± 0.02
<b>Baja</b>	0.46 ± 0.04	0.17 ± 0.02
<b>Momento de evaluación:</b>		
<b>Preparto</b>	0.51 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.03
<b>Parto</b>	0.45 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.16 ± 0.02
<b>Posparto</b>	0.33 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.01
<b>Probabilidad</b>		
<b>Condición x Momento</b>	0.4968	0.1823
<b>Condición corporal</b>	0.4056	0.1757
<b>Momento evaluación</b>	0.0184	0.1123

<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Los niveles séricos de BHB determinados en el presente experimento no indican la ocurrencia de balance energético negativo en las alpacas durante el período del parto en ninguno de los momentos evaluados, pues la presencia de niveles séricos por debajo 1 a 2mg/dL son considerados normales. El balance energético negativo en camélidos se anuncia cuando las concentraciones séricas de BHB exceden el valor señalado (Cebra, 2009). Como tal, las concentraciones observadas en el presente experimento corresponderían a la

producción normal del metabolismo como consecuencia de la degradación los lípidos provenientes de la alimentación o de los depósitos de grasa de los animales (Cebra, 2014), sólo en dos animales se observaron valores mayores a 1.0mg/dL, uno de ellos correspondiente a una alpaca de alta condición corporal al momento del parto (1.13mg/dL) y el otro correspondiente a una alpaca de baja condición corporal 7 días antes del parto (1.07mg/dL), aun así no indicaría la ocurrencia de un balance energético negativo.

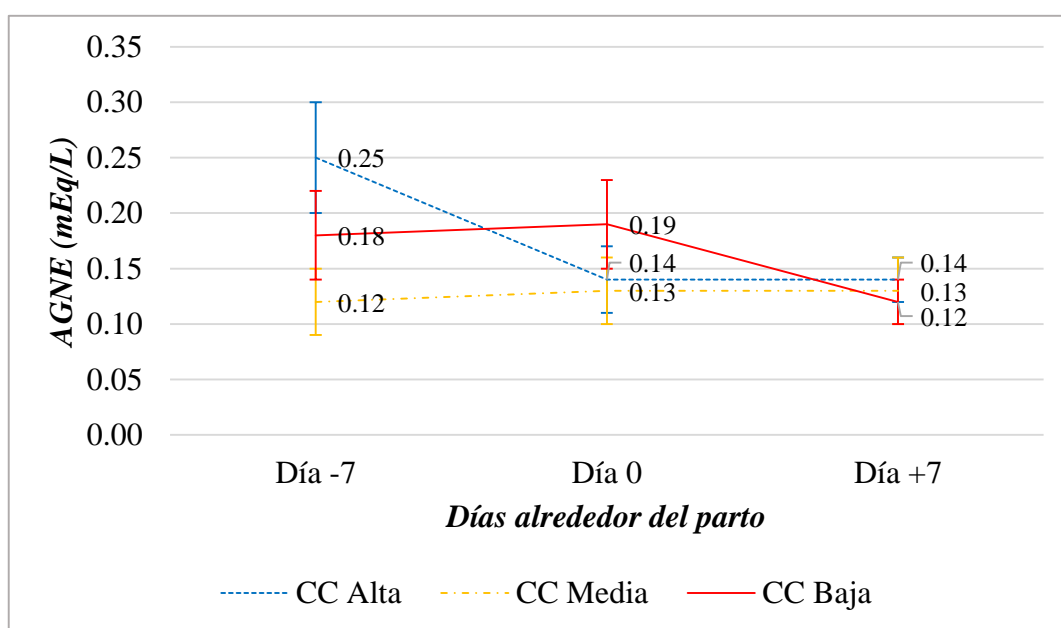


**Figura 2. Niveles de BHB (mg/dL) en el periparto de alpacas al pastoreo**

Una posibilidad de que dos animales hayan tenido concentraciones séricas ligeramente altas, podría ser debido a que fueron más susceptibles al ayuno, puesto que todas las muestras fueron tomadas en horas de la mañana antes de que las alpacas salieran a pastorear y según se ha reportado, en camélidos que se encuentran en estado de ayuno se propicia la cetogénesis y en consecuencia las concentraciones de BHB podrían elevarse hasta valores de aproximadamente 2.5 a 4.0mg/dL sin efectos nocivos (Tornquist y Cebra, 2014).

El mantenimiento de las concentraciones séricas de BHB a niveles basales en las alpacas del presente estudio sería el resultado de que en los camélidos adultos los productos de fermentación microbiana en el primer compartimento podrían satisfacer la mayoría de las necesidades energéticas, de esta forma la movilización de grasa endógena y la cetogénesis se producirían a tasas basales (Tornquist y Cebra, 2014).

Los resultados mostrados en la tabla 2, reflejan que no existe efecto ( $P > 0.05$ ) de la condición corporal, el momento de evaluación de la condición corporal o la interacción de ambos factores sobre los niveles séricos de AGNE; metabolito usualmente utilizado para evaluar el balance energético de una manera más objetiva que haciendo uso de medidas indirectas como la valoración de la condición corporal. El mantenimiento de este metabolito en niveles basales respalda la no ocurrencia de un balance energético negativo; ello sería debido a que la pérdida de la condición corporal, que ocurre entre el parto y el posparto, tan sólo involucraría una leve movilización de las reservas de lípidos suficiente para soportar una reducida producción de leche, necesaria tan sólo para mantener a la cría.



**Figura 3. Niveles séricos de ácidos grasos no esterificados (mEq/L) en el periparto de alpacas al pastoreo**

El mantenimiento de los niveles séricos de AGNE en niveles normales puede ser atribuido al hecho de que las alpacas, como la mayoría de los camélidos no requieren realizar una rápida movilización de las reservas de lípidos que propicie la elevación de los AGNE, que si se da en el caso de vacas lecheras de alta producción, en las que la transición de la preñez a la lactancia les propicia un cambio muy abrupto en las demandas metabólicas, debiendo realizar una rápida movilización de los almacenes de lípidos y proteínas para soportar la alta producción de leche (Adewuyi et al., 2005).



El nivel productivo de las hembras en lactación sería el detonante para el incremento en los metabolitos BHB y AGNE, así lo confirma un estudio realizado por Thompson et al (2012), en el que observó que vacas de regular producción lechera a pesar de que tuvieron concentraciones séricas de BHB y AGNE elevadas, estas no eran lo suficientemente altas como para indicar balance energético negativo; los autores señalan que los cambios en las concentraciones séricas de ambos metabolitos son respuestas metabólicas asociadas con procesos homeorréticos en respuesta a la lactogenesis y galactopoyesis principalmente, que reflejan la movilización de lípidos.

#### **4.1.3. Capacidad inmune de alpacas en el parto**

La capacidad inmune de las alpacas en el presente estudio fue valorada por la capacidad quimiotáctica y capacidad fagocítica los neutrófilos, que en conjunto determinan la función neutrofílica. Los resultados de ambas pruebas de función inmune se muestran en la tabla 3, en la que se puede apreciar que tanto la capacidad quimiotáctica, como la capacidad fagocítica son afectadas por el momento de evaluación ( $P < 0.05$ ). Ambas medidas de la función neutrofílica tienen una respuesta intermedia en el parto, disminuye drásticamente al momento del parto y luego se recupera y es máxima durante el posparto.

La condición corporal de los animales o la interacción de la condición corporal con el momento de evaluación de la condición corporal no tuvieron efecto ( $P > 0.05$ ) sobre la función neutrofílica de alpacas multíparas.

La quimiotaxis que consiste en la migración de los PMN desde los vasos sanguíneos periféricos al lugar de infección, es una importante característica funcional en respuesta a un estímulo inflamatorio tal como la invasión bacteriana (Nagahata et al., 1988); ésta importante función de los PMN de alpacas se encuentra bastante reducida al momento del parto, resultado similar al reportado en vacuno lechero en el que la alteración de la respuesta quimiotáctica inicia 3 semanas pre parto, es máxima al momento del parto y continua hasta las 3 semanas pos parto (Hammon et al., 2006; Mallard et al., 1998).

El mecanismo exacto de disminución de la actividad quimiotáctica de los neutrófilos durante el posparto inmediato no está del todo claro, una de las primeras asunciones es la elevación de las concentraciones de cortisol en días muy próximos alrededor del parto lo cual podría

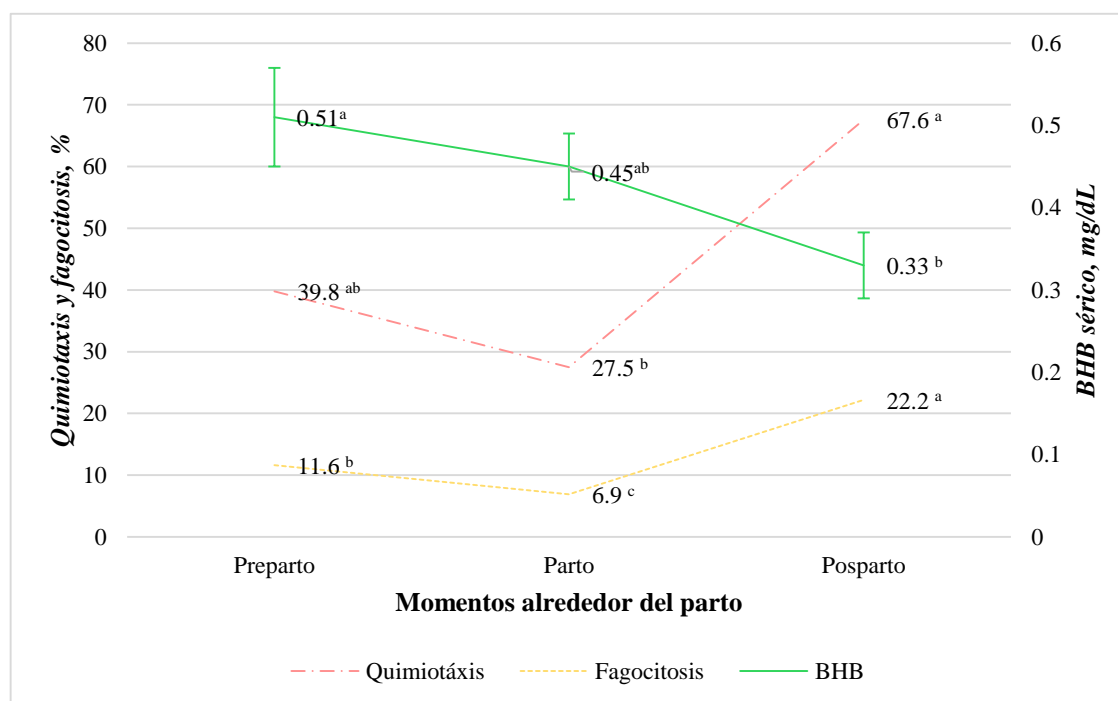
exacerbar la inmunosupresión (Nagahata et al., 1988). Tal como en el vacuno, queda la duda en el presente experimento, si los niveles de cortisol podrían estar teniendo un efecto importante sobre la alteración de la respuesta quimiotáctica, toda vez que no se determinaron las concentraciones séricas de cortisol; sin embargo, se sabe por un reporte previo que el cortisol en la alpaca tienen un gran incremento a las 45 semanas de gestación, pero luego retornan a sus valores normales y tienen una disminución marcada desde los 15 días pre parto hasta el momento del parto (Leon et al., 1990).

**Tabla 3. Función neutrofílica durante el periparto de alpacas multíparas de diferente condición corporal**

<b>Tratamiento</b>	<b>Capacidad quimiotáctica, %</b>	<b>Capacidad fagocítica, %</b>
CC Alta Preparto	36.0	16.3
CC Alta Parto	24.0	2.6
CC Alta Posparto	69.8	22.7
CC Media Preparto	44.8	4.3
CC Media Parto	26.7	7.3
CC Media Posparto	44.3	34.7
CC Baja Preparto	39.6	12.5
CC Baja Parto	34.1	10.8
CC Baja Posparto	75.7	15.2
<b>Condición corporal:</b>		
Alta	42.8	13.5
Media	36.7	10.7
Baja	48.5	12.5
<b>Momento de evaluación:</b>		
Preparto	39.8 <sup>ab</sup>	11.6 <sup>b</sup>
Parto	27.5 <sup>b</sup>	6.9 <sup>c</sup>
Posparto	67.6 <sup>a</sup>	22.2 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>		
Condición x Momento	0.9199	0.1606
Condición corporal	0.6701	0.5799
Momento evaluación	0.0077	0.0020

<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

En varios estudios se ha señalado el efecto adverso del balance energético negativo sobre la función neutrofílica (Hammon et al., 2006; Moyes et al.; 2009; Galvão et al., 2010). En el presente experimento no se podría afirmar de la existencia de un escenario de balance energético negativo debido a que los niveles séricos de los metabolitos BHB y AGNE no estuvieron lo suficientemente elevados; sin embargo, el momento de evaluación alrededor del parto, tiene efecto y generó diferencias en las concentraciones de éstos metabolitos, especialmente el BHB que tuvo valores significativamente superiores ( $P < 0.05$ ) durante el preparto, luego disminuyeron al momento del parto y tuvieron sus valores más bajos al momento del posparto. Interesantemente, se pudo observar que la capacidad quimiotáctica tuvo una respuesta inversamente proporcional a los niveles séricos de BHB, pues la capacidad quimiotáctica se encontró disminuida en el preparto y parto, momentos en los que las concentraciones de BHB fueron máximas, pero luego la capacidad quimiotáctica mejoró significativamente en el posparto ( $P < 0.05$ ), momento en los que las concentraciones de BHB fueron menores, resultados que se aprecian en la figura 4.



**Figura 4. Capacidad quimiotáctica, fagocítica y niveles séricos de BHB en diferentes momentos alrededor del parto en alpacas multíparas**

Por lo que se podría asumir que si bien las hembras no tienen valores de BHB en sangre lo suficientemente altos como para producir un balance energético negativo, tal vez esa pequeña elevación sea suficiente para alterar la respuesta quimiotáctica en esta especie, en

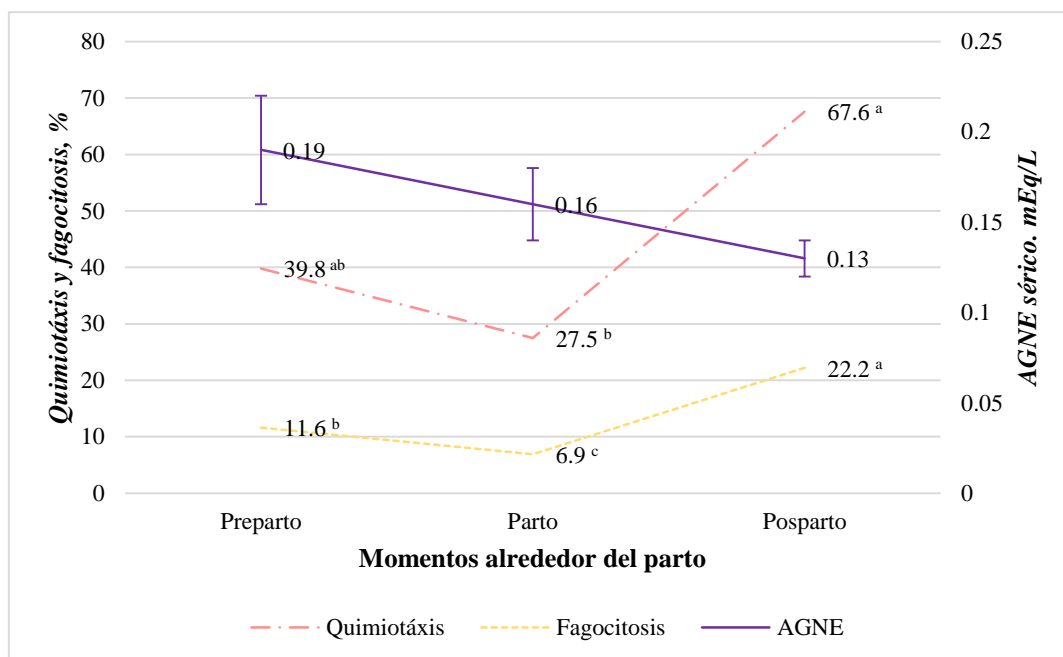
la cual una pequeña alteración en la disponibilidad de glucosa podría conllevar a un deficiente almacenamiento de glucógeno intracelular por parte de los polimorfo nucleares (PMN) y por ello se alteraría su función y capacidad quimiotáctica, por ende la respuesta inmune sería deficiente (Galvão et al., 2010; Kehrli, 2015).

Además de la quimiotaxis, es importante que los neutrófilos puedan ser capaces de fagocitar los patógenos eficientemente, actividad denominada fagocitosis o capacidad fagocítica. En el presente experimento esta habilidad de fagocitar patógenos es afectada por el momento de evaluación en el periparto ( $P < 0.05$ ), siguiendo un patrón de comportamiento similar al de la capacidad quimiotáctica (figura 4). Pero no es afectada ( $P > 0.05$ ) por la condición corporal o la interacción de la misma con el momento de evaluación.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, indican que no sólo se altera la capacidad quimiotáctica sino también lo hace la capacidad fagocítica; esta alteración de la función neutrofílica en la alpaca es similar a aquella producida en el periparto de la vaca e indica que no solo se atenúa la capacidad de movilización de los neutrófilos hacia el lugar de infección, sino además se reduce la habilidad de los mismos de fagocitar a los patógenos, con lo cual se reduce la capacidad de defensa del organismo (Chebel et al., 2018).

La ausencia de diferencia significativa en las concentraciones séricas de AGNE en los diferentes momentos alrededor del parto, haría suponer que las concentraciones séricas de este metabolito no tendría un efecto preponderante sobre la función neutrofílica; sin embargo, se puede apreciar que conforme las concentraciones séricas de AGNE tienden a disminuir la respuesta quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos incrementa, tal como se aprecia en la figura 5.

Esta alteración en la función de los PMN de alpacas podría también seguir los patrones observados en otras especies, especialmente en la vaca productora de leche en la que se ha realizado mayor investigación; así, en bovinos a medida que se acerca el momento del parto se producen una serie de alteraciones como un incremento en el recuento de PMN y mayor número de células inmaduras, al mismo tiempo que la quimiotaxis y la actividad oxidativa se deterioran (Burvenich et al., 2003) conllevando a la alteración de varias medidas inmunológicas como la quimiotaxis y la fagocitosis que alcanzan su peor desempeño cuanto más cerca al parto se encuentran (Waller, 2000).



**Figura 5. Capacidad quimiotáctica, fagocítica y niveles séricos de AGNE en diferentes momentos alrededor del parto en alpacas múltiparas**

A este momento, este es el primer y único trabajo de investigación en el que se ha evaluado la función de los PMN *in vitro*, la metodología ha sido extrapolada de la usada en bovinos y tal como lo refiere Moyes et al. (2009), la valoración de los PMN en un ambiente diferente pueden ser un tanto contradictorio; así mismo, este grupo de investigación hace referencia a la importancia de los bajos niveles de glucosa que en combinación con cambios en las concentraciones de glucocorticoides podrían ser los factores que más contribuyen en la alteración de la función inmune en el periparto.

## **4.2. Efecto de la condición corporal sobre el desempeño reproductivo**

### **4.2.1. Condición corporal en diferentes momentos reproductivos**

Los resultados de la evaluación de la condición corporal en momentos coincidentes con diferentes eventos reproductivos, tales como el preparto, parto, empadre y diagnósticos de preñez a los 28 y 65 días post empadre, se muestran en la tabla 4 y figura 6.

