





Corresponde al Anexo I de la Resolución N° 233/21 C.D.

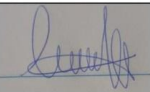
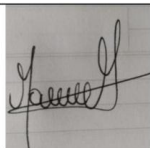


TITULO: "Uso de Gonadotropina Coriónica Equina Recombinante para la superestimulación ovárica en llamas (*Lama glama*)"

INTEGRANTES	FIRMA
Rossetto Liliana	
Miragaya Marcelo	
Carolina P. Bianchi	
María Florencia Galleli	
Franco Gabriel Fabian	
Barth Juliana	

Corresponde al Anexo I de la Resolución N° 233/21 C.D.



Alvarez Zoppi, Ana	
Martin, Manuel	



Número de Proyecto:

Año:

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA
Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: Uso de Gonadotrofina Coriónica Equina Recombinante para la superestimulación ovárica en llamas (*Lama glama*)

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: Reproducción de Camélidos Sudamericanos

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES:

1.5 ÁREA DE CONOCIMIENTO: Agropecuarias y del Ambiente

1.6 SUBÁREA DE CONOCIMIENTO: Producción Animal.

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS: Laboratorio de Reproducción, Cátedra de Reproducción Animal, Departamento de Producción Animal, FCV-UNLPam. IMERVET, FCV UNLPam UDEP

2.2. OTRAS INSTITUCIONES: Área de Endocrinología, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Cátedra de Teriogenología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

2.3. EQUIPO de TRABAJO

2.3.1 . INTEGRANTES

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categ. Invest	Responsabilidad	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac. hs./semana
Rossetto Liliana	23-22425321-4	MV, MSc	-	D	Reproducción animal, FCV, UNLPam	Profesor Adjunto, exclusivo	10
Miragaya Marcelo	20-14157323-4	MV, MSc, PhD		CD	Cátedra de Teriogenología	Profesor Titular	5

Corresponde al Anexo I de la Resolución N° 233/21 C.D.

					de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.	Regular con dedicación exclusiva,	
Carolina P. Bianchi	27-27708501-7	MV, PhD	3	I	Área de Endocrinología, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires	Profesora adjunta	2
María Florencia Gallelli	27-30980122-4	MV, PhD	5	I	Cátedra de Teriogenología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Investigadora asistente de CONICET	Ayudante de primera Semiexclusiva	2
Gabriel Fabián Franco	20-34951040-6	MV	-	I			2
Barth Juliana	27-39942614-1	Estudiante	-	AI	FCV UNLPam	estudiante	2 hs
Álvarez Zoppi, Ana	27-44322203-6	Estudiante	-	AI	FCV UNLPam	estudiante	2 hs.
Martin, Manuel	20-39597169-8	Estudiante	-	AI	FCV UNLPam	estudiante	2 hs

D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

2.3.1. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.2. TESISTAS:

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem

2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
	Director Co-Director Tesisista		

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 2 años

3.1. FECHA de INICIO: 1/1/2022

FINALIZACIÓN: 31/12/2023

4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)

Teniendo en cuenta las particularidades reproductivas de las llamas y a fines de mejorar los índices reproductivos, se hace necesario profundizar el conocimiento respecto a biotecnologías reproductivas. El propósito de este trabajo es evaluar la actividad de la eCG recombinante sobre la superestimulación ovárica y compararla con la eCG tradicional. Se trabajará utilizando 40 llamas hembras y 3 machos. Las llamas con folículos ováricos ≥ 7 mm, serán inducidas para ovular con 8 μ g de busarelina (Día 0). Al Día 3 se dividirán al azar en cuatro grupos: G1 recibirá una dosis de 1000 UI de eCG, G2 recibirá una dosis de 700 UI de eCG, G3 recibirá una dosis de 1000 UI de eCG recombinante y G4 recibirá una dosis de 700 UI de eCG recombinante. El Día 7 se administrará 112.5 μ g de cloprostenol. Al día 10, se realizará una ecografía para determinar la cantidad de folículos con capacidad ovulatoria y su vascularización mediante ecodoppler, recibiendo servicio natural, induciendo la ovulación con busarelina, repitiendo 24 h después el servicio con otro macho para minimizar el efecto macho. Previo a la recuperación embrionaria, se realizará una ecografía para determinar el número de cuerpos lúteos. Los embriones, se evaluarán y clasificarán.

4.1 Palabras claves:

Llamas, eCG recombinante, folículos, cuerpos lúteos, ecodoppler.