**Tabla 4. Condición corporal evaluada en los diferentes eventos reproductivos durante el parto de alpacas multíparas mantenidas al pastoreo**

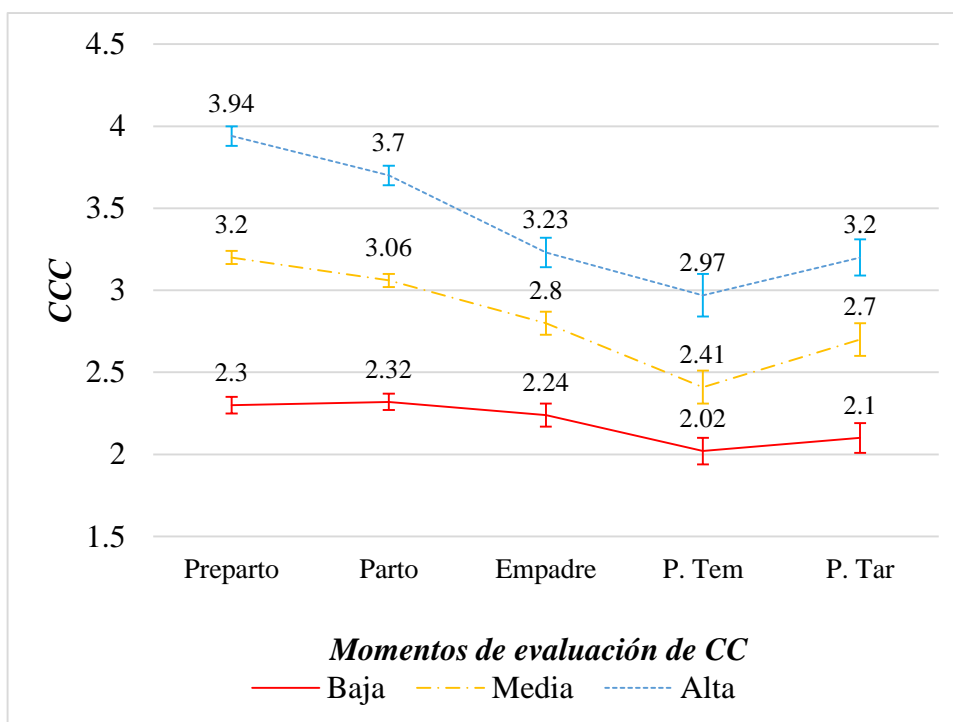
<b>Tratamiento</b>	<b>Calificación de condición corporal</b>
CC Alta Preparto	$3.94 \pm 0.06^a$
CC Alta Parto	$3.70 \pm 0.06^b$
CC Alta Empadre	$3.23 \pm 0.09^c$
CC Alta Preñez 28 días	$2.97 \pm 0.13^{de}$
CC Alta Preñez 65 días	$3.20 \pm 0.11^d$
CC Media Preparto	$3.20 \pm 0.04^d$
CC Media Parto	$3.06 \pm 0.04^{de}$
CC Media Empadre	$2.80 \pm 0.07^e$
CC Media Preñez 28 días	$2.41 \pm 0.10^f$
CC Media Preñez 65 días	$2.70 \pm 0.10^{ef}$
CC Baja Preparto	$2.30 \pm 0.05^f$
CC Baja Parto	$2.32 \pm 0.05^f$
CC Baja Empadre	$2.24 \pm 0.07^f$
CC Baja Preñez 28 días	$2.02 \pm 0.08^f$
CC Baja Preñez 65 días	$2.10 \pm 0.09^f$
<b>Condición corporal:</b>	
Alta	$3.41 \pm 0.05^a$
Media	$2.83 \pm 0.04^b$
Baja	$2.20 \pm 0.03^c$
<b>Momento de evaluación:</b>	
Preparto	$3.05 \pm 0.06^a$
Parto	$2.94 \pm 0.05^a$
Empadre	$2.70 \pm 0.06^b$
Preñez 28 días	$2.39 \pm 0.07^c$
Preñez 65 días	$2.60 \pm 0.07^b$
<b>Probabilidad</b>	
Condición x Momento	0.0029
Condición corporal	< 0.0001
Momento evaluación	< 0.0001

<sup>a-f</sup>letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Los resultados mostrados en la tabla anterior indican que la calificación de la condición corporal es diferente entre grupos experimentales ( $P < 0.05$ ); así mismo, la calificación de la condición corporal difiere dependiendo del momento de evaluación ( $P < 0.05$ ), apreciándose la mayor condición corporal de las alpacas al momento del preparto y parto, descendiendo al momento del empadre, alcanza su valor más bajo al momento del diagnóstico

de preñez temprano a los 28 días post empadre y luego recuperan condición corporal al momento del diagnóstico de preñez tardío realizado a los 65 días post empadre.

También fue posible observar un efecto de la interacción de la condición corporal por el momento de evaluación de la misma ( $P < 0.05$ ) en las alpacas de condición corporal alta y media, la mayor condición corporal es al momento del parto, luego desciende progresivamente hasta el momento de diagnóstico de preñez temprano y se recupera al momento del diagnóstico de preñez tardío; mientras que en las alpacas de baja condición corporal no hubo interacción entre la calificación de la condición corporal con los momentos de evaluación ( $P > 0.05$ )



**Figura 6. Condición corporal a lo largo de todos los eventos reproductivos en el periparto de alpacas mantenidas al pastoreo**

En el presente estudio, la diferencia entre las calificaciones de la condición corporal al parto y el diagnóstico de preñez temprano (momento de calificación más baja) fue 0.97 puntos en las alpacas de condición corporal alta, 0.79 puntos en las alpacas de condición corporal media y 0.28 puntos en las alpacas de condición corporal baja; como se puede observar en ninguno de los grupos experimentales la pérdida de condición corporal fue mayor a un punto

de calificación, lo cual según Van Saun y Herdt (2014), podría generar serios efectos sobre el desempeño reproductivo posparto de los animales.

La calificación de la condición corporal, que fue más alta en el momento del parto respondería al hecho de que las alpacas podrían haber recuperado condición corporal hacia el final de la gestación, luego una vez que se da el parto las alpacas empiezan a perder condición corporal tal vez en la misma magnitud en la que producen leche o debido a posibles deficiencias nutricionales como consecuencia de una inadecuada ingestión de alimento más que de una baja calidad del forraje disponible (Van Saun y Herdt, 2014), en el presente estudio se podría asumir que el más afectado fue el consumo de materia seca, puesto que la calidad de alimento fue buena debido a que los partos ocurrieron a inicios del mes de enero, temporada en la que las condiciones climáticas mejoran y en consecuencia la disponibilidad y calidad de alimento también, además en la mayoría de rumiantes se sabe que el consumo de materia seca en el posparto temprano esta disminuido.

#### **4.2.2. Efecto de la condición corporal sobre la salud uterina**

La evaluación ecográfica permitió la evaluación de las características ecogénicas de los cuernos uterinos, presencia de contenido uterino y la medición del grosor de la pared de los cuernos uterinos, resultados que figuran en la tabla 5. En ninguna de las alpacas evaluadas se observó la presencia de contenido uterino que pudiera sugerir la ocurrencia de una endometritis; además se evaluó cualitativamente la ecotextura de los cuernos uterinos siendo heterogénea en todos los animales evaluados; al realizar la medición del grosor de la pared de los cuernos uterinos, sólo en una alpaca se observó que éste fue superior al promedio de la mayoría de los animales (38.00mm derecho y 36.00mm izquierdo), éste animal perteneció al grupo de baja condición corporal y fue retirado del experimento.

No hubo efecto de la interacción condición corporal por cuerno uterino evaluado ( $P > 0.05$ ) sobre las dimensiones de los cuernos uterinos. Respecto del factor condición corporal, las alpacas de condición corporal alta tuvieron ligeramente un menor grosor de la pared de cuernos uterinos respecto de las alpacas de condición corporal media y baja ( $P = 0.06$ ). Mientras que al comparar las dimensiones entre ambos cuernos uterinos, el grosor de la pared del cuerno uterino izquierdo fue significativamente superior al grosor de la pared del cuerno uterino derecho ( $P < 0.05$ ).



**Tabla 5. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas de diferente condición corporal medidos a los 24±5 días pos parto (un día antes del empadre)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Grosor de la pared uterina, mm</b>
CC Alta CU Derecho	9.91 ± 0.43
CC Alta CU Izquierdo	10.59 ± 0.35
CC Media CU Derecho	10.71 ± 0.32
CC Media CU Izquierdo	11.53 ± 0.32
CC Baja CU Derecho	9.81 ± 0.33
CC Baja CU Izquierdo	11.08 ± 0.33
<b>Condición corporal</b>	
Alta	10.25 ± 0.28 <sup>ab</sup>
Media	11.12 ± 0.23 <sup>a</sup>
Baja	10.45 ± 0.25 <sup>a</sup>
<b>Cuerno uterino</b>	
Cuerno uterino derecho	10.25 ± 0.21 <sup>b</sup>
Cuerno uterino izquierdo	11.19 ± 0.20 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	
Condición x C. uterino	0.7108
Condición corporal	0.0329
Cuerno uterino	0.0012

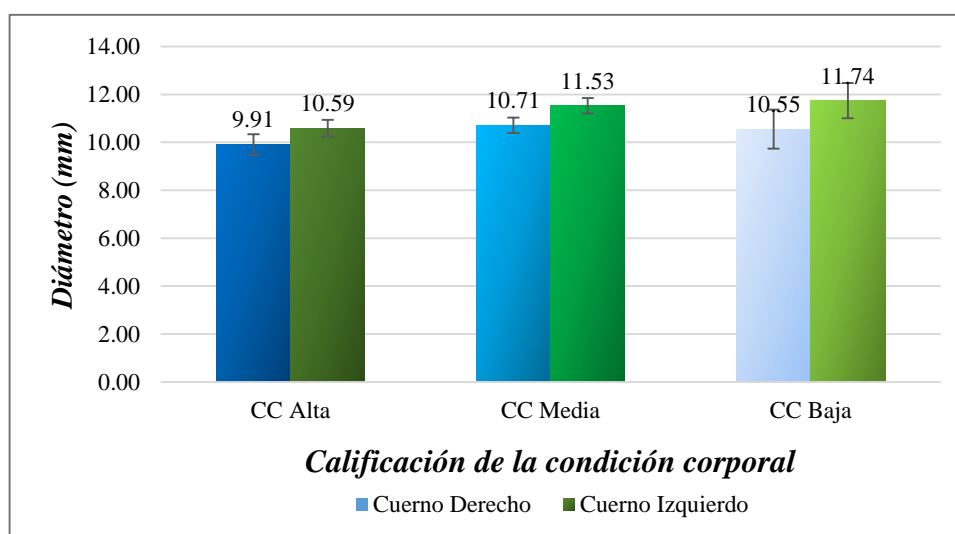
<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Una mayor medida del cuerno uterino izquierdo en las alpacas es aparentemente normal, el cual no sólo sería debido al hecho de que la gestación en esta especie se da en el 98% de los casos en el cuerno uterino izquierdo (Bravo et al., 1995; Ferrer, 2014); sino además, a una diferencia en el tamaño de los cuernos uterinos desde antes del nacimiento de los animales, así lo demuestra un estudio realizado por Mendoza et al (2013), quienes al evaluar el tracto reproductivo de alpacas y llamas observaron la mencionada diferencia desde la vida fetal.

Las dimensiones de los cuernos uterinos valorados por ultrasonografía en el presente estudio son menores a los valores reportados pos mortem; diferencia que puede ser debida al tipo de procedimiento utilizado para determinar las medidas de los cuernos uterinos, pues diferencias de hasta 10mm han sido reportadas cuando se compararon las medidas

determinadas por ultrasonografía y palpación rectal al evaluar el tracto reproductivo de vacas (Sheldon y Owens, 2017), lo que sugiere que podrían existir algunas diferencias en las medidas producto del procedimiento y metodologías aplicadas para la evaluación de órganos internos.

La ecotextura heterogénea de los cuernos uterinos de las alpacas observada a la ultrasonografía puede ser relacionada con los niveles séricos de estradiol, los cuales se mantendrían lo suficientemente altos como para propiciar la receptividad sexual de las alpacas (Vaughan, 2011); tales concentraciones de ésta hormona en otras especies y también en camélidos puede producir algún grado de edematización e inflamación de los cuernos uterinos (Rodriguez et al., 2014; Gonzalez-Bulnes et al., 2010) generando una apariencia ultrasonográfica pobremente definida y predominantemente hipoecogénica (Gonzalez-Bulnes et al., 2010), lo que daría por resultado la proyección de una imagen heterogénea cuando se realiza la ultrasonografía de los cuernos uterinos.



**Figura 7. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas de diferente condición corporal medidos a los 24±5 días pos parto (un día antes del empadre)**

#### **4.2.3. Efecto de la condición corporal sobre la actividad ovárica al momento del empadre**

Los datos que se muestran en la tabla 6 y figura 8, hacen referencia al diámetro de los folículos observados previos al empadre. La evaluación ecográfica de los ovarios fue realizada inmediatamente después de evaluar el comportamiento sexual de las hembras a los

24±5 días. En el presente estudio todas las alpacas que mostraron receptividad sexual tenían al menos un folículo de tamaño ovulatorio con un diámetro  $\geq 6\text{mm}$ , acompañado en la mayoría de los casos de folículos más pequeños.

La condición corporal no tuvo efecto significativo ( $P > 0.05$ ) sobre el diámetro de los folículos; pero si se apreció un mayor diámetro folicular en aquellos ubicados en el ovario izquierdo en relación a los ubicados en el ovario derecho ( $P < 0.05$ ), además producto de la interacción condición corporal por ovario, fue posible observar el mayor diámetro folicular en el ovario izquierdo de alpacas de baja condición corporal ( $P < 0.05$ ) en comparación a las demás interacciones.

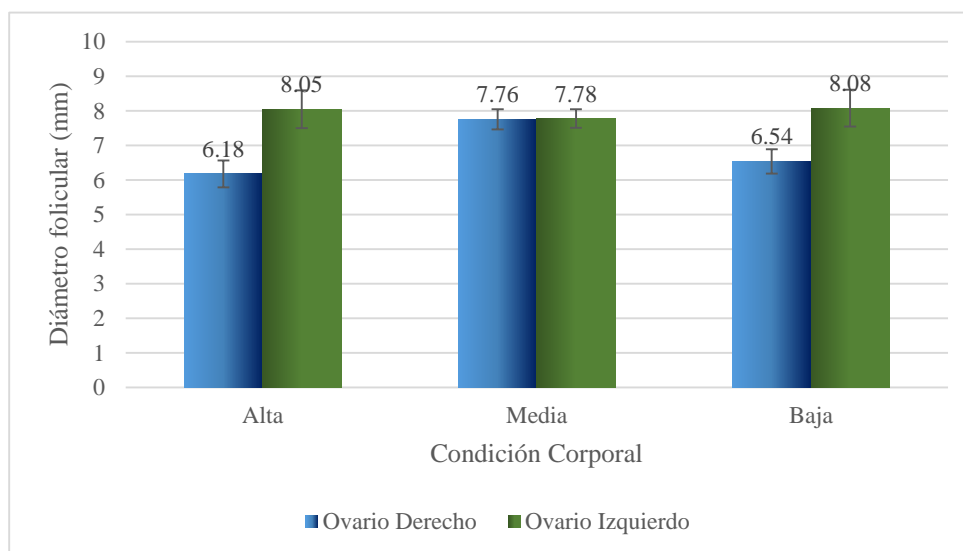
**Tabla 6. Diámetro folicular evaluado al momento del empadre (24±5 días pos parto) en alpacas multíparas mantenidas a pastoreo**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro folicular, mm</b>
CC Alta Ovario Derecho	22	6.18 ± 0.39 <sup>b</sup>
CC Alta Ovario Izquierdo	22	8.05 ± 0.55 <sup>b</sup>
CC Media Ovario Derecho	49	7.76 ± 0.29 <sup>b</sup>
CC Media Ovario Izquierdo	51	7.78 ± 0.27 <sup>b</sup>
CC Baja Ovario Derecho	36	6.53 ± 0.34 <sup>b</sup>
CC Baja Ovario Izquierdo	37	8.08 ± 0.53 <sup>a</sup>
<b>Condición corporal</b>		
Alta	22	7.11 ± 0.36
Media	51	7.77 ± 0.20
Baja	37	7.32 ± 0.33
<b>Ovario</b>		
Ovario derecho	107	7.02 ± 0.20 <sup>b</sup>
Ovario izquierdo	110	7.94 ± 0.24 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>		
Condición x Ovario		0.0318
Condición corporal		0.2153
Ovario		0.0037

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

El desarrollo folicular, apenas superior en el ovario izquierdo observado en el presente estudio, es congruente con el reporte de Bravo et al (1995), quien indica que es común que el desarrollo folicular se de en ambos ovarios, aunque en algunas ocasiones es posible observar una mayor actividad en el ovario izquierdo respecto del derecho sin diferencia significativa.

En el presente estudio, la proporción del total de hembras que fueron empadradas ( $n = 110$ ) en relación al total de hembras que fueron incluidas en el experimento ( $n = 117$ ) fue bastante alta, dando por resultado un alto porcentaje de hembras empadradas (94.0%). Ésta proporción no cambio al evaluarla según condición corporal; así para el caso de alpacas de alta condición corporal fueron empadradas 22 de 24 alpacas dando por resultado un 91.7% de alpacas empadradas; en las alpacas de condición corporal media, 51 de 54 alpacas fueron empadradas dando por resultado un porcentaje de 94.4% y en las alpacas de baja condición corporal, 37 de 39 alpacas fueron empadradas que significo un 94.9% de alpacas empadradas.



**Figura 8. Actividad ovárica al momento del empadre ( $24 \pm 5$  días pos parto) en alpacas multíparas mantenidas a pastoreo**

El alto porcentaje de hembras con actividad ovárica (superior al 90%) en el presente estudio está acorde con reportes previos. Así, Bravo et al (1995), indican que el reinicio de la actividad ovárica se inicia tan pronto como a los 6 días pos parto; sin embargo, es posible observar que el desarrollo folicular no es suficiente sino hasta que ocurre la segunda o tercera onda folicular, las mismas que se estarían dando a los  $17.2 \pm 0.5$  y  $25.5 \pm 0.8$  días posparto;

momentos en los que los folículos recién tendrían un tamaño ovulatorio adecuado y a su vez estarían relacionados a un progresivo incremento de los receptores de estradiol en el hipotálamo e hipófisis anterior, por tal razón la competencia de los folículos mejoraría en ondas foliculares consecutivas en el posparto de alpacas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la condición corporal de las alpacas en el periparto no tienen un efecto significativo sobre el desarrollo folicular, además la aparente disminución en la condición corporal entre el parto y el momento del empadre al no superar una unidad de condición corporal, no sería suficiente para reflejar alguna alteración en el desarrollo folicular, que al parecer no estaría directamente relacionado con un posible balance energético negativo (Krause et al., 2014)

La indiferencia de las hembras frente al macho que se dio en el presente estudio fue apreciable en el 8.3%, 5.6% y 5.1% de las alpacas de alta, media y baja condición corporal respectivamente, proporciones inferiores al 12.5% de hembras que rechazan al macho, reportado por Bravo et al (1994), tal efecto según los autores sería parte del comportamiento común en camélidos y no necesariamente indicaría la falta de desarrollo folicular. Así mismo, la indiferencia hacia el macho observada en el presente estudio, también podría ser consecuencia de una asincronía entre las ondas de desarrollo folicular, lo que puede provocar una disminución de las concentraciones séricas de estradiol hasta niveles que puedan provocar un comportamiento sexual indiferente de las hembras frente al macho (Vaughan, 2011)

#### **4.2.4. Efecto de la condición corporal sobre la formación de cuerpo lúteo y tasa ovulatoria**

En la tabla 7 se aprecia el diámetro del cuerpo lúteo observado a los 7 días pos servicio. La condición corporal de las alpacas, el lado del ovario en el cual se desarrolló el cuerpo lúteo o la interacción de ambos factores no tuvieron efectos significativos ( $P > 0.05$ ) sobre el diámetro del cuerpo lúteo.

El cuerpo lúteo fue fácilmente apreciable en todas las alpacas que ovularon, a la ecografía el cuerpo lúteo fue diferenciado del estroma ovárico debido a su apariencia menos ecogénica semejante a una estructura redondeada de bordes irregulares y en muchas ocasiones se observó una disminución de la ecogenicidad que se acentuaba hacia el centro del cuerpo

lúteo. En ninguna de las alpacas evaluadas se observó la presencia de cavidad en el cuerpo lúteo.

**Tabla 7. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas de diferente condición corporal medido a los 7 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
CC Alta Ovario Derecho	6	8.17±0.40
CC Alta Ovario Izquierdo	11	7.91±0.44
CC Media Ovario Derecho	19	8.32±0.39
CC Media Ovario Izquierdo	25	8.04±0.26
CC Baja Ovario Derecho	16	8.13±0.34
CC Baja Ovario Izquierdo	22	8.23±0.32
<b>Condición corporal</b>		
Alta	17	8.00 ± 0.31
Media	44	8.16 ± 0.22
Baja	38	8.18 ± 0.23
<b>Ovario</b>		
Ovario derecho	41	8.22 ± 0.23
Ovario izquierdo	58	8.09 ± 0.16
<b>Probabilidad</b>		
Condición x Ovario		0.8261
Condición corporal		0.9029
Ovario		0.6678

La facilidad de observar el cuerpo lúteo a los 7 días post empadre sería debido a que es una estructura que es apreciable por ultrasonografía desde los 3 a 4 días post ovulación (Aba, 2014), momentos en los que su diámetro se encuentra alrededor de 7 a 8 mm, su crecimiento continúa hasta alcanzar su tamaño máximo a los 8 días post ovulación (Ratto et al., 2006) con un diámetro entre 10 y 16mm (Bravo et al., 1994; Ratto et al., 2006; Ratto et al., 2011; Rodriguez et al., 2014; Aba, 2014), diámetros ligeramente superiores a los 8mm observados en el presente estudio.

En la tabla 8, se muestran los porcentajes de ovulación o tasa ovulatoria obtenida en cada grupo de animales según condición corporal, en la que se puede apreciar que la mayor tasa ovulatoria ( $P < 0.05$ ) fue observada en las alpacas de condición corporal media y condición corporal baja en comparación a la tasa de ovulación de las alpacas de condición corporal alta que obtuvo la menor tasa ovulatoria.

**Tabla 8. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas múltiparas de diferente condición corporal**

<b>Condición corporal</b>	<b>Alpacas Empadradas</b>	<b>Alpacas que Ovularon</b>	<b>Tasa ovulatoria (%)</b>
Alta	22	15	68.2 <sup>b</sup>
Media	51	42	82.4 <sup>a</sup>
Baja	37	35	94.6 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Las tasas ovulatorias observadas en el presente experimento se encuentran dentro de los rangos señalados por varios autores como: Bravo et al (1994), quienes reportan una tasa ovulatoria de 87.75% en hembras apareadas entre los 10 y 30 días pos parto; Ratto et al (2006), que reportan una tasa ovulatoria del 80% cuando la ovulación es provocada por la monta, 81% cuando la ovulación es inducida por GnRH y 91% cuando se usa la LH para provocar la ovulación en alpacas; Ratto et al (2011), quienes observaron una tasa ovulatoria del 96%, la misma que ocurre en similares proporciones entre ambos ovarios (ovario derecho: 96.9% y ovario izquierdo: 96.3%). Todos los reportes mencionados no tomaron en cuenta la condición corporal de las alpacas al momento de la evaluación de la tasa ovulatoria.

En un estudio realizado por Picha et al (2013), en el que utilizaron alpacas de una condición corporal entre 3.0 y 3.5 en la escala del 1 al 5, reportaron tasas de ovulación entre 93% y 100% para las estaciones de invierno y verano, respectivamente; tasas de ovulación ligeramente superiores a las observadas en alpacas de similar condición corporal en el presente estudio; tal diferencia puede ser debida a que en el estudio conducido por Picha et al (2013), el seguimiento del desarrollo folicular fue muy meticuloso realizándose diariamente una evaluación ultrasonográfica del tracto reproductivo y apareando las hembras sólo cuando estas mostraron un folículo con un diámetro entre 7 - 12mm y además el útero

debía tener el máximo tono y edema; los autores atribuyen sus buenos resultados al buen manejo de los animales.

La menor tasa ovulatoria en las alpacas de condición corporal alta en comparación a las alpacas de condición corporal media y baja, sería consecuencia de que las alpacas del grupo de condición corporal alta tuvieron la mayor pérdida de condición corporal entre el parto y el empadre (0.47 unidades), que representa casi el doble de lo que perdieron en condición corporal las alpacas de condición corporal media (0.26 unidades), mientras que las que menos condición corporal perdieron entre el parto y el empadre fueron las de condición corporal baja (0.08). Tal como mencionan algunos autores, podría haber un efecto del estatus energético sobre el desarrollo folicular y la tasa ovulatoria; debido a que esta disminución en la condición corporal no sólo podría alterar la secreción de LH (Schneider, 2004), sino que además podría haber conducido a una reducción en las concentraciones de FSH que en conjunto ayudan a la maduración folicular; por lo tanto, una disminución en las concentraciones de estas dos hormonas habrían favorecido la atresia folicular lo que conllevaría a una reducción progresiva del tamaño del folículo ovulatorio limitando por ende toda posibilidad de ovular, lo que recae directamente en una menor tasa ovulatoria (Viñoles et al., 2010); esto explicaría porque a pesar de que las alpacas de alta condición corporal que tuvieron folículos de tamaño ovulatorio adecuado no obtuvieron adecuadas tasas de ovulación y llevaría a suponer que la pérdida de la condición corporal entre el parto y el empadre sería un factor de importancia que podría afectar la tasa ovulatoria.

#### **4.2.5. Efecto de la condición corporal sobre las tasas de preñez y mortalidad embrionaria a los 14, 28 y 65 días post empadre**

La tasa de preñez fue evaluada en diferentes momentos, la primera evaluación se realizó a los 14 días post empadre, en aquella ocasión en la mayoría de alpacas fue apreciable a la ultrasonografía la presencia del cuerpo lúteo en el ovario y el incremento del tamaño de la cavidad uterina debido a la presencia de líquido amniótico, el mismo que a la ultrasonografía fue completamente anecogénico. En la tabla 9 figuran los resultados del diámetro de cuerpo lúteo, el mismo que no fue afectado ( $P > 0.05$ ) por la condición corporal o el lado del ovario en el que se instauró el cuerpo lúteo. La diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) observada en la interacción condición corporal por lado del ovario; implicó realizar la prueba de medias de Tukey-Kramer con la finalidad de establecer las diferencias estadísticas entre promedios; sin



embargo, luego de realizar la misma se observó que el tamaño del cuerpo lúteo fue similar entre las diferentes interacciones, con excepción del diámetro del cuerpo lúteo ubicado en el lado izquierdo de alpacas de condición corporal baja que fue relativamente superior ( $P=0.15$ )

**Tabla 9. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 14 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
CC Alta Ovario Derecho	6	8.50±0.67
CC Alta Ovario Izquierdo	8	7.50±0.42
CC Media Ovario Derecho	18	8.33±0.28
CC Media Ovario Izquierdo	18	7.94±0.35
CC Baja Ovario Derecho	16	7.94±0.39
CC Baja Ovario Izquierdo	12	9.17±0.55
<b>Condición corporal</b>		
Alta	14	7.93 ± 0.38
Media	36	8.14 ± 0.22
Baja	28	8.46 ± 0.34
<b>Ovario</b>		
Ovario derecho	40	8.20 ± 0.22
Ovario izquierdo	38	8.24 ± 0.27
<b>Probabilidad</b>		
Condición x Ovario		0.0402
Condición corporal		0.5038
Ovario		0.8200

A través de la determinación de la existencia del cuerpo lúteo y la presencia de líquido amniótico (saco gestacional) fue posible establecer y diagnosticar la preñez de las alpacas a los 14 días post empadre; coincidiendo con lo reportado por Parraguez et al. (1997), quienes indican que la preñez en las alpacas puede ser determinada desde los 9 días de gestación, momento en el que el saco gestacional tendría 0.6cm de diámetro.

A los 28 días post empadre, se realizó el segundo diagnóstico de preñez por ultrasonografía, a este momento la cavidad uterina se encontraba ocupada por el líquido amniótico y la vesícula embrionaria. Los datos que figuran en la tabla 10, muestran el diámetro de la luz de los cuernos uterinos de alpacas preñadas, conjuntamente con el diagnóstico de preñez también se evaluó la sobrevivencia de los embriones determinando el latido cardíaco, que fue positivo en todos los casos. La condición corporal, lado del cuerno uterino en el que se implanto el embrión o interacción de ambos factores no tuvieron efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el diámetro de la luz de los cuernos uterinos.

**Tabla 10. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos de alpacas múltiparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 28 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de la luz de los cuernos uterinos, mm</b>
CC Alta CU Derecho	9	22.22 ± 1.54
CC Alta CU Izquierdo	5	20.00 ± 2.30
CC Media CU Derecho	17	20.88 ± 1.22
CC Media CU Izquierdo	19	21.89 ± 1.18
CC Baja CU Derecho	8	18.63 ± 2.43
CC Baja CU Izquierdo	16	19.56 ± 1.40
<b>Condición corporal</b>		
Alta	14	21.43 ± 1.27
Media	36	21.42 ± 0.84
Baja	24	19.25 ± 1.21
<b>Cuerno uterino</b>		
Derecho	34	20.71 ± 0.93
Izquierdo	40	20.73 ± 0.84
<b>Probabilidad</b>		
Condición x Cuerno		0.6281
Condición corporal		0.2728
Cuerno uterino		0.7584

La última evaluación de la preñez se realizó a los 65 días post empadre por palpación rectal, método que sólo permitió diferenciar alpacas preñadas de aquellas que no lograron mantener una gestación.

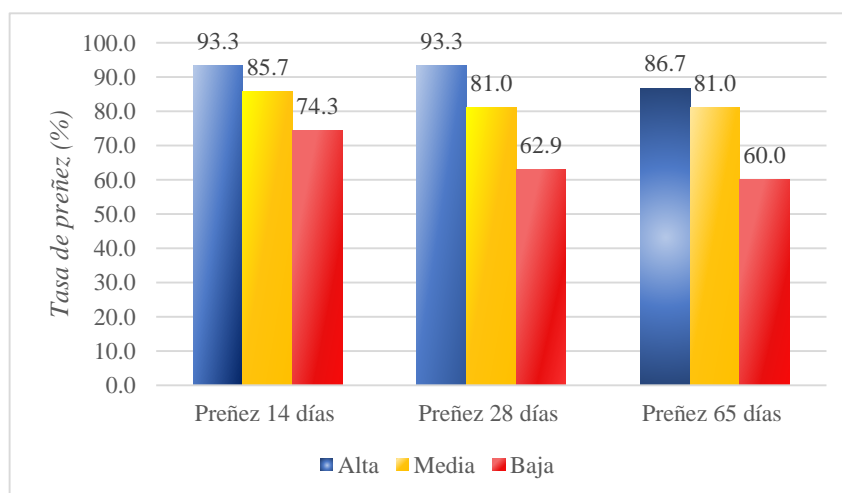
Los diagnósticos de preñez realizados en los diferentes momentos permitieron establecer las tasas de preñez, resultados que se muestran en la tabla 11 y figura 9. A los 14 días de gestación las tasas de preñez no fueron estadísticamente diferentes ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes grupos experimentales según su condición corporal, pero a los 28 días de gestación la tasa de gestación de alpacas de condición corporal baja fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) a las tasas de gestación obtenidas por alpacas de condición corporal media y alta, diferencia que se mantuvo hasta el momento de diagnóstico de preñez a los 65 días post empadre

**Tabla 11. Tasas de ovulación y preñez (%) de alpacas múltiparas de diferente condición corporal**

Condición corporal	Alpacas que Ovularon	Preñez a los 14 días	Preñez a los 28 días	Preñez a los 65 días
Alta	68.2% <sup>b</sup> (15/22)	93.3% (14/15)	93.3% <sup>a</sup> (14/15)	86.7% <sup>a</sup> (13/15)
Media	82.4% <sup>a</sup> (42/51)	85.7% (36/42)	81.0% <sup>a</sup> (34/42)	81.0% <sup>a</sup> (34/42)
Baja	94.6% <sup>a</sup> (35/37)	74.3% (26/35)	62.9% <sup>b</sup> (22/35)	60.0% <sup>b</sup> (21/35)

<sup>a, b</sup> letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Como se puede apreciar en la figura 9, las alpacas de condición corporal alta fueron las que mantuvieron altos porcentajes de preñez y sobrevivencia embrionaria, seguidas por las alpacas de condición corporal media y las que tuvieron una disminución progresiva en las tasas de preñez fueron las alpacas de condición corporal baja.



**Figura 9. Tasa de preñez (%) de alpacas de diferente condición corporal**

La posible malnutrición en las alpacas de baja condición corporal podría ser una causa del bajo porcentaje de preñez observado en éste grupo experimental a los 28 y 65 días de preñez, pues se tiene reportes que indican que la malnutrición no sólo afecta la morfología del ovocito, sino además está comprometida en la alteración de la formación del blastocisto, que es un proceso clave para el desarrollo y crecimiento de un embrión (O'Callaghan y Boland, 1999) y con ello el éxito de la gestación.

Los resultados que se muestran en la tabla 11, permiten apreciar que las alpacas de baja condición corporal obtuvieron una alta tasa ovulatoria, pero fueron los animales de este grupo los que tuvieron las menores tasas de preñez; inversamente, en las alpacas de condición corporal alta la tasa ovulatoria fue la menor, pero las tasas de preñez a los 28 y 65 días post empadre fueron las mayores. En tanto que, en alpacas de condición corporal media las tasas de ovulación y las de preñez se mantuvieron altas en todo momento.

Como resultado de los diagnósticos de preñez también se pudo inferir los porcentajes de pérdidas embrionarias, resultados que se muestran en la tabla 12. Entre los 14 y 28 días no hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en la pérdida embrionaria, según condición corporal de las alpacas; sin embargo, numéricamente las alpacas de baja condición corporal tuvieron un mayor porcentaje de pérdidas. Mientras que las pérdidas embrionarias disminuyeron entre los 28 y 65 días de gestación, momento en el que no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) según la condición corporal de las hembras. Lo que indicaría que un período más crítico para el mantenimiento de la preñez serían los primeros 30 días de gestación.

**Tabla 12. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas mantenidas al pastoreo**

<b>Condición corporal</b>	<b>Pérdida de embriones entre los 14 y 28 días</b>	<b>Pérdida de fetos entre los 28 y 65 días</b>	<b>Pérdida total de gestaciones</b>
Alta	0.0% (0/14)	7.1% (1/14)	7.1% (1/14)
Media	5.5% (2/36)	0.0% (0/34)	5.5% (2/36)
Baja	15.4% (4/26)	4.5% (1/22)	19.2% (5/26)

<sup>a</sup> No hubo diferencia significativa en las tasas de pérdida embrionaria ( $P > 0.05$ )

Las pérdidas embrionarias no pueden ser atribuidas a un solo factor, muchas veces son relacionadas sólo con las concentraciones séricas de progesterona; sin embargo, otras causas como pérdida en la condición corporal pueden también provocar la mortalidad embrionaria (Moore et al., 2005). El factor nutricional tendría un efecto importante y no sólo estaría relacionado con la pérdida de la condición corporal entre el parto y el empadre; sino que las bajas tasas de concepción se pueden asociar con la malnutrición de la hembra desde mucho tiempo atrás en relación al momento del empadre; así lo señala Britt (1992), quien indica que las bajas tasas de concepción serían una consecuencia de las condiciones adversas o la malnutrición que puede tener una hembra 60 a 80 días antes del momento del empadre, ello debido a que los folículos que ovularan el día del empadre se activan e inician su crecimiento con todo ese tiempo de anterioridad, por lo que las condiciones adversas durante ese período de tiempo afectarían seriamente su posterior desarrollo.

Otro aspecto a tener en cuenta para la sobrevivencia embrionaria es el proceso de elongación que sufre el *conceptus* que es un prerrequisito para la implantación exitosa y mantenimiento de la preñez en rumiantes (Ribeiro et al., 2016). En la alpaca el blastocisto eclosionado permanece en el lumen uterino e inicia su elongación el día 8 post empadre y hacia el día 10 post empadre ocupa la mayoría de la cavidad uterina (Picha et al., 2013); éste proceso de elongación inicia mucho antes en comparación al embrión de los bovinos, en el que la elongación se da alrededor de los 14 días pos servicio; este proceso tan importante involucra una rápida proliferación y reorganización de las células del trofoectodermo, lo que hace cambiar la forma y el tamaño de los embriones, siendo categorizados en ovoides (1-4mm), tubulares (5-19mm) o filamentosos (20-60mm), la importancia de esta categorización radica en que los embriones de cada categoría presentan diferencias entre sus transcriptomas; esta expresión diferenciada de los genes tiene como una de sus más importantes funciones celulares y moleculares el metabolismo de los lípidos, los cuales al parecer son usados por las células del trofoectodermo del *conceptus* pre implantado de los rumiantes para su nutrición, homeostasis, señalización y coordinación de la expresión de los genes (Ribeiro et al., 2016).

En vacas, el endometrio fue sugerido como la principal fuente de lípidos para el *conceptus* pre implantado (Ribeiro et al., 2016). El contenido de lípidos en las células epiteliales del endometrio puede fluctuar, pero el inicio de la elongación del *conceptus* solo ocurre cuando las concentraciones de lípidos son máximas, estas altas concentraciones de lípidos podrían

estimular la expresión y actividad de los PPAR $\gamma$  en las células del trofoectodermo modulando los cambios posteriores en los transcriptomas y la biología celular; en contraposición, la pérdida de condición corporal conducente a un balance energético negativo podría alterar la composición de los lípidos en las células endometriales uterinas y la actividad de los PPAR $\gamma$  en el trofoectodermo de las células, afectando la elongación del *conceptus* y por ende incrementarían las tasas de mortalidad embrionaria (Ribeiro, 2018), talvez esta podría ser la causa por la cual las alpacas de baja condición corporal y en menor magnitud las alpacas de condición corporal media tuvieron mayores tasas de mortalidad embrionaria.