4.2 Abstract en inglés: (Máximo 200 palabras) Res.N° 097-CS-12.

South American camelids have reproductive characteristics that must continue to investigate to improve the development of assisted reproductive technologies and improve the reproductive rates of the species. The aim of this study is to evaluate the effect of recombinant eCG on ovarian superstimulation and compare it with traditional eCG. All experimental will be realized using 40 females and 3 male llamas in the FCV UNLPam. The female with follicles >7 mm will receive 8 μ g de buserelin to induced ovulation (Day 0). Day 3 they will be randomly into 4 groups: G1 will receive 1000 IU of eCG, G2 will receive 700 IU of eCG, G3 will receive 1000 IU of recombinant eCG and G4 will receive 700 IU of recombinant eCG, Day 7, all of them will receive 112,5 μ g de cloprostenol. On day 10 would check the number of ovulatory follicles by ultrasound and their vascularization by Doppler ultrasound. Then they will be mating with the male and will receive buserelin to induce ovulation and will be repeated it to minimize the male effect, 24 hours later. The number of corpora lutea will be evaluated by ultrasound before embryonic recovery. The embryos will be evaluated and classified.

4.3. Key words:

Llamas, follicles, corpora Lutea, recombinant eCG, Doppler ultrasound.

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. Introducción

El interés internacional por los camélidos sudamericanos por su fino vellón, carne, o como animales de compañía ha aumentado en las últimas dos décadas (Brown, 2000). Este desarrollo ha sido acompañado de una creciente demanda de tecnologías de reproducción asistida como la inseminación artificial y la transferencia de embriones para mejorar la calidad genética de estos animales rápidamente. En comparación con otros animales domésticos, los camélidos sudamericanos muestran algunas características reproductivas únicas. Son de ovulación inducida, el crecimiento folicular se produce en forma de ondas (Vaughan et al. 2004). El periodo de gestación es de aproximadamente 340 días, pudiendo variar considerablemente entre años, estaciones y animales individuales a pesar de que el sexo de la cría y la edad de la madre no parecen influir en la duración de la gestación (Knight et al.1995, Davis et al 1997). La ovulación ocurre por igual en ambos ovarios, sin embargo, el embrión se implanta en un 95 a 98% de las veces en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca et al. 1973, Bravo y Varela 1993). La migración del embrión del cuerno uterino derecho al izquierdo se ha considerado una posible razón de tasas excepcionalmente altas de mortalidad embrionaria durante el primer mes de gestación (Fernández-Baca et al. 1979). Teniendo en cuenta las particularidades reproductivas de las llamas y a fines de implementar estrategias que permitan mejorar los índices reproductivos en la especie, se hace necesario profundizar el conocimiento respecto a biotecnologías reproductivas como la transferencia embrionaria (Brown, 2000). Actualmente, esta biotecnología es la más factible de aplicar en llamas cuando se busca realizar una mejora genética en la especie. El protocolo de superestimulación más utilizado es la aplicación de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) (Trasorras et al., 2017). Hasta el momento, los productos comerciales son preparaciones de eCG parcialmente purificadas a partir de sangre de yeguas gestantes y tienen como desventajas la variabilidad entre lotes y la posibilidad de contener contaminantes con potenciales riesgos sanitarios (Villarraza CJ, 2016). Es por ello que recientemente, se desarrolló en el país una eCG recombinante que tiene como ventaja que no se utilizan animales para su obtención. Sin embargo, no existen estudios que reporten el uso de la misma en protocolos de superestimulación ovárica en la mayoría de las especies domésticas y tampoco en Camélidos, por tanto, se propone comparar el uso de eCG recombinante respecto a la eCG clásica en la eficacia para lograr la superestimulación ovárica.

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

- M.I. Monina; J.M. Heritier ; O.A. Vera ; M.R. Della Croce , A.J. M. Ierase, L. Rossetto; F.M. Juan; Galetti E.J.R., G. Pechin Semiología Ultrasonográfica del Testículo, Epidídimo, y Cordón Espermático del Toro. Jornada de Ciencia y Técnica 2000. 22/09/2000
- M.I. Monina; J.M. Heritier; O.A. Vera; M.R. Della Croce, A.J. M. Ierase, L. Rossetto; Vespoli Pucheu M.V.; Galetti E.J.R., Olivares, M.D. Anatomía Ultrasonográfica del Testículo, Epidídimo, y Cordón Espermático en el Toro. 2001. Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad de La Pampa
- Resincronización de la ovulación e inseminación a Tiempo Fijo en vacas lecheras
Julián Bartolomé. Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam

Co-Director: Ph D William Thatcher

Investigadores docentes: Liliana Rossetto; Claudio Tobal

Fecha: 1/07/ 2005

Resolución N°: 117/2005 CD

- Administración de Gonadotropina Coriónica Equina en un Protocolo de Inseminación a Tiempo Fijo en Vacas de Carne con Bajo Estado Corporal

Director: PhD Julián Bartolomé. Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam

Investigadores Docentes: Dante Cerutti, Claudio Tobal, Liliana Rossetto, Marcelo Sierro (UNLPam)

Fecha: 27/04/2006

Resolución N°: 101/2006 CD

- Verna, E.; Co-Director: Audisio SA; Integrantes: Vaquero P, Merlasino J, Rossetto L, Ocampo L, Asistente de Investigación: Domene L; Seiffert P. Parámetros biocinmáticos del caballo criollo argentino. 2018 Ciencia Veterinaria, 17 (2)

- Poster “Determinacion de parámetros reproductivos de padrillos de raza criolla en entrenamiento intensivo”

Rossetto L¹, Bartolome J¹, Miragaya M².

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, ² Facultad de Ciencias Veterinarias, INITRA, UBA

3° Congreso Internacional de la SATE, libro de resúmenes, página 154.

Fecha: 2 y 3 de junio de 2016

Lugar: UCA, Campus Puerto Madero, Buenos Aires, Argentina.

- X Jornada de Ciencia y Tecnica, III Jornada insterinstitutional Facultad de Ciencias Veterinarias-Facultad de Ingenieria UNLPam

Modalidad: Poster “Determinacion de parámetros reproductivos de padrillos de raza criolla en entrenamiento intensivo”

Rossetto L¹, Bartolome J¹, Miragaya M².

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, ² Facultad de Ciencias Veterinarias, INITRA, UBA

Fecha: 9 de noviembre de 2017

Lugar: Predio Unidad Didáctica, Experimental y Productiva, FCV, UNLPam

- Rossetto L, Farcey MF, Bilbao MG, Bartlomé J, Gallelli MF, Miragaya M. Hormone Concentrations and Semen Parameters in Criollo Breed Stallions Under Training. JOURNAL OF EQUINE VETERINARY SCIENCE.: ELSEVIER SCIENCE INC. 2021 vol.99 n°. p - . issn 0737-0806

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

- Leoni L., Miragaya M.H., Lager I., Lomónaco M., Fondevila N., Schudel A. “Bovine Herpes Virus-1 DNA detection in *Lama glama* embryos previously infected and washed”. Theriogenology 2002, 57;1:573 Abst.

- Miragaya M.H.,Chaves M.G., Capdevielle E.F., Ferrer M.S., Pinto M., Rutter B, Neild D.M., Agüero A.” In vitro maturation of Llama (*Lama glama*) oocytes obtained surgically using follicle aspiration”. Theriogenology 2002, 57;1: 731.Abst.

- Giuliano S.M., Ferrari M.R., Miragaya M.H., Spirito S.E., Capdevielle E.F., Agüero A.“ Electroejaculation and seminal parameters in *Vicugna vicugna*”. Theriogenology 2002, 57;1: 583.Abst.

- M. Lattanzi, C. Santos, G. Chaves, M. Miragaya, E. Capdevielle, E. Judith, A. Agüero and L. Barañao. “Cryopreservation of Llama (*Lama glama*) embryos by slow freezing and vitrification” Theriogenology 2002, 57;1:585.Abst