Las tasas de mortalidad embrionaria obtenidas en el presente estudio se encuentran dentro de los rangos reportados por diferentes autores; así Aparicio et al (2003), obtuvieron una tasa de mortalidad embrionaria del 8% a los 14 días pos copula e incremento hasta un 25% a los 19-20 días pos copula, sin que las tasas de sobrevivencia embrionaria fueran mejoradas por el empleo de copula post ovulación. Chipayo et al (2003), reportan una tasa de mortalidad embrionaria a los 30 días pos copula de 50%, resultado ampliamente superior al observado en el presente experimento, aun después de la administración de una dosis de estradiol alrededor de los 8 días post ovulación, procedimiento con el que lograron disminuir la tasa de mortalidad embrionaria a 20%.

Los resultados observados en el presente experimento también son inferiores a lo reportado por Cervantes et al (2007), quienes evaluando el efecto del estadio de desarrollo del folículo ovulatorio no encontraron diferencias en las tasas de pérdida embrionaria a los 30 días pos copula, la misma que estuvo alrededor del 44%.

Tal como se puede apreciar en los reportes existentes sobre alpacas, varios protocolos fueron instaurados para mejorar las tasas de sobrevivencia embrionaria; sin embargo, ninguno tomó en cuenta la condición corporal de las alpacas al momento de enrolarlas en sus experimentos y mucho menos durante el desarrollo de los mismos. Los resultados obtenidos en el presente experimento muestran que una condición corporal deficiente ( $<2.5$ ) en el pre parto podría tener un efecto sobre la tasa de preñez y la sobrevivencia embrionaria en alpacas manejadas en condiciones naturales sobre pasturas naturales.

#### 4.2.6. Efecto de la condición corporal sobre las concentraciones séricas de progesterona

La tabla 13, muestra los niveles séricos de progesterona de las alpacas en diferentes momentos de evaluación, no se observó diferencia significativa entre las concentraciones séricas de los diferentes grupos experimentales ( $P > 0.05$ ). La primera evaluación de los niveles séricos de progesterona se realizó a los 7 días pos parto, momento en el que se realizaron diversas actividades con el fin de evaluar el estatus reproductivo de las alpacas, la primera acción realizada fue la verificación del comportamiento sexual de las hembras frente al macho; ante tal evaluación la totalidad de alpacas que tuvieron cuerpo lúteo y por ende ovularon, rechazaron categóricamente al macho; a la evaluación ecográfica realizada después de la evaluación del comportamiento reproductivo se determinó la presencia del cuerpo lúteo en todas las alpacas y adicionalmente se tomó una muestra de sangre inmediatamente después de la ultrasonografía, la que permitió evaluar las concentraciones séricas de progesterona, valores que se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13. Niveles de progesterona (ng/mL) en alpacas multíparas de diferentes condición corporal a diferentes momentos post empadre**

Condición corporal	n	7 días post empadre	n	14 días post empadre	n	28 días post empadre
<b>Alta</b>	15	4.27±0.56	14	5.21±0.81	14	5.96±0.78
<b>Media</b>	42	4.85±0.28	36	4.81±0.38	34	4.78±0.26
<b>Baja</b>	35	4.55±0.35	26	4.73±0.57	22	4.42±0.34

<sup>a</sup> No hubo diferencia significativa en los niveles de progesterona ( $P > 0.05$ )

En las alpacas de condición corporal alta y media el 100% de las alpacas que rechazaron al macho tuvieron la presencia del cuerpo lúteo y además mostraron actividad del cuerpo lúteo reflejado en los niveles séricos de progesterona; pero, en las alpacas de baja condición corporal a pesar de que el 100% de las alpacas que rechazaron al macho tuvieron un cuerpo lúteo, sólo el 91.4% (32/35) tuvieron niveles séricos de progesterona detectables, es decir que el 8.6% de alpacas de este grupo experimental tuvieron un cuerpo lúteo sin actividad hormonal, pues no fueron detectables niveles séricos de progesterona; lo cual nos indica que la sola presencia del cuerpo lúteo en el ovario de una alpaca post empadre no implica que

este sea funcional, siendo la evaluación de las concentraciones séricas de progesterona la única que establece la funcionalidad del tejido luteal (Ferrer, 2014).

Los niveles de progesterona observados en el presente experimento se encuentran alrededor de 4ng/mL, concentración sérica suficiente para mantener la gestación en las alpacas (Ferrer, 2014), el mantenimiento de las altas concentraciones de ésta hormona hasta 2 semanas antes del parto permitirá que a gestación llegue a término (Aba et al., 1998). Concentraciones séricas de progesterona superiores a 2ng/mL (6.4nmol/L) como las observadas en el presente experimento son indicativos de la presencia de un cuerpo lúteo maduro y funcional capaz de mantener la gestación (Vaughan y Tibary, 2006), el cual es el resultado de la luteinización de las células de la teca y granulosa, acompañada de cambios bioquímicos y morfológicos que permiten la secreción de la progesterona (Cummins et al., 2012). La importancia del cuerpo lúteo funcional y el consiguiente incremento progresivo en las concentraciones séricas de progesterona radica en que ésta juega un rol crucial en la estimulación de las secreciones necesarias para el desarrollo y crecimiento embrionario, así como para el mantenimiento de la preñez (Cummins et al., 2012; Rhinehart et al., 2009).

Por una parte, el desarrollo del cuerpo lúteo es posible gracias a la intensa angiogénesis que se da poco después de la ovulación, ello es importante para mejorar el flujo sanguíneo luteal el cual tienen una alta correlación positiva con las concentraciones séricas de progesterona; así mismo, este incremento en el flujo sanguíneo luteal aumentaría la transmisión de las señales embrionarias para el mantenimiento y reconocimiento embrionario por parte de la madre a través de la vía útero-ovárica, esta asunción no ha sido del todo dilucidada debido a que en la mayoría de los trabajos las concentraciones de progesterona sólo son examinadas en plasma periférico y no en el lugar de su síntesis en el cuerpo lúteo (Bollwein et al., 2013); tal vez, este reporte pueda explicar por qué en algunas alpacas a pesar de observar la presencia de cuerpo lúteo a la ecografía, no se pudo encontrar niveles séricos de progesterona.

En un trabajo realizado en alpacas, en el cual evaluaron las concentraciones séricas de progesterona a nivel local (vena ovárica) y a nivel sistémico (vena yugular), observaron una muy diferente concentración de progesterona según el lugar de donde fue obtenida la muestra de sangre; así, la más alta concentración se determinó en la vena ovárica ( $67.5 \pm 12.1$  ng/mL), en comparación a la circulación sistémica (vena yugular,  $2.0 \pm 0.4$  ng/mL); sin embargo, los



investigadores no encontraron diferencias en los niveles séricos de progesterona entre las alpacas que mantenían la gestación en comparación con las que tuvieron pérdida embrionaria, por lo que los autores concluyen que el cuerpo lúteo es funcional durante el proceso de mortalidad embrionaria y probablemente otros factores como la calidad del embrión pueden intervenir en la mortalidad embrionaria (Echevarria et al., 2010).

De otra parte, reportes indican que debido a las variaciones interindividuales en el metabolismo de la progesterona en el hígado, las concentraciones plasmáticas de ésta hormona no necesariamente reflejan la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo (Bollwein et al, 2013), pues bajos niveles de progesterona podrían ser una consecuencia indirecta de la alteración en las demandas nutricionales y estarían relacionadas con el denominado *clearance* esteroideo que se da en las vacas lecheras en lactación, lo que provocaría pérdidas de preñez debido a un incremento en la tasa de *clearance* más que una disminución en la producción luteal; el *clearance* es interpretado como la disminución en las concentraciones séricas de progesterona; sin embargo, intensa investigación requiere ser realizada para caracterizar completamente si el incremento del *clearance* es el resultado de un incremento del flujo sanguíneo hepático, un incremento de la función enzimática hepática o ambos (Rhinehart et al., 2009) y que podría ser afectado por el estatus nutricional de los animales, superiores a los 2.0ng/mL necesarios para el mantenimiento de la preñez reportado por dando por resultado la disminución en las concentraciones séricas de progesterona.

En las alpacas de todos los grupos experimentales en el presente estudio las concentraciones séricas de progesterona se encontraron alrededor de 4ng/mL (12.72nmol/L) y están dentro de los rangos reportados por Aba et al (1997) y Echevarria et al (2010), quienes reportan concentraciones séricas de 4.0ng/mL de progesterona sérica a los 73 días de gestación. Mientras que las concentraciones séricas de progesterona halladas en el presente estudio son Vaughan y Tibary (2006).

#### **4.3. Efecto del cambio en la condición corporal entre el pre parto y el parto**

En la tabla 14 se puede apreciar que el 39.1% de las alpacas pierden  $0.36 \pm 0.02$  unidades de condición corporal, el 51.8% mantienen su condición corporal y el 9.1% de las alpacas ganan  $0.33 \pm 0.04$  unidades de condición corporal entre el preparto y el parto.

**Tabla 14. Cambio de la condición corporal entre el preparto y el parto de alpacas multíparas**

Item	Cambio en la condición corporal		
	Pierden	Mantienen	Ganan
% de alpacas (n/total)	39.1% (43/110)	51.8% (57/110)	9.1% (10/110)
Cambio CC	-0.36±0.02 <sup>c</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.33±0.04 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma fila difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

Los resultados encontrados en el presente experimento indicarían que durante las últimas 4 semanas de gestación (pre parto) los animales no tienen muchas posibilidades de acumular reservas de energía, ello sería debido a que la preñez implica un substancial costo energético para el animal, pues los requerimientos nutricionales al final de la gestación son 75% mayores en comparación a hembras que no están gestantes, siendo la mayor parte de estos nutrientes dirigidos para cubrir no sólo el desarrollo fetal, sino además el crecimiento de las membranas fetales, el útero grávido y la glándula mamaria, todo ello es posible debido a un cambio en la partición de nutrientes que responden a un ajuste homeorrético orquestado por las necesidades del *conceptus* (Bauman y Currie, 1980).

#### **4.3.1. Relación del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación**

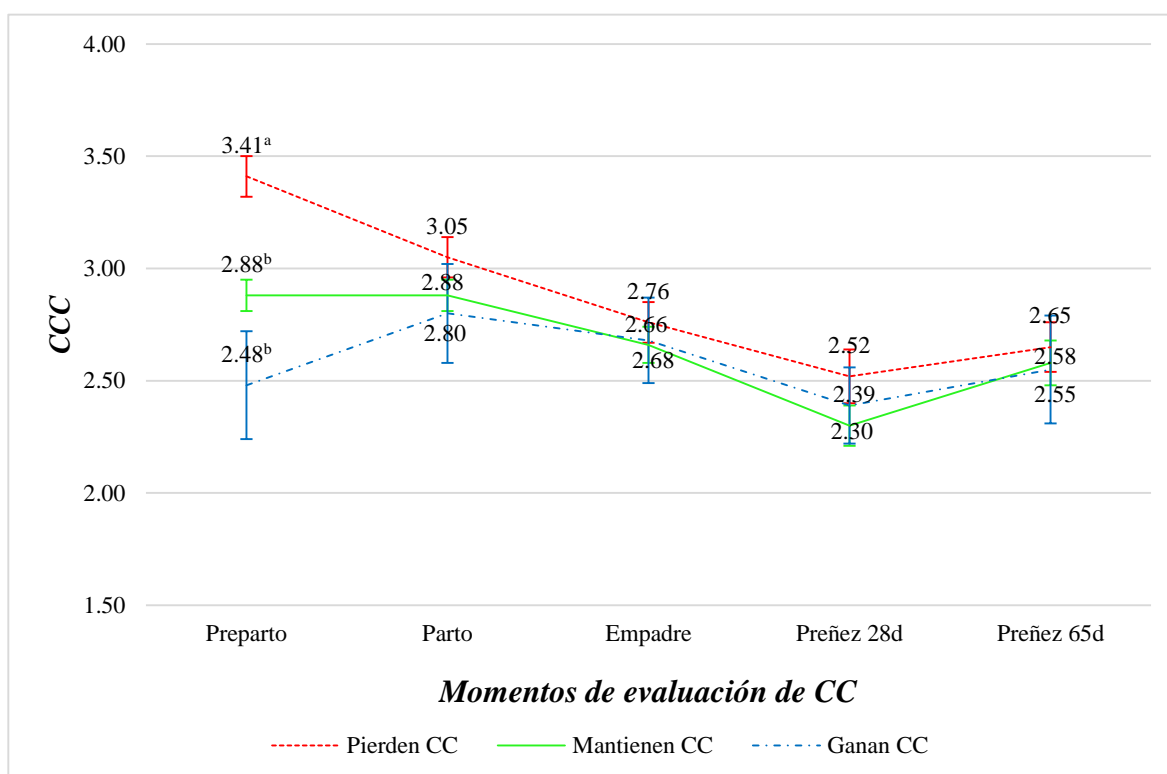
Los resultados que se muestran en la tabla 15, corresponden a la calificación de la condición corporal de las alpacas reagrupadas según cambio en la condición corporal. No hubo efecto de la interacción condición corporal por momento de evaluación. Pero si para los efectos principales, así se observó que la condición corporal de las alpacas que pierden condición es superior al de las alpacas que mantienen o ganan condición corporal ( $P < 0.05$ ); respecto del momento de evaluación la mayor calificación de condición corporal se observó en el preparto y parto, desciende ligeramente al empadre y disminuye marcadamente a los 28 días de preñez, para luego recuperarse a los 65 días de preñez ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 15. Condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas  
múltiparas que cambian condición corporal entre el preparto - parto**

<b>Tratamiento</b>	<b>Calificación de condición corporal</b>
<b>Ganan CC – Preparto</b>	2.48±0.24
<b>Ganan CC – Parto</b>	2.80±0.22
<b>Ganan CC – Empadre</b>	2.68±0.19
<b>Ganan CC – Preñez 28 días</b>	2.39±0.17
<b>Ganan CC – Preñez 65 días</b>	2.55±0.24
<b>Mantienen CC – Preparto</b>	2.88±0.07
<b>Mantienen CC – Parto</b>	2.88±0.07
<b>Mantienen CC – Empadre</b>	2.66±0.08
<b>Mantienen CC – Preñez 28 días</b>	2.30±0.09
<b>Mantienen CC – Preñez 65 días</b>	2.58±0.10
<b>Pierden CC – Preparto</b>	3.41±0.09
<b>Pierden CC – Parto</b>	3.05±0.09
<b>Pierden CC – Empadre</b>	2.76±0.09
<b>Pierden CC – Preñez 28 días</b>	2.52±0.12
<b>Pierden CC – Preñez 65 días</b>	2.65±0.11
<b>Cambio en la condición corporal</b>	
<b>Ganan</b>	2.58±0.09 b
<b>Mantienen</b>	2.66±0.04 b
<b>Pierden</b>	2.88±0.05 a
<b>Momento de evaluación</b>	
<b>Preparto</b>	3.05±0.06 a
<b>Parto</b>	2.94±0.05 a
<b>Empadre</b>	2.70±0.06 a
<b>Preñez 28 días</b>	2.39±0.07 b
<b>Preñez 65 días</b>	2.60±0.07 ab
<b>Probabilidad</b>	
<b>Cambio CC x Momento</b>	0.0769
<b>Cambio en condición corporal</b>	0.0002
<b>Momento de evaluación</b>	<.0001

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

En todos los grupos de alpacas se puede observar una clara tendencia (figura 10) en el cambio de la calificación de la condición corporal que disminuye progresivamente desde el momento del parto hasta los 50 días posparto aproximadamente, momento correspondiente al diagnóstico de preñez temprana realizado a los 28 días pos servicio; éstos resultados nos indicarían que independientemente de que los animales pierdan, mantengan o ganen condición corporal, tendrán la misma tendencia de cambiar su condición corporal entre el parto y los 50 días posparto, esta pérdida estaría relacionada a la producción de leche la cual sería mayor en estos primeros 50 días posparto (Gonzales et al., 2007), la misma que alcanza su pico de producción en la segunda semana posparto y se mantendría alta hasta la quinta o sexta semana posparto (Gonzales et al., 2007; Tibary et al., 2014), razón por la que las alpacas no recuperarían condición corporal sino hasta después de los 50 días posparto.



**Figura 10. Relación del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas múltiparas**

Además, es posible que durante los primeros 50 días posparto esta mayor producción de leche sea consecuencia de una mayor dependencia de la cría por la alimentación materna, a la fecha no existen reportes de ello; sin embargo, durante el desarrollo del experimento fue

posible observar que la cría amamanta únicamente de la madre los primeros 15 a 20 días después de nacida, luego de este período de tiempo las crías empiezan a probar y “curiosear” las pasturas de las praderas donde son pastoreadas en conjunto con sus madres y después de los 25 días ya inician la ingestión de pasturas.

La tendencia en la progresiva disminución de la condición corporal de los animales entre el parto y los 28 días de preñez es similar a la observada en vacunos, en los cuales esta disminución ha sido atribuida a una reducción en la ingesta de materia seca, mucho más acentuada en animales de alta condición corporal debido a que existe una relación inversa entre la condición corporal en el preparto y el consumo de materia seca; de esta forma, los animales que tienen una mayor condición corporal en el pre parto tienen las más bajas tasas de ingestión de materia seca (Bewley y Schutz, 2008).

Mientras que del otra lado de la moneda, las alpacas que tuvieron las menores condiciones corporales en el preparto son las que logran incrementar su condición corporal al momento del parto, ello sería debido a que éstos animales priorizarían la ganancia de peso vivo a expensas de la producción de leche lo que haría suponer que son “biológicamente más eficientes” (Bewley y Schutz, 2008).

#### **4.3.2. Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y parto sobre la salud uterina**

El cambio en la condición corporal no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el tamaño de los cuernos uterinos, cuyas medidas del grosor de la pared uterina oscilan entre 10mm y 11mm y no tuvieron contenido uterino observable a la ultrasonografía, por lo que fueron diagnosticados como clínicamente sanos. Los resultados del presente experimento, indicarían que el cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto no afecta la salud uterina.

Independientemente de la condición corporal existe una diferencia en grosor de la pared de los cuernos uterinos al comparar el lado derecho con el izquierdo, siendo el diámetro del cuerno uterino izquierdo mayor al diámetro del cuerno uterino derecho ( $P < 0.05$ ), como ya se mencionó en puntos anteriores (5.2.2) ésta diferencia estaría presente desde el desarrollo fetal (Mendoza et al., 2013) y se acentúa en la vida adulta después del parto, tal vez como consecuencia de que el 98% de gestaciones en ésta especie se producen en el cuerno uterino

izquierdo (Bravo et al., 1995; Ferrer, 2014), lo que propiciaría que éste último tenga un mayor grosor de pared.

**Tabla 16. Grosor de la pared (mm) de los cuernos uterinos de alpacas multíparas de diferente condición corporal evaluados 1 día antes del empadre (24±5 días pos parto)**

Tratamiento	Grosor de la pared uterina, mm
Ganan CC – Cuerno U. Derecho	10.10±0.80
Ganan CC – Cuerno U. Izquierdo	10.70±0.93
Mantienen CC – Cuerno U. Derecho	10.32±0.30
Mantienen CC – Cuerno U. Izquierdo	11.35±0.27
Pierden CC – Cuerno U. Derecho	10.19±0.30
Pierden CC – Cuerno U. Izquierdo	11.09±0.30
<b>Cambio en condición corporal</b>	
Ganan	10.40±0.60
Mantienen	10.83±0.21
Pierden	10.64±0.22
<b>Cuerno uterino</b>	
Derecho	10.25±0.21 <sup>b</sup>
Izquierdo	11.19±0.20 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	
Cambio en condición x cuerno uterino	0.9122
Cambio en condición corporal	0.6472
Cuerno uterino	0.0014

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

#### **4.3.3. Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre el desarrollo folicular**

El desarrollo folicular evaluado previo al empadre se muestra en la tabla 17, en la que se puede apreciar que no existe efecto ( $P > 0.05$ ) del cambio en la condición corporal sobre el desarrollo folicular, en la evaluación se pudo apreciar folículos desde 2.0mm hasta 12.0mm, con la excepción de un solo animal en el que se observó un folículo de 23.0mm; además, en la mayoría de los animales se observó más de un folículo en ambos ovarios.