- Giuliano S., Pinto M., Director A., Miragaya M., 2003. "Implementación de un protocolo de criopreservación de semen de llama (*Lama glama*) a 5 °C durante 24 horas". Revista Argentina de Producción Animal. vol 23 supl 1 pag 271 - 272 ISSN 0326-0550.
- MH. Miragaya, MA. Aba, EF. Capdevielle, M.S.Ferrer, MG. Chaves, B. Rutter, A. Agüero. "Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*) Theriogenology 2004 vol 61,4, 663-671.
- MA. Aba, MH. Miragaya, MG. Chaves, EF. Capdevielle, B. Rutter, A. Agüero. "Effect of exogenous progesterone and eCG treatment on ovarian follicular dynamics in vicunas (*Vicugna vicugna*). Animal Reproduction Science 86 2005 153-161.
- Agüero, M.A. Aba, E.F. Capdevielle, M.G. Chaves, B.Rutter, C. Bianchi and M.H. Miragaya. "Effect of buserelin on follicular dynamics and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*)". Journal of Camel Practice and Research. Vol 12 N° 2, 149-153.
- Giuliano S, Director A, Trasorras V, Maizon D, Miragaya M. "Membrane integrity and function in fresh and cooled *Lama glama* semen". Biocell 2006, 30 (1) 231
- M.H. Miragaya, M.G. Chaves, A. Agüero. "Reproductive Biotechnology in South American Camelids. Small Ruminant Research 61:299-310, 2006.
- Director, S. Giuliano, Casaretto, V. Trasorras, I Carretero, M. Pinto, M. Miragaya. "Electro ejaculation in llama (*Lama glama*) Journal of Camel Practice and Research. 2007. Vol 14 N°2, 203
- S. Giuliano, A. Director, M. Gambarotta, V. Trasorras, M. Miragaya. "Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*) Animal Reproduction Science (2008) 104 (2-4) 359-369
- P. Conde., C. Herrera, V.L.Trasorras, S.M.Giuliano, A. Director, M.H. Miragaya, M.G. Chaves, M.I. Carchi, D. Stivale, C. Quintans, A. Agüero, B. Rutter, S. Pascualini. "In vitro production of Llama (*Lama glama*) embryos by IVF and ICSI with fresh semen" Animal Reproduction Science 2008 109 (1-4): 298-308.
- Miragaya, M.H.; Trasorras, V.L.; Giuliano, S.M. "Advances in reproductive biology in South American Camelids"
<http://www.ivis.org/proceedings/camelrepro/2008/5.pdf>
- VL. Trasorras, MG. Chaves, MH. Miragaya, MR. Pinto, B. Rutter, M. Flores, A. Agüero. Effect of eCG superstimulation and Buserelin on Cumulus-Oocyte Complexes recovery and maturation in Lamas (*Lama glama*). Reproduction in domestic Animals. 2009 44 (3) 359-364
- Trasorras, VL, Chaves MG, Miragaya M, Neild D, Gambarotta, M, Agüero, A. "Effect of estradiol on maternal recognition of pregnancy after embryo transfer in llamas."
Journal of Camelid Science, 2009, En prensa, ISOCARD Ed. ISSN: 1999-8732. www.isocard.org
- S M Giuliano, D.V.M., Dr.; María I Carretero, V.; Mariana Gambarotta; Deborah M Neild, D.V.M., PhD.; Virginia L Trasorras, V.; Marcelo R Pinto, V.; Marcelo H Miragaya, D.V.M., MSc., PhD. "Improvement of llama (*Lama glama*) seminal characteristics using collagenase" Ani. Repro. Sci., 2010, 118 (1) 98-102
- Casaretto CI, Lombardo D, Giuliano S, Gambarotta M, Carretero MI, Trasorras VL, Miragaya MH. "Morphometrical analysis of *Lama glama* sperm head". 2010 Reprod. Fertil. Dev., 22(1) 310.
- Ratto M, Cervantes M, Norambuena C, Silva M, Miragaya M, Huanca W. "Effect of loction and stage of development of follicle on ovulation and embryo survival rate in alpacas" An. Repro. Sci 2011, 127: 100-105.
- V. Trasorras, S. Giuliano, G. Chaves, D. Neild, A. Agüero, N. Carretero, R. Santa Cruz, C. Baca Castex, A. Alonso, M. Pinto, J. Morell, M. Miragaya. In vitro embryo production in