El hecho de que el cambio en la condición corporal no tenga efecto sobre el desarrollo folicular no implica que esta no pueda afectar la calidad del ovocito, aspecto que no fue determinado en el presente experimento; pues se sabe que el desbalance energético puede tener efectos severos sobre los folículos en desarrollo en los que se ve comprometida su capacidad de expresión génica, lo que conllevaría a formar ovocitos dañados y por ende folículos maduros disfuncionales (Britt, 1992)

**Tabla 17. Diámetro folicular al momento del empadre a los 24±5 días pos parto de alpacas múltiparas mantenidas a pastoreo**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro folicular, mm</b>
Ganan CC – Ovario Derecho	9	7.67±0.50
Ganan CC – Ovario Izquierdo	10	8.20±0.94
Mantienen CC – Ovario Derecho	56	6.84±0.29
Mantienen CC – Ovario Izquierdo	57	8.18±0.37
Pierden CC – Ovario Derecho	42	7.12±0.33
Pierden CC – Ovario Izquierdo	43	7.56±0.31
<b>Cambio en la condición corporal</b>		
Ganan		7.95±0.54
Mantienen		7.51±0.24
Pierden		7.34±0.23
<b>Ovario</b>		
Ovario Derecho		7.02±0.20 <sup>b</sup>
Ovario Izquierdo		7.94±0.24 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>		
Cambio en condición x Ovario		0.4065
Cambio en condición corporal		0.6414
Ovario		0.0034

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

El mayor diámetro ( $P < 0.05$ ) de los folículos ubicados en el ovario izquierdo, sería debido a que un animal tuvo un folículos de gran tamaño (23mm) ubicado en el ovario izquierdo, el animal no fue retirado del experimento, debido a que luego del empadre se determinó que el folículo había ovulado, e incluso en las siguientes evaluaciones el animal fue diagnosticado gestante.

#### 4.3.4. Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre el desarrollo del cuerpo lúteo y tasa ovulatoria

El tamaño del cuerpo lúteo no fue afectado ( $P > 0.05$ ) por el cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto. Además la presencia del cuerpo lúteo fue utilizada como indicador de ovulación; interesantemente al realizar la ultrasonografía se pudo constatar que se producen ovulaciones dobles, las cuales fueron mayores ( $P < 0.05$ ) en animales que ganan condición corporal (37.5%, 3 de 8 hembras), respecto de las que pierden (11.1%, 4 de 36 hembras) y las que mantienen condición corporal (4.2%, 2 de 48 hembras).

**Tabla 18. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas de diferente condición corporal medido a los 7 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
Ganan CC – Ovario Derecho	4	7.50±0.29
Ganan CC – Ovario Izquierdo	7	8.14±0.83
Mantienen CC – Ovario Derecho	22	8.50±0.38
Mantienen CC – Ovario Izquierdo	26	7.81±0.17
Pierden CC – Ovario Derecho	15	8.00±0.26
Pierden CC – Ovario Izquierdo	25	8.36±0.31
<b>Cambio en la condición corporal</b>		
Ganan		7.91±0.53
Mantienen		8.13±0.20
Pierden		8.23±0.22
<b>Ovario</b>		
Ovario Derecho		8.22±0.23
Ovario Izquierdo		8.09±0.18
<b>Probabilidad</b>		
Cambio en condición x Ovario		0.1563
Cambio en condición corporal		0.8009
Ovario		0.6394

El incremento en la condición corporal está directamente relacionada con una mejor tasa ovulatoria y un mayor número de folículos que ovulan en la oveja, en la que el incremento en la condición corporal antes del servicio mejora el desempeño reproductivo como



consecuencia de un mayor desarrollo de ovocitos debido a una mejor acción de las hormonas gonadotrópicas; además, un buen plano nutricional promueve una gran producción de insulina la cual incrementa la disponibilidad de glucosa que permite incrementar el crecimiento de los ovocitos (Shad et al., 2011).

Aunado a ello, el incremento en la condición corporal puede generar un incremento en las concentraciones séricas de insulina e IGF-I, hecho que se asocia a un incremento en el número de pequeños folículos, así como al potencial de las células de la granulosa para secretar estradiol, lo cual podría tener un efecto sobre la sensibilidad o respuesta de los folículos a la FSH, lo que implicaría un mejor desarrollo folicular (Armstrong et al., 2002), razones por la cuales, una mayor proporción de alpacas que ganan condición corporal pudieron tener ovulaciones dobles.

Los resultados de la tasa ovulatoria se observan en la tabla 19, en la que se puede apreciar que esta fue similar ( $P > 0.05$ ) entre alpacas que pierden, mantienen o ganan condición corporal. La similitud en las tasas ovulatorias sería consecuencia de que en todos los grupos el tamaño de los folículos ovulatorios fue similar y el cambio en la condición corporal entre el parto y parto no afectó el tamaño de los mismos; pues es necesario que los folículos ovulatorios tengan entre 6mm y 12mm de diámetro para obtener las mayores tasas de ovulación, mientras que diámetros menores a 6mm tienen pocas probabilidades de terminar en ovulación (Bravo et al., 1991)

**Tabla 19. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas multíparas de diferente condición corporal**

<b>Cambio en Condición Corporal</b>	<b>Alpacas Empadradas</b>	<b>Alpacas que Ovularon</b>	<b>Tasa ovulatoria (%)</b>
Pierden	43	36	83.7% <sup>a</sup>
Mantienen	57	48	84.2% <sup>a</sup>
Ganan	10	8	80.0% <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

El cambio en la condición corporal no tendría efecto sobre la tasa ovulatoria, toda vez que este proceso depende de adecuadas concentraciones séricas de LH, hormona necesaria para producir la ovulación, la mismas que se incrementan desde los 30 minutos post cópula, son máximas a las 3 horas y retornan a niveles basales 8 horas después; así mismo,

indistintamente de que se produzca o no la ovulación prevalece la ocurrencia de similares niveles de LH entre hembras que ovulan y aquellas que no (Silva et al., 2015). El posible efecto de la nutrición sería debido a que incrementa el número de folículos de tamaño pequeño y mediano que responden a gonadotropinas, sugiriendo que la nutrición incrementa el número de folículos ovulatorios por un incremento del tamaño de cohorte de folículos que responden a gonadotropinas (Armstrong et al., 2002; Scaramuzzi et al., 2011) lo que significaría que un mayor número de folículos sean capaces de ovular.

#### 4.3.5. Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre la tasa de preñez y mortalidad embrionaria

El cambio en la condición corporal de las hembras y el lado del ovario en el cual se ubicó el cuerpo lúteo no tuvieron efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el tamaño del mismo, los resultados se muestran en la tabla 20.

**Tabla 20. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 14 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
Ganan CC – Ovario Derecho	2	9.00±0.00
Ganan CC – Ovario Izquierdo	5	9.20±1.20
Mantienen CC – Ovario Derecho	16	8.00±0.41
Mantienen CC – Ovario Izquierdo	25	8.20±0.31
Pierden CC – Ovario Derecho	17	8.18±0.32
Pierden CC – Ovario Izquierdo	13	8.08±0.35
<b>Cambio en la condición corporal</b>		
Ganan		9.14±0.83
Mantienen		8.12±0.24
Pierden		8.13±0.23
<b>Ovario</b>		
Ovario Derecho		8.20±0.22
Ovario Izquierdo		8.24±0.27
<b>Probabilidad</b>		
Cambio en condición x Ovario		0.9059
Cambio en condición corporal		0.2592
Ovario		0.8891

La ubicación de los embriones hasta este momento de evaluación fue indistintamente en ambos cuernos uterinos, así en alpacas que pierden condición corporal el 53.6% de las gestaciones estuvo en el cuerno uterino derecho (CUD) y el 46.4% de las gestaciones se ubicaron en el cuerno uterino izquierdo (CUI); en alpacas que mantuvieron su condición corporal el 40.0% de embriones se ubicaron en el CUD y el 60.0% en el CUI y en las hembras que ganan condición corporal se observó el 50% de gestaciones en cada uno de los cuernos uterinos. En la última evaluación ultrasonográfica a los 28 días post empadre, se pudo comprobar que el cambio en la condición corporal de las alpacas entre el parto y el parto no tuvo efecto significativo ( $P > 0.05$ ) sobre el desarrollo embrionario o de las estructuras placentarias, puesto que el diámetro de la luz de los cuernos uterinos fue estadísticamente similar ( $P > 0.05$ ) en todos los grupos de animales.

**Tabla 21. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos de alpacas múltiparas preñadas de diferente condición corporal medido a los 28 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de la luz de los cuernos uterinos, mm</b>
Ganan CC – Cuerno U. Derecho	3	20.00±4.16
Ganan CC – Cuerno U. Izquierdo	3	17.33±2.67
Mantienen CC – Cuerno U. Derecho	16	20.13±1.40
Mantienen CC – Cuerno U. Izquierdo	24	21.04±1.18
Pierden CC – Cuerno U. Derecho	15	21.47±1.34
Pierden CC – Cuerno U. Izquierdo	13	20.92±1.27
<b>Cambio en la condición corporal</b>		
Ganan	6	18.67±2.29
Mantienen	40	20.68±0.89
Pierden	28	21.21±0.91
<b>Cuerno uterino</b>		
Cuerno Uterino Derecho	34	20.71±0.93
Cuerno Uterino Izquierdo	40	20.73±0.84
<b>Probabilidad</b>		
Cambio en condición x Cuerno uterino		0.7059
Cambio en condición corporal		0.5830
Cuerno uterino		0.9652

La presencia de los embriones en el cuerno uterino ipsilateral al del ovario en el que se produjo la ovulación, podría ser debida a la presencia de una señal embrionaria en el cuerno uterino que recibe al embrión y es capaz de permitir el mantenimiento del cuerpo lúteo hasta al menos 8 días post apareamiento (Picha et al., 2013). A diferencia del reporte de Picha et al (2013), en el presente estudio las gestaciones se observaron indistintamente en ambos cuernos uterinos hasta los 28 días de gestación, tiempo superior a los 22 a 24 días señalados por Picha et al (2013) como el momento en el que todas las gestaciones se ubican en el cuerno uterino izquierdo; además la ubicación de los embriones no estuvo relacionado con que las hembras perdieran, mantuvieran o ganaran condición corporal. Pero a los 65 días de gestación el 97.1% (66/68) de las gestaciones se ubicaron en el cuerno uterino izquierdo en el presente estudio, reporte que coincide con todos los reportes previos.

Los mecanismos exactos del porque las gestaciones en su mayoría se dan en el cuerno uterino izquierdo aún son inciertos (Campbell et al., 2017); sin embargo, algunos estudios indican que existe una diferencia en la expresión de genes responsables del reconocimiento materno y el mantenimiento de la preñez entre los cuernos uterinos derecho e izquierdo (Abdoon et al., 2017); además hay marcadas diferencias en la composición bioquímica y los perfiles proteicos del fluido uterino entre los cuernos uterinos derecho e izquierdo en la alpaca, los cuales podrían ser responsables del mantenimiento de la preñez (Argañaraz et al., 2014). Factores que estarían propiciando que las gestaciones en esta especie se den prioritariamente en el cuerno uterino izquierdo.

#### **4.3.6. Efecto del cambio en la condición corporal entre el preparto y el parto sobre la tasa de preñez y mortalidad embrionaria**

Las tasas de preñez a los 14 días, 28 días y 65 días no fueron afectados ( $P > 0.05$ ) por el cambio en la condición corporal de los animales, los resultados se aprecian en la tabla 22.

**Tabla 22. Tasa de preñez (%) de alpacas de diferente condición corporal**

<b>Cambio en C.Corporal</b>	<b>Alpacas que Ovularon</b>	<b>Preñez a los 14 días</b>	<b>Preñez a los 28 días</b>	<b>Preñez a los 65 días</b>
Pierden	83.7% (36/43) <sup>a</sup>	83.3% (30/36) <sup>a</sup>	77.8% (28/36) <sup>a</sup>	75.0% (27/36) <sup>a</sup>
Mantienen	84.2% (48/57) <sup>a</sup>	81.2% (39/48) <sup>a</sup>	75.0% (36/48) <sup>a</sup>	72.9% (35/48) <sup>a</sup>
Ganan	80.0% (8/10) <sup>a</sup>	87.5% (7/8) <sup>a</sup>	75.0% (6/8) <sup>a</sup>	75.0% (6/8) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

La pérdida de gestaciones se dio independiente del lugar de ubicación del embrión; así en alpacas que disminuyen condición corporal se pierden dos gestaciones una ubicada en el cuerno uterino derecho (CUD) y la otra en el cuerno uterino izquierdo (CUI), en el caso de las alpacas que mantienen condición corporal se pierde una gestación ubicada en el CUI y en las alpacas que ganan condición corporal se pierde una gestación del CUI. Como se puede apreciar, la disminución en las tasas de preñez no necesariamente estarían siendo afectadas por una migración embrionaria y mucho menos por el cambio en la condición corporal, sino que habrían otros factores involucrados en esta pérdida embrionaria que requieren ser estudiados a mayor profundidad.

**Tabla 23. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas mantenidas al pastoreo**

<b>Cambio en Condición Corporal</b>	<b>Pérdida de embriones entre los 14 y 28 días</b>	<b>Pérdida de fetos entre los 28 y 65 días</b>	<b>Pérdida total de gestaciones</b>
Pierden	6.7% (2/30) <sup>a</sup>	3.6% (1/28) <sup>a</sup>	10.0% (3/30) <sup>a</sup>
Mantienen	7.7% (3/39) <sup>a</sup>	2.8% (1/36) <sup>a</sup>	10.3% (4/39) <sup>a</sup>
Ganan	14.3% (1/7) <sup>a</sup>	0.0% (0/6) <sup>a</sup>	7.1% (1/7) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

La ligera superioridad numérica en la tasa de mortalidad embrionaria que se aprecia en la tabla 23, entre los 14 y 28 días de gestación respecto de la que ocurre entre los 28 y 65 de gestación, tendría cierta similitud con el caso de los bovinos en los que una gran proporción de embriones se pierden entre los 8 y 19 días post apareamiento, ocurriendo la mayor tasa de mortalidad embrionaria después del reconocimiento materno que se da entre los 17 y 19 días post apareamiento en la vaca (Moore et al., 2005)

#### **4.3.7. Efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el parto sobre las concentraciones séricas de progesterona**

En la tabla 24 se pueden apreciar los resultados de las concentraciones séricas de progesterona. No se observó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en las concentraciones séricas de progesterona por efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el parto. En otras especies se postula que el cambio en la condición corporal, sobre todo una

pérdida en la condición corporal afectaría el desarrollo del cuerpo lúteo y por ende se ven comprometidas las concentraciones séricas de progesterona, las cuales disminuyen (Moore et al., 2005), tal efecto no fue apreciable en el presente estudio.

El plano nutricional de los animales en el presente estudio, al parecer no tendría un efecto sobre las concentraciones séricas de la progesterona, la cual estimula y mantiene las funciones endometriales necesarias para la sobrevivencia embrionaria, el crecimiento del *conceptus*, la implantación, placentación y desarrollo a término; ello es debido a que la progesterona induce a un grupo de genes en el endometrio que establecen la receptividad uterina, la cual es el estado fisiológico del útero cuando es posible el crecimiento del *conceptus* y la implantación. La ausencia de un desarrollo suficiente del *conceptus* para emitir las señales de reconocimiento de la preñez da por resultado que aquellos genes cambien su función e inicien la luteolisis (Spencer et al., 2015).

**Tabla 24. Niveles de progesterona (ng/mL) en alpacas multíparas de diferentes condición corporal a diferentes momentos post empadre**

Cambio en la Condición corporal	n	7 días post empadre	n	14 días post empadre	n	28 días post empadre
<b>Pierden</b>	35	4.70±0.35 <sup>a</sup>	30	5.01±0.51 <sup>a</sup>	28	5.13±0.40 <sup>a</sup>
<b>Mantienen</b>	48	4.48±0.28 <sup>a</sup>	39	5.39±0.37 <sup>a</sup>	36	4.55±0.27 <sup>a</sup>
<b>Ganan</b>	9	5.31±0.62 <sup>a</sup>	7	4.75±1.09 <sup>a</sup>	6	5.98±1.12 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

Más que el aspecto nutricional, el desarrollo y función del cuerpo lúteo sería resultado de la intensa angiogénesis que se da poco después de la ovulación, la que mejora el flujo sanguíneo luteal y está directamente relacionada con la producción de progesterona (Bollwein et al., 2013); además, de los factores angiogénicos y vasoactivos producidos por las células luteales y células endoteliales que juegan un importante rol en el desarrollo y regresión del cuerpo lúteo, tales factores angiogénicos como el factor de crecimiento endoteial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) promueven la secreción de progesterona, la proliferación celular y la angiogénesis en el desarrollo del cuerpo lúteo (Miyamoto et al., 2009).

#### 4.4. Efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre

En la tabla 25 se puede apreciar los resultados del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre, donde el 57.3% de las alpacas pierden  $0.56 \pm 0.04$  unidades de condición corporal, el 27.3% mantienen su condición corporal y el 15.5% de las alpacas ganan  $0.46 \pm 0.06$  unidades de condición corporal, los resultados mostrados sugieren que los mayores cambios en la condición corporal de las alpacas se pueden dar en este momento del periparto, tal como sucede en la mayoría de los rumiantes.

Estos cambios en la condición corporal tendrían una tendencia similar a la observada en vacas lecheras, en las que se puede apreciar que la mayor proporción de ellas (41.8%) pierden condición corporal entre el parto y el primer servicio, un poco menos mantienen condición corporal (35.8%) y muy pocas ganan condición corporal (22.4%) entre el parto y el primer servicio (Carvalho et al., 2014).

**Tabla 25. Cambio de la condición corporal entre el parto y el empadre de alpacas multíparas**

Item	Cambio en la condición corporal		
	Pierden	Mantienen	Ganan
% de alpacas (n/total)	57.3% (63/110)	27.3% (30/110)	15.5% (17/110)
Cambio CC	$-0.56 \pm 0.04^c$	$0.00^b$	$0.46 \pm 0.06^a$

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma fila difieren significativamente ( $P < 0.05$ )

En el caso del vacuno, se tienen bastante información de que este cambio en la condición corporal es consecuencia de los altos requerimientos nutricionales debidos a los altos niveles de producción láctea que no pueden ser cubiertos con lo que el animal consume, dando por resultado un estado de balance energético negativo y por ende la movilización de tejido adiposo y pérdidas en la condición corporal (Carvalho et al., 2014).