- llamas (*Lama glama*) from in vivo matured oocytes with fresh semen processed with Androcoll-ETM using defined embryo culture media. *Reprod Domest Anim.* 2012, 47: 562–567.
- Casaretto C., Martínez Sarrasague M., Giuliano S., Rubin de Celis E., Gambarotta M., Carretero I., Miragaya M. Evaluation of *Lama glama* semen viscosity with a cone-plate rotational viscometer. *Andrologia*, 2012 Supplement, Vol. 44, p 335-341
 - Casaretto, C., Lombardo, D., Giuliano, S., Gambarotta, M., Carretero, I., Miragaya, M., 2011. Morphometric analysis of llama (*Lama glama*) sperm head. *Andrologia*, 2012. Supplement, Vol. 44, pp 424-430.
 - Giuliano S.M.; Chaves M.G.; Trasorras V.L.; Gambarotta, M., Neild, D.; Director A.; Pinto M., Miragaya, M.H. “Development of an artificial insemination protocol in llamas using cooled semen”. *Animal Reproduction Science* 2012, 131 pp. 204-210.
 - V. Trasorras, S. Giuliano, M. Miragaya. In vitro production of embryos in South American Camelids. *Review. Anim Reprod Sci.* 2013, 10;136 (3):187-93
 - Ruiz J., Landeo J., Mendoza J., Artica M., Correa E., Silva M., Miragaya MH., Ratto MH. “Vitrification of in vitro mature alpaca oocyte: Effect of ethylene glycol concentration and time of exposure in the equilibration and vitrification solutions” 2013 *Animal Reproduction Science* Vol 143, 72-78.
 - Giuliano SM, Spirito SE, Miragaya MH, Ritter B, Agüero A, Capdevielle EF, Bouquet MD, Ferrari MR “ Aparato reproductor y parámetros seminales de vicuña (*Vicugna vicugna vicugna*) In *Vet* 2013 15 (1-2): 47-55.
 - Apichela SA, Argañaraz ME, Giuliano SM, Zampini R, Carretero MI, Miragaya M, Miceli DC (2014). Llama oviductal reservoirs: involvement of bulbourethral glands. *Andrología*, 46(3): 290-295.
 - Trasorras VL., Baca Castex C., Alonso A., Giuliano S., Santa Cruz R., Arraztoa C, Chaves G., Rodríguez D., Neild DM., Miragaya MH. “First llama (*Lama glama*) pregnancy obtained after in vitro fertilization and in vitro culture of gametes from live animals”. *Animal Reproduction Science.* 148, 83-89.
 - Carretero MI, Fumuso FG, Neild D, Giuliano SM, Cetica P, Miragaya M (2015). Evaluation of the acrosomal status in *Lama glama* sperm incubated with acrosome reaction inducers. *Anim. Reprod. Sci.*, 160: 1-11.
 - Bianchi, CP; Meikle, A; Benavente, MA; Álvarez, MA; Trasorras, V; Miragaya, M; Rodríguez, E; Aba, MA. “Estrogen and progesterone receptors and COX-2 expression in endometrial biopsy samples during maternal recognition of pregnancy in llamas (*Lama glama*)”. *Reproduction in Domestic Animals* 50, 980-988.
 - Fumuso FG, Carretero MI, Miragaya M, Giuliano SM. *SPERMOVA*. 2015, 5(2): 229-233 “Efecto del plasma seminal en los patrones de movilidad espermática y su relación con la criopreservación del semen de llama” <http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.43>
 - Carretero MI, Fumuso FG, Miragaya M, Giuliano SM. *SPERMOVA*. 2015, 5(2): 258-263 “ Evaluación del estado acrosomal en espermatozoides de llama” <http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.46>
 - Santa Cruz R, Giuliano SM, Gambarotta MC, Morrell JM, Abraham MC, Miragaya MH, Carretero MI (2016). Comparison of different methods of sperm selection of llama raw semen. *Anim. Reprod. Sci.* 173: 8-12.
 - Trasorras VL y Miragaya MH. *SPERMOVA* N° 6 Vol 12 Diciembre 2016 (7) “Factores que afectan el desarrollo de la fertilización in vitro en camélidos”
 - Bianchi, C.P., Simonetti, M., Pílon Vargás, D., Benavente, M.A., Aba, M.A. “Sincronización del desarrollo folicular en llamas a través del uso de GnRH y prostaglandina F2 α ”. 11 Simposio Internacional de Reproducción animal. 13 – 15 de agosto, Córdoba, Argentina. Pp 438. ISBN: 978-987-22915-9-4.2016
 - Carretero MI, Giuliano SM, Arraztoa CC, Santa Cruz RC, Fumuso FG, Neild DM (2016). Comparison of two cooling protocols for llama semen: with and without collagenase and seminal plasma in the medium. *Andrologia*, doi: 10.1111/and.12691.

- Arraztoa CC, Miragaya MH., Chaves MG., Trasorras VL., Gambarotta MC., Pendola C., Neild DM. "Porcine sperm vitrification I: cryoloops method" *Andrología* 2016 DOI: 10.1111/and.12706
- Trasorras V, Carretero MI, Neild D, Chaves M, Giuliano S, Miragaya M. "Producción, preservación and transfer" Review Article *Front. Vet. Sci.*, 13 November 2017 <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00190>
- http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2017.00190/full?&utm_source=Email_to_authors_&utm_medium=Email&utm_content=T1_11.5e1_author&utm_campaign=Email_publication&field=&journalName=Frontiers_in_Veterinary_Science&id=276693
- Veiga, MF; Trasorras, VL; Bianchi, CP; Aba, MA; Moncalvo, E.; Chaves, MG; Miragaya, MH. "Administration of progesterone BioRelease LA inhibits follicular growth in llamas (*Lama glama*) regardless of follicle diameter at the start of treatment". *Reproduction in Domestic Animals* 53, 1347-1352.
- Veiga, M.F., Trasorras, V.L., Bianchi, C., Aba, M., Moncalvo, E., Chaves, M.G., Miragaya, M.H. Uso de la Progesterona Biorelease® L.A. en el control de la dinámica ovárica en la llama (*Lama glama*). Resultados Preliminares. 1er Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Reproducción Animal. 25 – 28 de marzo, Buenos Aires. Pp 403-406.
- Gallelli, M; Bianchi, C.; Lombardo, D.; Miragaya, M. "IGF1R expression in alpaca (Vicugna pacos) ovaries. Preliminary results". 5th Conference of the International Society of Camelid Research and development. 12 al 15 de noviembre de 2018. Laayoune, Marruecos.
- Gallelli, M; Bianchi, C.; Lombardo, D.; Giuliano, S.M.; Miragaya, M. "Expresión del receptor de leptina en ovarios de alpaca (vicugna pacos) con o sin cuerpo lúteo". VIII Congreso Mundial sobre Camélidos. 21 al 23 de noviembre de 2018. Oruro, Bolivia.
- Fumuso F.G., Giuliano S.M., Chaves M.G., Neild D.M., Miragaya M.H., Gambarotta M.C., Carretero M.I. "Seminal plasma affects the survival rate and motility pattern of raw llama spermatozoa". *Animal Reproduction Science*. 2019 192: 99-106.
- Fumuso F.G. , Giuliano S.M., Chaves M.G., Neild D.M., Miragaya M.H., Carretero M.I. "Evaluation of the cryoprotective effect of seminal plasma on llama (*Lama glama*) sperm" *Andrología* 51(6) e 13270
- Gallelli, M.F., Bianchi, C., Lombardo, D., Rey, F.M., Rodriguez, F., Castillo, V.A., Miragaya, M., 2019. Leptin and IGF1 receptors in alpaca (Vicugna pacos) ovaries. *Anim. Reprod. Sci.* 200, 96-104
- Gallelli, M.F., Bianchi, C., Trasorras, V., Zampini, E., Aba, M., Miragaya, M., 2019. Synchronization of time of development of ovarian follicular waves in South American Camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 208, e106e105 (<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.017>)
- Gallelli, M.F., Bianchi, C., Zampini, E., Trasorras, V., Gambarotta, M., Miragaya, M., 2020. Corpus luteum vascularization during the maternal recognition of pregnancy in llamas (*Lama glama*). *Reprod. Domest. Anim.* 55, 74-80
- Bianchi, C.P. "Endocrinología de la luteólisis y reconocimiento materno de la preñez en llamas". Seminarios de Actualización en Reproducción Animal 2019 organizados por el Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal INITRA. 11 de octubre de 2019, Buenos Aires.
- Gallelli, M.F., Bianchi, C., Trasorras, V., Zampini, E., Aba, M., Miragaya, M. Estrategias para la sincronización de la onda folicular en llamas. *Revista Taurus*, 2019, N° 83, 36-39. ISSN 1515-3037
- Bianchi, CP; Benavente, MA; Simonetti, M.; Aba, MA. "Synchronization of ovarian activity in llamas (*Lama glama*) using a protocol based on GnRH and PGF2 α ". *Animal Reproduction Science* 192, 200-205.
- Bertuzzi, M.L., Fumuso, F.G., Giuliano, S.M., Miragaya, M.H., Gallelli, M.F., Carretero, M.I., 2020. New protocol to separate llama sperm without enzymatic treatment using Androcoll-E™. *Reprod Dom Anim.* 00, 1–9.

- Fumuso F.G., Giuliano S.M., Chaves M.G., Neild D.M., Miragaya M.H., Bertuzzi M.L., Carretero M.I. "Incubation of frozen-thawed Lama sperm with seminal plasma" *Andrologia* doi 10.1111/and13597
- "Comercialización de productos de pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos en Argentina". Ghirardi P, Aisen E, Frank E, Agüero A, Miragaya M. 2004. En: La comercialización de los productos de pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos, Editado por Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), capítulo 1, pp. 17-29. ISBN 968-02-0115-5.
- Capítulo VII: "Biotecnologías Reproductivas Aplicadas en el macho de Camélidos Sudamericanos" S. Giuliano M.H. Miragaya en : "Producción y Tecnología en Camélidos Sudamericanos" Editor: Mg. Sc. Jaime Antonio Ruiz Béjar. Universidad Nacional de Huancavelica, Perú. 2009.
- Embryo preservation and in vitro production of embryos. Chapter 29. Virginia L Trasorras, Susana M Giuliano, Marcelo H Miragaya. In: Llama and Alpaca Care. Editor A., C Cebre, D. Anderson, R. Van Saun, L Johnsohn Tibary, Editorial:Elsevier. ISBN 978-1-4377-2352-6
- Ovejas, Cabras y Camélidos en Latinoamérica: Producción, salud y comercialización. Parte 3 Camélidos, Reproducción en camélidos hembra y macho, pag 252-275. Primera edición. Curitiba PUCPRESS 2019, ISBN 978-85-54945-53-7. 978-85-54945-56-5 (e-book)
- Bianchi, C.P., Benavente, M.A., Viviani, F., Gallelli, M.F., Aba, M.A., 2020. Estradiol-17 β Injection Induces Ovulation in Llamas. *Frontiers in Veterinary Science*, DOI: 10.3389/fvets.2020.576204 (article in press)
- Gallelli, M.F., Bianchi, C., Zampini, E., Aba, M., Gambarotta, M., Miragaya, M., 2020. Plasma IGF1 and 17 β -estradiol concentrations during the follicular wave in llamas. *Frontiers in Veterinary Science*, DOI: 10.3389/fvets.2020.555261 (article in press)
- Zampini, E.G., Gallelli, M.F., Chaves, M.G., Neild, D.M., Gambarotta, M., Miragaya, M., Trasorras, V.L., 2020. Uterine and corpus luteum blood flow evaluation prior to uterine flushing in llama (*Lama glama*) embryo donors. *Frontiers in Veterinary Science*, DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.597960>
- Cavilla, M.V.; Bianchi, C.P.; Aguilera, F.; Hermida, M.; Aba, M.A. "Hormonal changes and follicular activity after treatment with intravaginal progesterone releasing devices in llamas". *Reproduction in Domestic Animals* 51, 930-939.