##### 4.4.1. Relación del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre y la calificación de la condición corporal en los diferentes momentos de evaluación

En la tabla 26 se observan los valores de calificación de la condición corporal de las alpacas en los diferentes momentos relacionados a eventos reproductivos en el posparto. La condición corporal fue afectada por la interacción del cambio en la condición corporal con el momento de evaluación ( $P < 0.05$ ) y también entre los momentos de evaluación ( $P < 0.05$ )

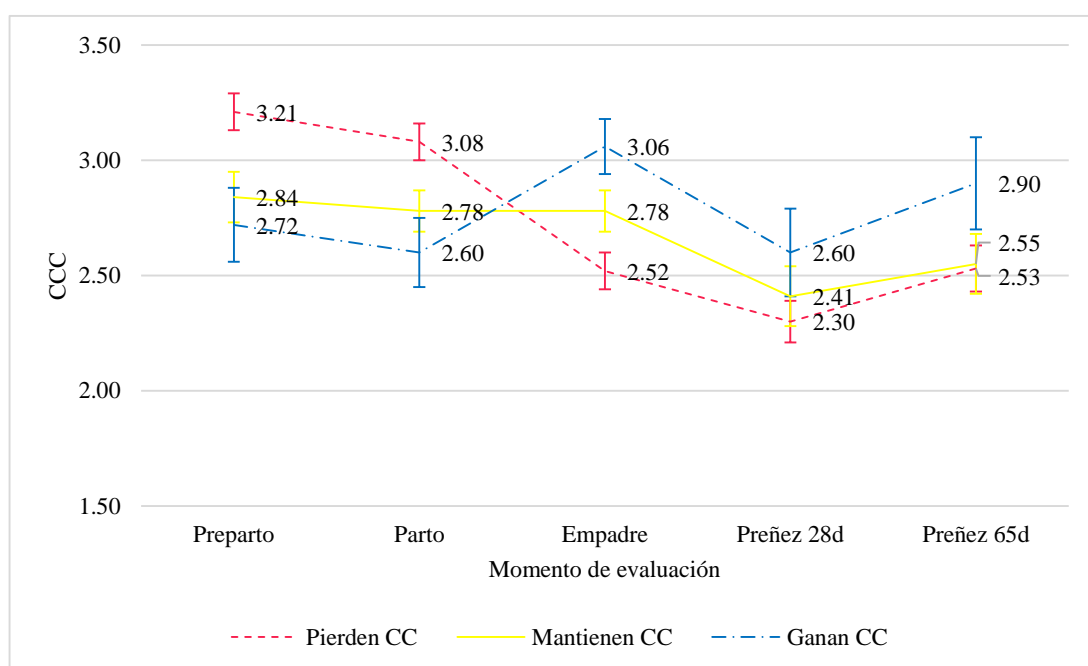
**Tabla 26. Condición corporal en los diferentes momentos de evaluación en alpacas  
múltiparas que cambian condición corporal entre el parto - empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>Calificación de condición corporal</b>
<b>Ganan CC – Preparto</b>	2.72±0.16 <sup>b</sup>
<b>Ganan CC – Parto</b>	2.60±0.15 <sup>b</sup>
<b>Ganan CC – Empadre</b>	3.06±0.12 <sup>b</sup>
<b>Ganan CC – Preñez 28 días</b>	2.60±0.19 <sup>b</sup>
<b>Ganan CC – Preñez 65 días</b>	2.90±0.20 <sup>b</sup>
<b>Mantienen CC – Preparto</b>	2.84±0.11 <sup>b</sup>
<b>Mantienen CC – Parto</b>	2.78±0.09 <sup>b</sup>
<b>Mantienen CC – Empadre</b>	2.78±0.09 <sup>b</sup>
<b>Mantienen CC – Preñez 28 días</b>	2.41±0.13 <sup>b</sup>
<b>Mantienen CC – Preñez 65 días</b>	2.55±0.13 <sup>b</sup>
<b>Pierden CC – Preparto</b>	3.21±0.08 <sup>a</sup>
<b>Pierden CC – Parto</b>	3.08±0.08 <sup>ab</sup>
<b>Pierden CC – Empadre</b>	2.52±0.08 <sup>bc</sup>
<b>Pierden CC – Preñez 28 días</b>	2.30±0.09 <sup>c</sup>
<b>Pierden CC – Preñez 65 días</b>	2.53±0.10 <sup>bc</sup>
<b>Cambio en la condición corporal</b>	
<b>Ganan</b>	2.78±0.07
<b>Mantienen</b>	2.67±0.05
<b>Pierden</b>	2.73±0.04
<b>Momento de evaluación</b>	
<b>Preparto</b>	3.04±0.06 <sup>a</sup>
<b>Parto</b>	2.93±0.06 <sup>a</sup>
<b>Empadre</b>	2.68±0.06 <sup>a</sup>
<b>Preñez 28 días</b>	2.38±0.07 <sup>c</sup>
<b>Preñez 65 días</b>	2.59±0.07 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	
<b>Cambio CC x Momento</b>	<.0001
<b>Cambio en condición corporal</b>	0.4991
<b>Momento de evaluación</b>	<.0001

<sup>a, b</sup> Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ )



En la figura 11 se puede apreciar que las alpacas que pierden condición corporal entre el parto y el empadre son aquellas que tenían las mayores calificaciones de condición corporal en el momento del parto y parto; mientras que las que ganan condición corporal son aquellas que tenían bajas calificaciones de condición corporal en el parto y parto; en tanto que las alpacas que mantienen su condición corporal entre el parto y el parto no tienen mayores cambios de condición corporal entre el pre parto y el parto. Luego del empadre las alpacas de todos los grupos experimentales pierden condición corporal hasta los 28 días de preñez, para luego empezar a recuperar condición hacia los 65 días de gestación.



**Figura 11. Condición corporal evaluada en diferentes momentos de alpacas que cambian su condición corporal entre el parto y el empadre**

El cambio en la condición corporal en el posparto de las alpacas durante la lactación temprana; tal vez, al igual que en la vaca permitiría a la alpaca compensar el vacío entre la dieta, la ingesta de energía y la producción de leche (Gallo et al., 1996). Se sabe que la producción de leche en los camélidos es en muchos casos apenas suficiente para mantener a su cría; sin embargo, se puede apreciar que estos animales a pesar de su baja producción utilizan sus reservas de energía probablemente para soportar la lactación durante los primeros 50 días hasta pasado el pico de lactancia, momento después del cual empiezan a recuperar condición corporal, tal como sucede en el caso de las vacas en las que una vez que

se da la disminución de la producción de leche después de pico de producción se inicia la recuperación de la condición corporal (Bauman y Currie, 1980).

En los camélidos sudamericanos no se tiene mayor conocimiento sobre la relación entre los patrones de producción de leche y consumo de materia seca en el posparto, ello es de suma importancia pues el apropiado conocimiento de los patrones del cambio en la condición corporal durante la lactación, puede ayudar al control de la pérdida natural de las reservas corporales durante la lactación temprana y permitir una rápida intervención si las pérdidas de reservas de energía exceden ampliamente los valores establecidos (Gallo et al., 1996), parámetros que a la actualidad no están determinados.

Así mismo, por todos los datos observados se podría asumir que las alpacas no son capaces de recuperar o almacenar energía durante el mes o mes y medio previo al parto como sucede en la vaca; ello tal vez debido a que éste período previo al parto, coincide con los momentos de menor disponibilidad de alimento en cantidad y calidad (San Martín y Van Saun, 2014); siendo por tanto necesario, que tal vez el monitoreo de la calificación de la condición corporal en los camélidos sudamericanos se realice incluso mucho antes del momento en que las hembras preñadas desteten a sus crías, reduciendo el riesgo de que las hembras lleguen al parto con una excesiva o pobre condición corporal.

#### **4.4.2. Efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre sobre la formación del cuerpo lúteo y tasas ovulatorias**

En la tabla 27, se muestran los resultados del tamaño del cuerpo lúteo evaluado a los 7 días post empadre, sin diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre alpacas que ganan, mantienen o pierden condición corporal. De similar manera no se apreció diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el tamaño del cuerpo lúteo consecuencia de que éste se desarrolle en el ovario derecho o en el izquierdo. Ni hubo efecto ( $P > 0.05$ ) de la interacción del cambio en la condición corporal por el lado de ovario en el que se desarrolló el cuerpo lúteo.

**Tabla 27. Efecto del cambio en la CC entre el parto y el empadre sobre el diámetro (mm) de cuerpo lúteo de alpacas multíparas medido a los 7 días post empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
Ganan CC – Ovario Derecho	7.67±0.56
Ganan CC – Ovario Izquierdo	8.00±0.42
Mantienen CC – Ovario Derecho	8.62±0.45
Mantienen CC – Ovario Izquierdo	8.12±0.37
Pierden CC – Ovario Derecho	8.14±0.30
Pierden CC – Ovario Izquierdo	8.10±0.24
<b>Cambio en condición corporal</b>	
Ganan	7.88±0.33
Mantienen	8.33±0.29
Pierden	8.11±0.19
<b>Ovario</b>	
Derecho	8.22±0.23
Izquierdo	8.09±0.18
<b>Probabilidad</b>	
Cambio en condición x ovario	0.6280
Cambio en condición corporal	0.5730
Ovario	0.6765

En la tasa ovulatoria no fue posible observar diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre alpacas que ganan, mantienen o pierden condición corporal; sin embargo, se puede observar que numéricamente la tasa ovulatoria fue menor en las alpacas que pierden condición corporal, mejora en las que ganan condición corporal y es ligeramente mayor en las alpacas que mantienen condición corporal, estas ligeras diferencias en las tasas ovulatorias observadas como consecuencia del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre no fueron observadas cuando se evaluó la tasa ovulatoria entre alpacas que llegan al parto en diferente condición corporal, ni cuando se evaluó el efecto del cambio en la condición corporal entre el parto y el parto, todo ello haría suponer que tal como en el caso de otros rumiantes como el ovino y vacuno, el periodo entre el parto y el empadre serían los más críticos también en las alpacas y los que tendrían mayor repercusión sobre el desempeño reproductivo.

**Tabla 28. Tasa ovulatoria (%) evaluada por la presencia de cuerpo lúteo 7 días después del empadre de alpacas multíparas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre**

<b>Cambio en Condición Corporal</b>	<b>Alpacas Empadradas</b>	<b>Alpacas que Ovularon</b>	<b>Tasa ovulatoria (%)</b>
Pierden	63	50	79.4% <sup>a</sup>
Mantienen	30	28	93.3% <sup>a</sup>
Ganan	17	14	82.4% <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

Los cambios en la condición corporal que pueden ser debidos a múltiples mecanismos podrían reducir la fertilidad en el posparto, sobre todo en las hembras que pierden condición corporal, debido a que éste estado fisiológico de sub nutrición al que se enfrenta la hembra al inicio de la lactancia afecta la secreción de LH e interfiere en los normales procesos de ovulación, además la baja disponibilidad de energía reduce la respuesta ovárica a la estimulación de LH, afectando el crecimiento folicular y la secreción de estrógeno (Butler, 2003) este efecto sería consecuencia de una disminución de las concentraciones séricas de insulina e IGF-1, las que se encuentran estrechamente relacionadas con la regulación del reclutamiento de los folículos y la regulación de las células de la granulosa (Armstrong et al., 2002), como tal se alteran la producción de estradiol y con ello los receptores a LH necesarios para que se dé la ovulación, (Carvalho et al., 2014)

Catorce días después del empadre, se realizó el primer diagnóstico de preñez; momento en el que se valoró el desarrollo del cuerpo lúteo, el mismo que no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) entre alpacas que ganan, mantienen o pierden condición corporal entre el parto y el empadre, tales resultados se muestran en la tabla 29. También fue posible apreciar que a éste momento sólo las alpacas que mantuvieron condición corporal entre el parto y el empadre fueron capaces de preservar ambos cuerpos lúteos en el caso de los animales que tuvieron ovulaciones dobles, mientras que alpacas que pierden o ganan condición corporal que tuvieron ovulación doble sólo mantuvieron un cuerpo lúteo en la superficie de los ovarios.

**Tabla 29. Diámetro (mm) de cuerpo lúteo medido a los 14 días post empadre de alpacas múltiparas preñadas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>Diámetro de cuerpo lúteo, mm</b>
Ganan CC – Ovario Derecho	7.60±0.51
Ganan CC – Ovario Izquierdo	9.33±0.80
Mantienen CC – Ovario Derecho	8.27±0.38
Mantienen CC – Ovario Izquierdo	9.00±0.45
Pierden CC – Ovario Derecho	8.30±0.32
Pierden CC – Ovario Izquierdo	7.59±0.31
<b>Cambio en condición corporal</b>	
Ganan	8.55±0.55
Mantienen	8.56±0.29
Pierden	7.93±0.22
<b>Ovario</b>	
Derecho	8.20±0.22
Izquierdo	8.24±0.27
<b>Probabilidad</b>	
Cambio en condición x ovario	0.0260
Cambio en condición corporal	0.1776
Ovario	0.7924

Si bien es cierto que no fue factible observar diferencias significativas en el diámetro del cuerpo lúteo ( $P > 0.05$ ), es posible apreciar que las alpacas que mantienen y que ganan condición corporal entre el parto y el empadre tienen una ligera superioridad en el diámetro del cuerpo lúteo respecto de las alpacas que pierden condición corporal. Es propicio aclarar que el diagnóstico de preñez a los 14 días no sólo involucro confirmar la presencia de cuerpo lúteo por ultrasonografía, sino además se observó la apertura de los cuernos uterinos que a la valoración ultrasonográfica fue completamente anecogénica.

El diagnóstico de preñez a los 28 días de gestación fue más completo, pues permitió valorar el diámetro de la luz de los cuernos uterinos, se observó la vesícula embrionaria y también

se determinó el latido cardíaco. En todos los animales diagnosticados como gestantes se observó claramente la cavidad uterina llena de líquido amniótico y en todos los animales se observó el latido cardíaco. Los resultados del diámetro de la luz de los cuernos uterinos se muestran a continuación en la tabla 30, en la que se puede apreciar que no variaron significativamente en alpacas que ganan, mantienen o pierden condición corporal entre el parto y el empadre ( $P > 0.05$ ), la ubicación del embrión en los cuernos uterinos tampoco afectó el diámetro ( $P > 0.05$ ), ni hubo efecto de la interacción de los dos factores mencionados ( $P > 0.05$ ).

**Tabla 30. Diámetro (mm) de la luz de los cuernos uterinos medido a los 28 días post empadre de alpacas multíparas preñadas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre**

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Diámetro de la luz de los cuernos uterinos, mm</b>
Ganan CC – Cuerno U. Derecho	4	21.25±2.14
Ganan CC – Cuerno U. Izquierdo	7	23.71±1.97
Mantienen CC – Cuerno U. Derecho	13	20.85±1.65
Mantienen CC – Cuerno U. Izquierdo	10	18.90±1.21
Pierden CC – Cuerno U. Derecho	17	20.47±1.33
Pierden CC – Cuerno U. Izquierdo	23	20.61±1.19
<b>Cambio en la condición corporal</b>		
Ganan	11	22.82±1.46
Mantienen	23	20.00±1.07
Pierden	40	20.55±0.87
<b>Cuerno uterino</b>		
Cuerno Uterino Derecho	34	20.71±0.93
Cuerno Uterino Izquierdo	40	20.73±0.84
<b>Probabilidad</b>		
Cambio en condición x Cuerno uterino		0.5362
Cambio en condición corporal		0.3513
Cuerno uterino		0.8827

La ausencia del efecto del cambio en la condición corporal de las alpacas entre el parto y el empadre sobre el desarrollo embrionario y de las estructuras placentarias, haría suponer que una vez que se da la fertilización y la implantación muy poco efecto tendrían los cambios en la condición corporal sobre el desarrollo de la estructura embrionarias y que estas prosperarían independientemente del lado del cuerno uterino en que se desarrollan hasta los 28 días de gestación, luego de este período la gran proporción de gestaciones se desarrolla en el cuerno uterino izquierdo, así se pudo observar en el presente estudio en el que a los 65 días de gestación el 97.1% de las preñeces se ubicaron en el cuerno uterino izquierdo.

**Tabla 31. Tasa de preñez (%) de alpacas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre**

<b>Cambio en C. Corporal</b>	<b>Alpacas que Ovularon</b>	<b>Preñez a los 14 días</b>	<b>Preñez a los 28 días</b>	<b>Preñez a los 65 días</b>
Pierden	79.4% (50/63) <sup>a</sup>	84.0% (42/50) <sup>a</sup>	76.0% (38/50) <sup>a</sup>	74.0% (37/50) <sup>a</sup>
Mantienen	93.3% (28/30) <sup>a</sup>	82.1% (23/28) <sup>a</sup>	78.6% (22/28) <sup>a</sup>	78.6% (22/28) <sup>a</sup>
Ganan	82.4% (14/17) <sup>a</sup>	78.6% (11/14) <sup>a</sup>	71.4% (10/14) <sup>a</sup>	64.3% (9/14) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

Estadísticamente no hay efecto ( $P > 0.05$ ) del cambio en la condición corporal entre el parto y el empadre sobre las tasas de preñez que figuran en la tabla 31; sin embargo, numéricamente a los 14 días de preñez las alpacas que ganan condición corporal son las que tienen una menor tasa de preñez. Ello podría ser debido a que durante los primeros 14 días de gestación, además de adecuados niveles séricos de progesterona que son esenciales para realizar la programación del endometrio, es fundamental que se genere un ambiente histotrópico enriquecido dentro del lumen uterino capaz de soportar el desarrollo del blastocisto y la diferenciación del *conceptus* además de colaborar en el reconocimiento materno fetal y desarrollo embrionario (Thatcher, 2017) y tal vez éstos animales que ganan condición corporal tengan dificultades para propiciar un ambiente uterino adecuado.

Además las alpacas que ganan condición corporal entre el parto y el empadre, son animales que tuvieron una baja calificación de condición corporal entre el preparto y el parto, lo que haría suponer que estos animales no pudieron cubrir sus demandas nutricionales y por ende su condición corporal fue baja en el preparto, este insuficiente aporte de nutrientes afectaría

la adecuada formación del ovocito en un estadio muy temprano (60 – 80 días antes de la ovulación), que habría producido que al momento de la ovulación éste ovocito formado deficientemente no sea capaz de ser viable y continuar con su desarrollo, tal como lo menciona Britt (1992).

La pérdida embrionaria también fue un parámetro evaluado en alpacas que cambian su condición corporal entre el parto y el empadre, los resultados se muestran a continuación en la tabla 32, en la que se puede observar que no existe diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en los porcentajes de pérdida embrionaria entre los 14 y 28 días de gestación, ni entre los 28 y 65 días de gestación.

**Tabla 32. Tasa de pérdida embrionaria (%) y fetal (%) de alpacas que cambian condición corporal entre el parto y el empadre**

<b>Cambio en Condición Corporal</b>	<b>Pérdida de embriones entre los 14 y 28 días</b>	<b>Pérdida de fetos entre los 28 y 65 días</b>	<b>Pérdida total de gestaciones</b>
Pierden	9.5% (4/42)	2.6% (1/38)	11.9% (5/42)
Mantienen	4.3% (1/23)	0.0% (0/22)	8.7% (2/23)
Ganan	9.1% (1/14)	10.0% (1/10)	18.2% (2/11)

<sup>a</sup> Letras similares en la misma columna no difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

Las tasas de pérdida fetal no son tan altas como las indicadas anteriormente por Knight et al (1995), quien reporta una tasa total de pérdidas fetales del 27.5% acumulando las pérdidas desde los 35 días de gestación hasta los 120 días, estos autores mencionan como principal causa de pérdidas fetales la migración embrionaria. Así mismo, los resultados son bastante inferiores a la alta tasa de perdidas embrionarias y fetales reportada pro Fernández-Baca (1993).