PUBLICACION SIN REFERATO

- Eguey J., Miragaya M.H. Los Camélidos Sudamericanos. Pequeños Rumiantes Vol. 7 Julio 2006 pag 20-22.
- Miragaya M.H. Producción in vitro de embriones de camélidos. *InfoVet* Julio 2006 Año XI N° 87
- Bianchi, C.P., Mendoza Torres, G., Castro, A., Felipe, A., Benavente, M.A., Aba, M.A. "Identificación del receptor al factor inductor de la ovulación en el cuerpo lúteo de alpacas preñadas. Resultados preliminares". XIX Congreso medicina veterinaria 2016. 07 – 09 de noviembre de 2016, Pucón, Chile.
- Aba, M.A.; Bianchi, C.P.; Benavente, M.A. "Efecto del 17 β -Estradiol sobre la inducción de la ovulación en llamas (*Lama glama*)". XIX Congreso medicina veterinaria 2016. 07 – 09 de Noviembre de 2016, Pucón, Chile.
- Bianchi, C.P., Simonetti, M., Benavente, M.A., Aba, M.A. "Efecto de un protocolo de GnRH y prostaglandina F2 α sobre la actividad folicular en llamas". V Jornadas Internacionales INITRA. 16 y 17 de Mayo de 2017, Buenos Aires, Argentina.
- Tapia, C., Bianchi, C.P., Rodríguez Pérsico, J.M., Raggio, S., Beltramo, M., Bo, G., Anduaga Marchetti, I. "Quantification of plasma progesterone (P4) in cattle using the ELFA technique". 12° Simposio Internacional de Reproducción Animal. 30 de Agosto y 01 de Septiembre de 2017, Córdoba, Argentina 2018

- Bianchi, C.P.; Simonetti, M.; Benavente, M.A.; Aba, M.A. “Efecto del estado de desarrollo folicular al inicio de un protocolo a base de GnRH y prostaglandina F2 α sobre el porcentaje de sincronización en llamas”. 4to Congreso Internacional en tecnologías embrionarias. 27 y 28 de septiembre de 2018, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

Problema científico: Hasta el momento, los productos comerciales son preparaciones de eCG parcialmente purificadas a partir de sangre de yeguas gestantes y tienen como desventajas la variabilidad entre lotes y la posibilidad de contener contaminantes con potenciales riesgos sanitarios (Villarraza CJ, 2016). Es por ello que recientemente, se desarrolló en el país una eCG recombinante que tiene como ventaja que no se utilizan animales para su obtención y que más?, es decir, esta estandarizada su concentración? Sin embargo, no existen estudios que reporten el uso de la misma en protocolos de superestimulación ovárica en la mayoría de las especies domésticas y tampoco en Camélidos, por tanto, se propone comparar el uso de eCG recombinante respecto a la eCG clásica en la eficacia para lograr la superestimulación ovárica.

Objetivo: Evaluar la actividad de la eCG recombinante sobre la superestimulación ovárica y comparar su efecto con la eCG tradicional.

Hipótesis: La eCG recombinante tiene un efecto de superestimulación folicular similar a la eCG tradicional.

Resultados esperados: se espera determinar la dosis adecuada y evaluar los resultados de la eCG recombinante sobre la superestimulación ovárica y la obtención de embriones, teniendo en cuenta estudios realizados en otras especies. En función a esta información, brindar a médicos veterinarios y a la comunidad científica una nueva herramienta concreta que les permita elegir un nuevo protocolo de superestimulación ovárica, mejorando los índices reproductivos.

Eliminado: .

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS

Este proyecto cuenta con la aprobación de la comisión institucional para el uso y cuidado de animales de experimentación. Las maniobras utilizadas sobre los animales serán llevadas a cabo bajo las normas internacionales de bienestar animal

Población de estudio: Llamas hembras y machos adultos, de entre 4 y 10 años de edad, clínica y reproductivamente sanos, de fertilidad probada. Los mismos se encuentran ubicados en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Pampa. Las hembras se encuentran separadas de los machos, en corrales amplios, con sombra y acceso libre a agua fresca. Todos los animales son alimentados con pastura natural.