Talvez las altas tasas de mortalidad embrionaria reportadas en otros estudios son consecuencia de que la mayoría de autores baso la obtención de las tasas de mortalidad embrionaria tomando en cuenta el número de animales que pierden gestaciones entre el número de animales que ovulan; sin embargo, ésta sería una sobre estimación del parámetro, pues en el presente experimento se pudo observar que un considerable porcentaje de hembras que ovulan no logran fertilizar.



## V. CONCLUSIONES

1. La condición corporal de las alpacas en el periparto no está relacionada con la función neutrofílica o las concentraciones séricas de los metabolitos BHB y AGNE.
2. El momento de evaluación en el periparto tiene relación con la función neutrofílica ( $P < 0.05$ ), esta se encuentra disminuida a los 7 días preparto, disminuye aún más al momento del parto y se recupera a los 7 días posparto. De los metabolitos los AGNE, no son afectados por el momento de evaluación ( $P > 0.05$ ), pero si el BHB el cual tiene elevadas concentraciones a los 7 días preparto y al parto, luego disminuye a los 7 días posparto.
3. La condición corporal de las alpacas no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el estado de salud uterina, pues no se observaron signos de inflamación o infección del endometrio uterino.
4. El reinicio de la actividad ovárica y el desarrollo de un folículo de tamaño ovulatorio se observó en más del 90% de las hembras independientemente de la condición corporal ( $P > 0.05$ ); sin embargo, una mayor tasa ovulatoria ( $P < 0.05$ ) fue apreciable en alpacas de media y baja condición corporal y menor en las alpacas de alta condición corporal.
5. La tasa de preñez a los 65 días fue mayor ( $P < 0.05$ ), en alpacas de alta condición corporal, ligeramente menor en las alpacas de condición corporal media e inferior en las alpacas de baja condición corporal.
6. La tasa de mortalidad embrionaria fue estadísticamente similar ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes grupos de condición corporal; pero fue apreciable una ligera superioridad en la mortalidad embrionaria que se produce entre los 14 y 28 días de gestación en alpacas de condición corporal media y baja.
7. Las concentraciones de progesterona no fueron estadísticamente diferentes ( $P > 0.05$ ) en alpacas de diferente condición corporal.

8. El cambio en la condición corporal de las alpacas entre el parto y parto no produjo variaciones ( $P > 0.05$ ) en desarrollo folicular, desarrollo del cuerpo lúteo, diámetro de cuernos uterinos grávidos, tasas de preñez y mortalidad embrionaria.
9. El cambio en la condición corporal de las alpacas entre el parto y el empadre no propició diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en las variables reproductivas de desarrollo folicular, desarrollo del cuerpo lúteo, diámetro de cuernos uterinos grávidos, tasas de preñez y mortalidad embrionaria.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Determinar las concentraciones séricas de cortisol, glucosa e insulina y relacionarlas con los metabolitos de balance energético en el periparto de alpacas y su efecto sobre la capacidad inmune y desempeño reproductivo.
2. Enfocar el estudio en la evaluación de la mortalidad embrionaria temprana, con énfasis en la determinación de concentraciones séricas de glucosa, IGF-1 e insulina y su relación con el desbalance energético y el cambio en la condición corporal de alpacas.
3. Realizar la evaluación de la relación entre el cambio en la condición corporal sobre el desarrollo y competencia de los folículos ovulatorios en alpacas.
4. Monitorear la condición corporal de las alpacas durante la lactancia, destete y preparto y relacionarla con eventos productivos y reproductivos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba, M.A. 2014. Anatomy and physiology of reproduction in the female llama and alpaca *in: Llama and Alpaca care*. Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 140 – 150.
- Aba, M.A.; Bravo, P.W.; Forsberg, M.; Kindahl, H. 1997. Endocrine changes during early pregnancy in the alpaca. *Animal Reproduction Science* 47: 273-279.
- Aba, M.A.; Sumar, J.; Kindahl, H.; Forsberg, M.; Edqvist, L.-E. 1998. Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub>, progesterone, oestrone sulphate, oestradiol-17β and cortisol during late gestation, parturition and the early postpartum period in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science* 50: 111–121.
- Abdoon, A.S.; Giraud-Delville, C.; Kandil, O.M.; Kerboeuf-Giraud, A.; Eozénou, C.; Carvalho, A.V.; Julian, S.; Sandra, O. 2017. Maternal recognition of pregnancy and implantation are not associated with an interferon response of the endometrium to the presence of the conceptus in dromedary camel, *Theriogenology* 90: 301 - 308
- Adams, G.; Griffin, P.; Ginther, O. 1989. In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus and cervix in llamas. *Biol. Reprod.* 41:551-558.
- Adewuyi, A.A.; Gruys, E.; van Eerdenburg, F.J.C.M. 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly* 27(3): 117-126
- Allegrucci, C.; Hunter, M.G.; Webb, R.; Luck, M.R. 2003. Interaction of bovine granulosa and theca cells in a novel serum-free co-culture system. *Reproduction* 126: 527–538
- Aparicio, M; Leyva, V; Novoa, C; Garcia, W. 2003. Efecto de la copulación durante el celo post-ovulatorio en la mortalidad embrionaria en alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú* 14(1): 24-32.
- Argañaraz, M.E.; Apichela, S.A.; Zampini, R.; Vencato, J.; Stelletta, C. 2015. Biochemical and protein profile of alpaca (*Vicugna pacos*) uterine horn fluid during early pregnancy. *Reprod Domestic Anim* 50 (1):121-128.

- Armstrong, D.G.; Gong, J.G.; Gardner, J.O.; Baxter, G.; Hogg, C.O.; Webb, R. 2002. Steroidogenesis in bovine granulosa cells: the effect of short-term changes in dietary intake. *Reproduction* 123: 371–378
- Azwai, S.M.; Abdouslam, O.E.; Al-Bassam, L.S.; Al Dawek, A.M.; Al-Izzi, S.A.L. 2007. Morphological characteristics of blood cells in clinically normal adult llamas (*Lama glama*). *Veterinarski Arhiv* 77: 69–79.
- Banos, G.; Brotherstone, S.; Coffey, M.P. 2004. Evaluation of body condition score measured throughout lactation as an indicator of fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87(8):2669–2676
- Bauman, D.E.; Currie, W.B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostatis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63(9): 1514-1529
- Beam, S.W.; Butler, W.R. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 54: 411-424
- Bell, AW. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy and early lactation. *J. Anim. Sci.* 73, 2804–2819.
- Berland, M.A.; Ulloa-Leal, C.; Barría, M.; Wright, H.; Dissen, G.A.; Silva, M.E.; Ojeda, S.R.; Ratto, M.H. 2016. Seminal plasma induces ovulation in llamas in the absence of a copulatory stimulus: role of nerve growth factor as an ovulation-inducing factor. *Endocrinology* 157(8): 3224–3232.
- Bewley J.M.; Schutz, M.M. Review: 2008. An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. *The Professional Animal Scientist* 24:507–529
- Bollwein, H.; Lüttgenau, J.; Herzog, K. 2013. Bovine luteal blood flow: basic mechanism and clinical relevance. *Reproduction, Fertility and Development*, 25: 71–79.
- Bravo, P.W., Sumar, J., 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 21: 271–281.
- Bravo, P.W.; Lasley, B.L.; FowleR, M.E. 1995. Resumption of ovarian follicular activity and uterine involution in the postpartum llama. *Theriogenology* 44:783-791

- Bravo, P.W.; Stabenfeldt, G.H.; Lasley, B.L.; Fowler, M.E. 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American Camelids. *Biology of Reproduction* 45, 553-559
- Bravo, PW; Fowler, ME; Lasley, BL. 1994. The Postpartum Llama: Fertility after Parturition. *Biology of reproduction* 51, 1084-1087
- Britt, J.H. 1992. Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. Dairy Session I "New Concepts in the Interactions of Nutrition and Reproduction" *The Bovine Proceedings* 24: 39 – 43
- Burton, S; Robinson, TF; Roeder, BL; Johnston, EV; Latorre, NP; Reyes, SB; Schaajle, B. 2003. Body condition and blood metabolite characterization of alpaca (*Lama pacos*) three months prepartum and offspring three months postpartum. *Small Ruminant Research* 48, 69–76.
- Burvenich, C.; Van Merris, V.; Mehrzad, J.; Diez-Fraile, A.; Duchateau, A. 2003. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.* 34:521–564.
- Butler, WR. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83, 211–218.
- Cai TQ; Weston PG; Lund LA; Brodie B; McKenna DJ; Wagner WC. 1994. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res*, 55:934 – 943.
- Campbell, A.J.; Ciccarelli, M.; Tibary, A. 2017. Early embryonic development and maternal recognition of pregnancy in camelids: A review. *Spermova* 7(2): 67 – 76.
- Carvalho, P.D.; Souza, A.H.; Amundson, M.C.; Hackbart, K.S.; Fuenzalida, M.J.; Herlihy, M.M.; Ayres, H.; Dresch, A.R.; Vieira, L.M.; Guenther, J.N.; Grummer, R.R.; Fricke, P.M.; Shaver, R.D.; Wiltbank, M.C. 2014. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97(6):3666–3683
- Castañeda-Gutiérrez, E; Pelton, SH; Gilbert, RO; Butler, WR. 2009. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. *Animal Reproduction Science* 112: 301–315

- Cebra, C. 2014. Hepatic, Pancreatic, and Metabolic Disorders in: Llama and Alpaca care. Elsevier Inc 1st edition. Canada. pp 537 - 552
- Cebra, C.K. 2009. Disorders of carbohydrate or lipid metabolism in camelids. *Vet Clin Food Anim* 25: 339–352.
- Cebra, CK; Tornquist, SJ; Van Saun, RJ; Smith, BB. 2001. Glucose tolerance testing in llamas and alpacas. *AJVR* 62, 682–685.
- Cervantes, M; Huanca, W; Huanca, T. 2007. Efecto del estadio de desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y supervivencia embrionaria en alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú* 18(2): 122 – 128.
- Chebel, R.C.; Mendoça L.G.D.; Baruselli, P.S. 2018. Association between body condition score change during the dry period and postpartum health and performance. *J. Dairy Sci.* 101:1–20
- Chipayo, Y.; Leyva, V.; García, W. 2003. Efecto del estradiol en el periodo de reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú* 14 (2): 111-118
- Crookenden, M.A.; Walker, C.G.; Heiser, A.; Murray, A.; Dukkupati, V.S.R.; Kay, J.K.; Meier, S.; Moyes, K.M.; Mitchell, M.D.; Loor, J.J.; Roche, J.R. 2017. Effects of precalving body condition and prepartum feeding level on gene expression in circulating neutrophils. *J. Dairy Sci.* 100(3):2310–2322.
- Cummins, S.B.; Lonergan, P.; Evans, A.C.O.; Butler, S.T. 2012. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *J. Dairy Sci.* 95(7):3698–3710.
- Curtis CR; Erb HN; Sniffen CH; Smith RD; Kronfeld DS. 1985. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68:2347–2360.
- Dalin, AM; Kaeoket, K; Persson, E. 2004. Immune cell infiltration of normal and impaired sow endometrium. *Animal Reproduction Science* 82-83: 401 – 413.
- Delves, P.J.; Roitt, I.M. 2000. The immune system, First of two parts. *N. Engl. J. Med.* 343:37-49.

- Dittmann, MT; Hummel, J; Runge, U; Galeffi, C; Kreuzer, M; Clauss, M. 2014. Characterising an artiodactyl family inhabiting arid habitats by its metabolism: Low metabolism and maintenance requirements in camelids. *Journal of Arid Environments* 107: 41 – 48
- Domecq, J.J.; Skidmore, A.L.; Lloyd, J.W.; Kaneene, J.B. 1997. Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J Dairy Sci* 80:113–120
- Drackley, JK. 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 82: 2259–2273.
- Echevarria, L.; Mendoza, G.; Delgado, A.; Evaristo, R. 2010. Progesterone levels in the ovarian, uterine, and systemic venous blood in alpacas with embryo mortality *In: Sustainable Improvement of Animal Production and Health*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Pp 209 – 214.
- Fernandez-Baca, S., 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 307–323.
- Ferrer, M.S. 2014. Diagnosis of pregnancy and evaluation of high-risk pregnancy *in: Llama and Alpaca care*. Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 250 - 256.
- Field, CJ. 1996. Using immunological techniques to determine the effect of nutrition on T-cell function. *Can J Physiol Pharmacol* 74, 769–777.
- Fowler, M.E. 1998. Feeding and nutrition. *In: Medicine and surgery of South American Camelids: Alpaca, llama, vicuña, guanaco*. 2<sup>nd</sup> Edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp 12-48
- Foster, A.; Bidewell, C.; Barnett, J.; Sayers, R. 2009. Haematology and biochemistry in alpacas and llamas. *In Practice* 31: 276-281
- Gallo, L.; Carnier, P.; Cassandro, M.; Mantovani, R.; Bailoni, L.; Contiero, B.; Bittante, G. 1996. Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. *J Dairy Sci*, 79(6):1009 - 1015
- Galvão, KN. 2012. Association between immune function and development of uterine disease in dairy cows. *Anim Reprod* 9(3): 318-322



- Galvão, KN; Flaminio, MJ; Brittin, SB; Sper, R; Fraga, M; Caixeta, L; Ricci, A; Guard, CL; Butler WR; Gilbert, RO. 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 93:2926-2937.
- Garcia, W. 2009. Manual de empadre controlado de alpacas. Primera Edición. Edit. Soluciones Prácticas-ITDG. Lima. 40p.
- Gilbert, RO; Shin, ST; Guard, CL; Erb, HN; Frajblat, M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879–1888
- Gonzáles, R.; Leyva, V.; García, W.; Gavidia, C.; Ticona, D. 2007. Efecto de la alimentación sobre la producción láctea en llamas seleccionadas para producción de carne. *Rev Inv Vet Perú* 18 (1): 30-39
- Gonzalez-Bulnes, A.; Pallares, P.; Vazquez, M.I. 2010. Ultrasonographic imaging in small ruminant reproduction. *Reprod Dom Anim* 45 (Suppl. 2): 9–20.
- Graugnard, D.E.; Bionaz, M.; Trevisi, E.; Moyes, K.M.; Salak-Johnson, J.L.; Wallace, R.L.; Drackley, J.K.; Bertoni, G.; Loor, J.J. 2012. Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum. *J. Dairy Sci.* 95(4):1749–1758
- Green, D.A.; Brink, D.R.; Bauer, M.L. 1994. Characterization of feed intake and estradiol-17 $\beta$  during gestation and lactation in twin-bearing ewes. *Small Ruminant Research* 13: 153-158.
- Grummer, RR. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3882–3896.
- Grummer, RR; Mashek, DG; Hayirli, A. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin N Am. Food Anim.* 20, 447–470.
- Hajduk, P. 1992. Haematological reference values for alpacas. *Aust Vet J* 69: 89–90.
- Hammon, DS; Evjen, IM; Dhiman, TR; Goff, JP; Walters, JL. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein Cows with uterine health disorders. *Vet. Inm. And Immubopathology*, 113, 21 - 29.

- Herdt, T.H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 16(2):215 – 230
- Hoedemaker, M., Prange, D.; Gundelach, Y. 2009. Body condition change ante- and postpartum, health and reproductive performance in German Holstein cows. *Reprod Dom Anim* 44, 167–173
- Hoffman, E. 2006. The complete alpaca book. Second revised edition. United State. Bonny Doon Press. 620p.
- Husted, SM; Nielsen, MO; Blache, D; Ingvarsen, KL. 2008. Glucose homeostasis and metabolic adaptation in the pregnant and lactating sheep are affected by the level of nutrition previously provided during her late fetal life. *Domestic Animal Endocrinology* 34: 419–431
- Jahan, N; Minutia, A; Trevisi, E. 2015. Assessment of immune response in periparturient dairy cows using ex vivo whole blood stimulation assay with lipopolysaccharides and carrageenan skin test. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 165: 119–126
- Johnson, M.M.; Peters, J. P. 1993. Technical note: An improved method to quantify nonesterified fatty acids in bovine plasma. *J. Anim. Sci.* 71:753-756.
- Kehrli.Jr., ME. 2015. Immunological Dysfunction in Periparturient Cows: Evidence, Causes and Ramifications. Florida Ruminant Nutrition Symposium. 26th Symposium, February 2 - 4, 2015. <http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/>
- Kim, I; Ki-Jeong, NA; Mhan-Pyo, Y. 2005. Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *Journal of Reproduction and Development* 51(6):757-764
- Kindt, T.; Richard, J.; Goldsby, A.; Barbara, A.; Oldstone, A. 2007. *Kuby Immunology*. 6th edition. W.H. Freeman and Company. NY.
- Knight, T.W.; Ridland, M.; Scott, I.; Death, A.F.; Wyeth, T.K. 1995. Foetal mortality at different stages of gestation in alpacas (*Lama pacos*) and the associated changes in progesterone concentrations. *Animal Reproduction Science* 40 (1995) 89-97.

- Krause, ART; Pfeifer, LFM; Montagner, P; Weschenfelder, MM; Schwegler, E; Lima, ME; Xavier, EG; Brauner, CC; Schmitt, E; Del Pino, FAB; Martins, CF; Corrêa, MN; Schneider, A. 2014. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cow. *Animal Reproduction Science* 145: 8– 14
- Lange, J.; McCarthy, A.; Kay, J.; Meier, S.; Walker, C.; Crookenden, M.A.; Mitchell, M.D.; Loor, J.J.; Roche, J.R.; Heiser, A. 2016. Prepartum feeding level and body condition score affect immunological performance in grazing dairy cows during the transition period. *J. Dairy Sci.* 99(3):2329–2338
- Leon, J.B.; Smith, B.B.; Timm, K.I.; LeCren, G. 1990. Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 88:503 – 511.
- Levy, O. 2007. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Rev.Immunol.* 7:379–390.
- Ley, K.; Laudanna, C.; Cybulsky, M.I.; Nourshargh, S. 2007. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 7:678–689
- Li, P; Yin, Y; Li, D; Kim, SW; Wu, G. 2007. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98, 237–252
- Male, D. 2006. *Immunology: Introduction to the immune system*. 7<sup>th</sup> edition. Elsevier. 533p
- Mallard, B.A.; Dekkers, J.C.; Ireland, M.J.; Leslie, K.E.; Sharif, S.; Lacey Vankampen, C.; Wagter, L.; Wilkie, B. N. 1998. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *J. Dairy Sci.* 81 (2):585–595.
- McArt, JAA; Nydam, DV; Oetzel, GR; Overton, TR; Ospina, PA. 2013. *Review*: Elevated non-esterified fatty acids and b-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance *The Veterinary Journal* 198: 560–570
- McDonald, B.; Kubes P. 2011. Cellular and molecular choreography of neutrophil recruitment to sites of sterile inflammation. *J Mol Med* 89:1079–1088

- Meglia, GE; Johannisson, A; Petersson, L; Waller, KP. 2001. Changes in some blood micronutrients, leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows. *Acta Vet. Scand.* 42,139–150.
- Meikle, A.; Kulcsar, M.; Chilliard, Y.; Febel, H.; Delavaud, C.; Cavestany, D.; Chilbroste, P. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127: 727–737
- Mendoza, G.; Echevarría, L.; Llerena, C.; Castro, A.; Domínguez, M.; Gómez, S.; Ghezzi, M.; Barbeito, C. 2013. Comparación morfológica entre el útero fetal y el útero adulto de la alpaca (*Vicugna pacos*) y la llama (*Lama glama*). *Salud y Tecnología Veterinaria*, 1(1): 1-6.
- Miyamoto, A.; Shirasuna, K.; Sasahara, K. 2009. Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors. *Domest. Anim. Endocrinol.* 37:159–169.
- Moore, D.A.; Overton, M.W.; Chebel, R.C.; Truscott, M.L.; Bon Durant, R.H. 2005. Evaluation of factors that affect embryonic loss in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226 (7): 1112 – 1118
- Morin, DE; Rowan, LL; Hurley, WL; Braselton, WE. 1995. Composition of Milk from Llamas in the United States. *J Dairy Sci* 78:1713-1720
- Moyes, KM; Drackley, JK; Salak-Johnson, JL; Morin, DE; Hope, JC; Looor, JJ. 2009. Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. *J. Dairy Sci.* 92:4301–4316
- Nagahata, H., Makino, S., Takeda, S., Takahashi, H., Noda, H. 1988. Assessment of Neutrophil Function in the Dairy Cow during the Perinatal Period. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 35(1-10), 747–751.
- National Research Council (NRC). 1985. Nutrient requirements of sheep, ed 6 rev, Washington, DC, National Academy Press.
- National Research Council (NRC). 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and New World camelids, Washington, DC, National Academic Press.

- Norambuena, C.; Hernández, F.; Alfaro, J.; Cárcamo, G.; Olavarría, A., Velasco, M. 2018. Relationship between the nutritional state before the breeding period and the reproductive success in alpacas (*Vicugna pacos*) from the Chilean Puna. *Austral J Vet Sci* 50: 55-57
- Norambuena, MC; Silva, M; Urra, F; Ulloa-Leal, C; Fernández, A; Adams, GP; Huanca, W; Ratto, MH. 2013. Effects of nutritional restriction on metabolic, endocrine, and ovarian function in llamas (*Lama glama*). *Anim. Rep. Sci.* 138, 252 – 260
- Nordenfelt, P. y Tapper, H. 2011. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* 90: 271–284
- O'Callaghan, D.; Boland, M. P. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *J. Anim Sci* 68: 299 – 314
- Paape, MJ; Bannerman, DD; Zhao, X; Lee, JW. 2003. The bovine neutrophils: Structure and function in blood and milk. *Vet. Res.* 34:597–627.
- Park, A.F.; DeFrain, J.M.; Titgemeyer, Evan C.; and Ferdinand, E.E. 2001. Changes in rumen capacity of dairy cows during the periparturient period. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.3231>
- Parraguez, V.H; Latorre, E; Thénot, M; Ferrando, G; Raggi, LA. 2003. Milk composition in alpaca (*lama pacos*): comparative study in two regions of Chile *Archivos de Zootecnia* 52 (200): 431-439
- Pathak, R.; Prasad, S.; Kumaresan, A.; Kaur, M.; Manimaran, A.; Dang, A.K. 2015. Alterations in cortisol concentrations and expression of certain genes associated with neutrophil functions in cows developing retention of fetal membranes. *Vet Immunol Immunopathol* 168(3-4):164-168
- Petri, B.; Sanz, M.J. 2018. Neutrophil chemotaxis. *Cell and Tissue Research* 371(3): 425–436.
- Picha, Y.; Tibary, A.; Memon, M.; Kasimanickam, R.; Sumar, J. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology* 79: 702–708

- Pierson, R.A.; Ginther, O.J. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21(3): 495-504.
- Pursley, RJ; Martins, JPN. 2011. Enhancing fertility of lactating dairy cows. *Michi. Dairy Rev.* 16, 1–3.
- Ratto, M.; Huanca, W.; Singh, J.; Adams, G.P. 2006. Comparison of the effect of natural mating, LH, and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Animal Reproduction Science* 91: 299–306
- Ratto, M; Cervantes, M; Norambuena, C; Silva, M; Miragaya, M; Huanca, W. 2011. Effect of location and stage of development of dominant follicle on ovulation and embryo survival rate in alpacas. *Animal Reproduction Science* 127: 100– 105
- Rhinehart, J.D.; Starbuck-Clemmer, M.J.; Flores, J.A.; Milvae, R.A.; Yao, J.; Poole, D.H.; Inskip, E.K. 2009. Low peripheral progesterone and late embryonic/early fetal loss in suckled beef and lactating dairy cows. *Theriogenology* 71: 480–490.
- Ribeiro, E.S. 2018. Lipids as regulators of conceptus development: Implications for metabolic regulation of reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 101 (Sym):1–12
- Ribeiro, E.S.; Santos, J.E.P.; Thatcher, W.W. 2016 Role of lipids on elongation of the preimplantation conceptus in ruminants. *Reproduction* 152: R115–R126
- Roche, J. R.; Friggens, N.C.; Kay, J.K.; Fisher, M.W.; Stafford, K.F.; Berry, D.P. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 92:5769–5801.
- Roche, JF. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 282–296.
- Rodriguez, JS; Pearson LK; Tibary A. 2014 Parturition and obstetric in: Llama and Alpaca care. Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 274 - 286.
- San Martin, F; Bryant, FC. 1989. Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Rum. Res.* 2, 191– 216.
- San Martin, F; Van Saun, RJ. 2014. Applied Digestive Anatomy and Feeding Behavior. *In*: Llama and Alpaca care. Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 51 - 58.

- Sapana, R.; Huanca, T.; Cardenas, O.; Mamani, R.; Gonzalez, M.; Apaza, N. 2012. Empadre Controlado de Alpacas Huacaya del CIP Quimsachata de INIA – Puno – Perú. En: VI Congreso Mundial sobre CAMELIDOS. Arica: Universidad de Chile.
- Scaramuzzi, R.J.; Baird, D.T.; Campbell, B.K.; Driancourt, M.A.; Dupont, J.; Fortune, J.E.; Gilchrist, R.B.; Martin, G.B.; McNatty, K.P.; McNeilly, A.S.; Monget, P.; Monniaux, D.; Viñoles, C.; Webb, R. 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 23: 444–467
- Schneider, J. 2004. Energy balance and reproduction. *Physiol. Behavior* 81: 289–317.
- Shad, F.I.; Tufani, N.A.; Ganie, A.M.; Ahmed, H.A. 2011. Flushing in ewes for higher fecundity and fertility. *Livestock international*, 15 (2): 10-14
- Sheldon, I.M.; Owens, S.E. 2017. Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. *Anim. Reprod.* 14(3), 622–629
- Silva, M.; Fernández, A.; Ulloa-Leal, C.; Adams, G.P.; Berland, M.A.; Ratto, M.H. 2015. LH release and ovulatory response after intramuscular, intravenous, and intrauterine administration of  $\beta$ -nerve growth factor of seminal plasma origin in female llamas. *Theriogenology* 84(7):1096-1102.
- Spencer, T.H.; Forde, N.; Lonergan, P. 2015. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. *J. Dairy Sci.* 99 (7):5941–5950
- Suzuki, T.; Sumantri, C.; Khan, N.H.A.; Murakami, M.; Saha, S. 1999. Development of a simple, portable carbon dioxide incubator for in vitro production of bovine embryos. *Animal Reproduction Science* 54: 149–157
- Svennersten-Sjaunja, K; Olsson, K. 2005. Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 29: 241–258
- Tarazona, A., Ceballos, M., Naranjo, J., Cuartas, C. 2012. Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25 (3), 473-487.

- Thatcher, W.W. 2017. A 100-Year Review: Historical development of female reproductive physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 100(12):10272–10291
- Thompson, I.M.; Cerri, R.L.A.; Kim, I.H.; Ealy, A.D.; Hansen, P.J.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W. 2012. Effects of lactation and pregnancy on metabolic and hormonal responses and expression of selected conceptus and endometrial genes of Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95(10):5645–5656
- Tibary, A.; Johnson, L.W.; Pearson, L.K.; Rodriguez, J.S. 2014. Lactation and neonatal care *in: Llama and Alpaca care.* Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 286 - 297.
- Tornquist, SJ; Cebra, C. 2014. Clinical Pathology. *in: Llama and Alpaca care.* Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 338 - 350
- Turner, M.D.; Nedjai, B.; Hurst, T.; Pennington, D.J. 2014. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1843: 2563–2582
- Van Knegsel, AT; de Vries Reilingh, G; Meulenberg, S; van den Brand, H; Dijkstra, J; Kemp, B; Parmentier, HK. 2007. Natural antibodies related to energy balance in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:5490–5498.
- Van Saun, RJ. 2006. Nutrient requirements of South American camelids: A factorial approach. *Small Ruminant Research* 61: 165–186
- Van Saun, RJ. 2014. Nutritional Requirements *in: Llama and Alpaca care.* Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 59 – 80.
- Van Saun, RJ; Herdt, T. 2014. Nutritional Assessment *in: Llama and Alpaca care.* Elsevier Inc 1st edition. Canada pp 100 – 123.
- Vaughan, J. 2011. Ovarian function in South American camelids (alpacas, llamas, vicunas, guanacos). *Animal Reproduction Science* 124: 237–243.
- Vaughan, J.L.; Macmillan, K.L.; D’Occhio, M.J. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 353–361.
- Vaughan, J.L.; Tibary, A. 2006. Reproduction in female South American camelids: a review and clinical observations. *Small Ruminant Research* 61, 259–281.

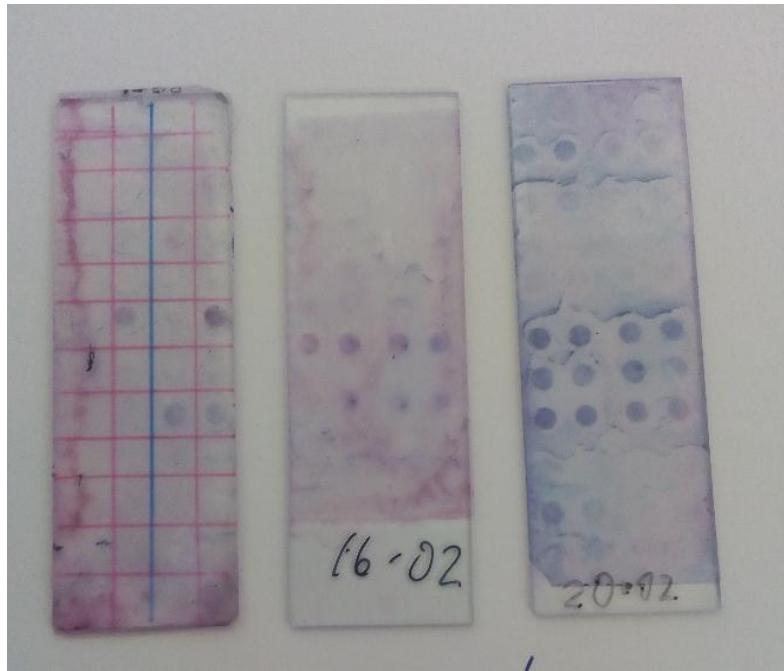


- Viñoles, c.; Paganoni, B.; Glover, K.M.M.; Milton, J.T.B.; Blache, D.; Blackberry, M.A.; Martin, G.B. 2010. The use of a 'first-wave' model to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction* 140: 865–874
- Waldron, MA. 2013. Enhancing Immunity and Disease Resistance of Dairy Cows through Nutrition. Florida Ruminant Nutrition Symposium. 24th Symposium, February 5-6, 2013
- Waller, K.P. 2000. Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 480:231–245.
- Woolums , A.R. 2010. Immune development of the ruminant neonate. In: 2010 Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop; 2010; Grantville,PA, USA; 2010. p. 1-5.
- You, R.; Lv, L.; Cheng, Z.; He, J.; Smith, G.W.; Dong, Ch. 2013. Application of ultrasonography for early pregnancy diagnosis in alpacas (*Lama pacos*). *J. Animal and Veterinary Advances* 12(4): 539-543.

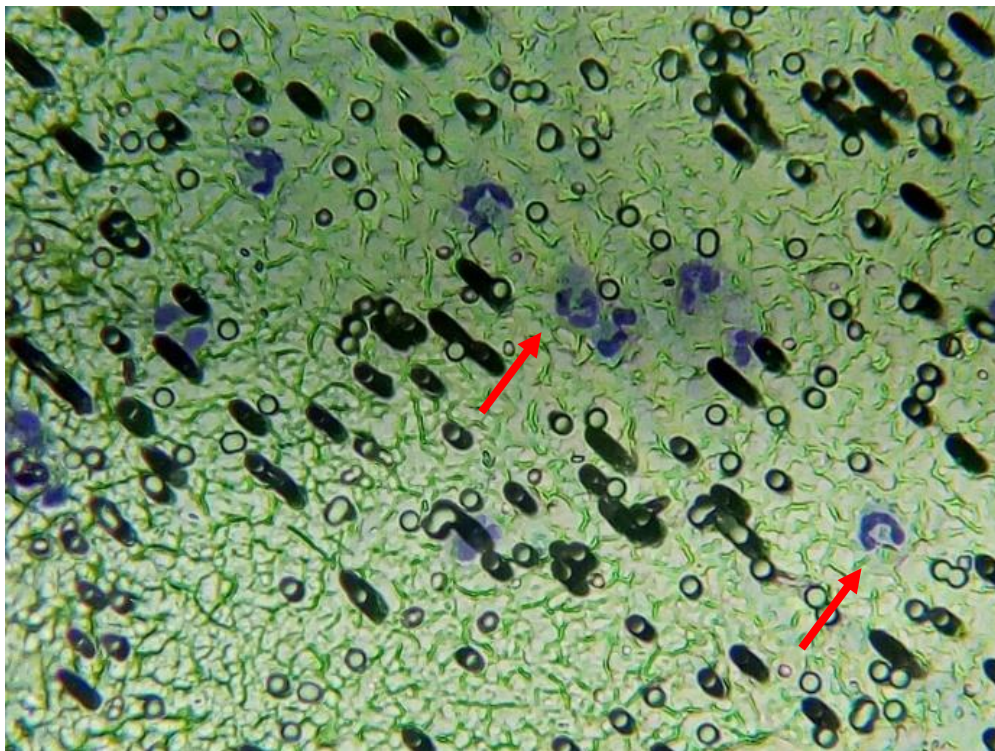
## VIII. ANEXOS



**Anexo 1. Determinación de la condición corporal**



**Anexo 2. Láminas de quimiotáxis después de la tinción**

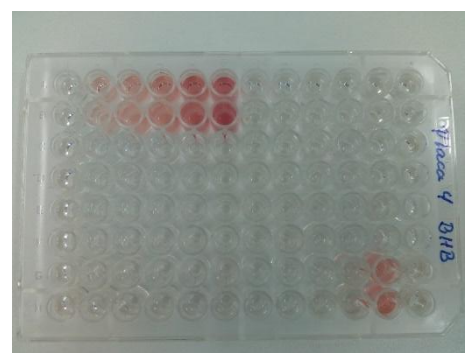
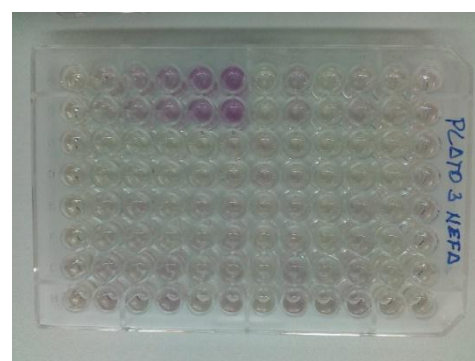
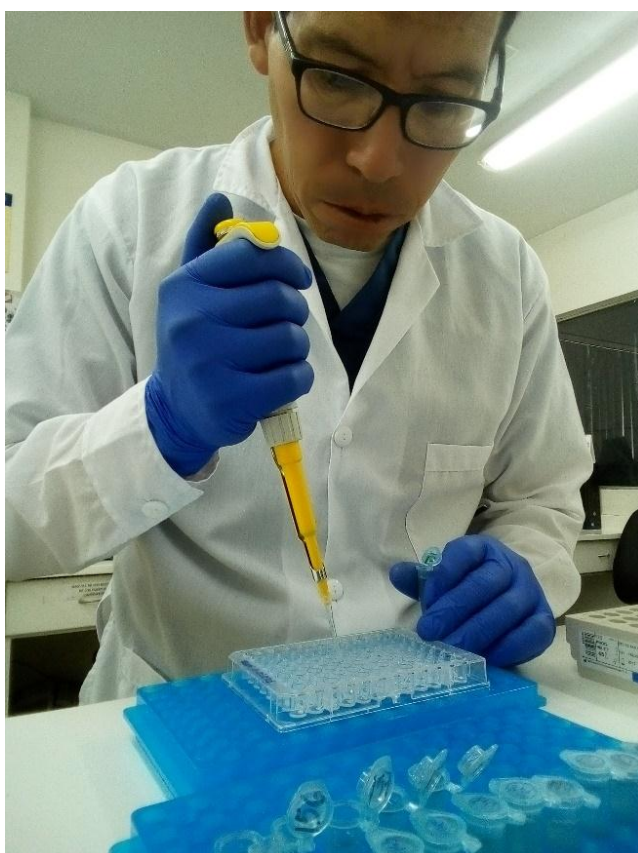


**Anexo 3. Migración de neutrófilos en la prueba de quimiotáxis (↗)**





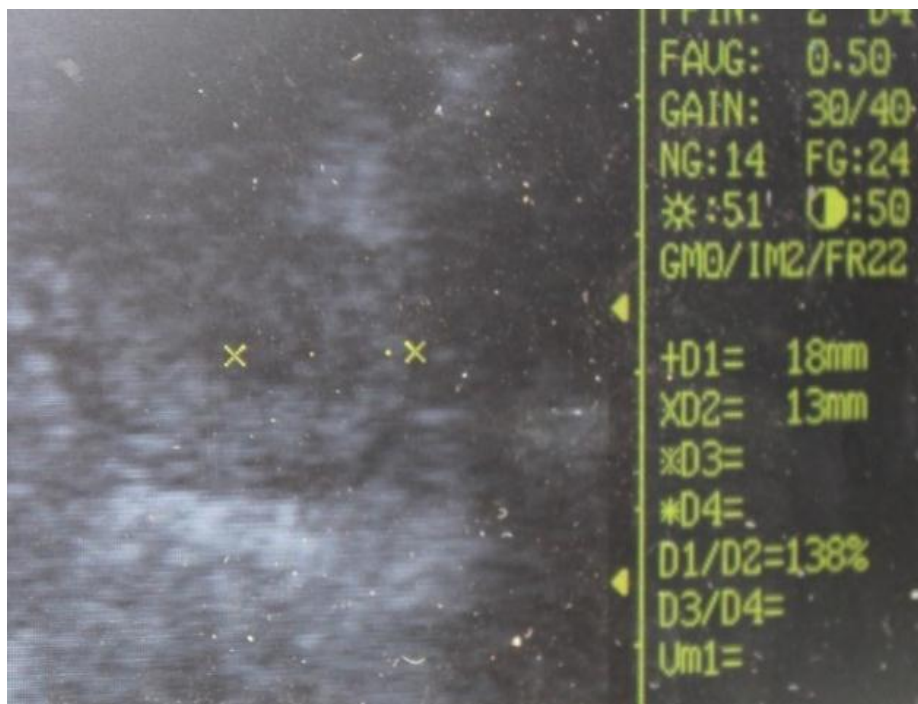
**Anexo 4. Neutrófilos con billas fagocitadas, prueba de fagocitosis (↗)**



**Anexo 5. Determinación de las concentraciones séricas de BHB y AGNE**



**Anexo 6. Evaluación ultrasonográfica de alpacas**



**Anexo 7. Determinación del grosor de pared uterina**