Diseño experimental: Se trabajará con un grupo de 40 llamas hembras. Se aplicará un protocolo de sincronización (Pacheco et al., 2020), seleccionando a aquellas llamas que tengan un folículo de tamaño ovulatorio (≥ 7 mm) evaluado mediante ultrasonografía transrectal. Dichas hembras serán inyectadas con 8 μ g de buserelina (Gonaxal® Biogénesis Bagó, Argentina) vía endovenosa para inducir la ovulación (Día 0). A los 3 días posteriores se realizará el control de la dinámica ovárica mediante ultrasonografía transrectal para confirmar la ausencia de folículos > 5 mm y los animales serán divididos en cuatro grupos: G1 (n=10) recibirá una dosis de 1000 UI de eCG (Novormon®, Syntex, Argentina) (Trasorras et al., 2009), G2 (n=10) recibirá una dosis de 700 UI de eCG (Novormon®, Syntex, Argentina) (Pacheco et al., 2020), G3 (n=10) recibirá una dosis de 1000 UI de eCG recombinante (Syntex, Argentina) y G4 (n=10) recibirá una dosis de 700 UI de eCG recombinante (Syntex, Argentina), en todos los

casos administrada por vía IM. El día 7 se administrará una dosis de 112.5 µg de cloprostenol (Enzaprost®, Biogénesis Bagó) vía IM. A los 3 días posteriores (día 10), se realizará una ecografía para determinar la presencia y cantidad de folículos con capacidad ovulatoria (≥ 7 mm) y su vascularización mediante ecodoppler; y luego se realizará el servicio natural en cada hembra con machos de fertilidad probada. Luego del servicio, todas las hembras donantes de embriones recibirán una dosis de buserelina y 24 horas después se repetirá un nuevo servicio natural con otro macho con el objetivo de minimizar el efecto macho.

Recuperación embrionaria: La recuperación embrionaria se realizará mediante lavaje uterino transcervical con ayuda manual desde el recto el día 8 posterior al primer servicio de la hembra donante, según Trasorras et al. (2010). Previo a la recuperación embrionaria, se realizará una ecografía para determinar el número de cuerpos lúteos formados.

Evaluación de los embriones: El filtro de recolección de embriones se llevará al laboratorio y su líquido será volcado en placas Petri reticuladas y atemperadas para la búsqueda de los embriones en lupa estereoscópica (40x) con platina térmica y bajo flujo laminar. Una vez identificados los embriones, se evaluarán y clasificarán en base a su morfología según los criterios de Tibary y Anouassi (1997). Posteriormente, dichos embriones serán conservados durante 24 hs en formol bufferado y luego en alcohol 70% hasta su procesamiento para evaluar la expresión de hormonas/receptores hormonales mediante *inmunohistoquímica* (a fines de realizar un *ensayo asociado al presente trabajo*).

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

Hasta el momento, no hay reportes del uso de eCG recombinante en la especie *lama glama*, como tampoco reportes en los que se compare el efecto de la misma con la eCG clásica. Los productos comerciales son preparaciones de eCG parcialmente purificadas a partir de sangre de yeguas gestantes y tienen como desventajas la variabilidad entre lotes y la posibilidad de contener contaminantes con potenciales riesgos sanitarios (Villarraza CJ, 2016). La eCG recombinante tiene como ventaja que no se utilizan animales para su obtención. Por lo tanto, el presente trabajo contribuiría a brindar a médicos veterinarios y a la comunidad científica una nueva herramienta concreta que les permita elegir un nuevo protocolo de superestimulación ovárica, mejorando los índices reproductivos.

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

Año/ meses	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1° año												
Superestimulación		x	x	X	x	x	x	x	X	x	x	
Ecografía	x	x	x	X	x	x	X	x	x	x	x	
servicio		x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	
Recuperación de embriones		x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	
Análisis de datos											x	x
Actualización bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X	x	x
Publicación parcial de resultados												x
2° año												
Actualización bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Publicación de resultados								x	x	x	x	x

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

Manga de tacto techada, ecógrafo doppler Saote MyLabOne, bozales y cabestros, lupa de búsqueda de embriones, placas de Petri, circuito T , filtros para embriones.

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

Llamas (*Lama glama*) 40 hembras y 3 machos, eCG clásica, eCG recombinante, buserelina, cloprostenol, ringer lactato, jeringas descartables de 5 ml x 100 unidades, agujas hipodérmicas descartables 25x8 x 100 unidades, agujas hipodérmicas descartable 40x12 por 100 unidades, guantes de látex, guantes de tacto, gel lubricante, gel lubricante estéril, sondas para lavaje uterino, formol buferado, alcohol 70%

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

Para llevar a cabo los objetivos propuestos en este proyecto, las llamas serán donadas por el establecimiento “La Josefina” y los laboratorios proveerán de las hormonas que se utilizarán en este proyecto: Buserelina (Gonaxal® Biogénesis Bagó, Argentina), eCG (Novormon®, Syntex, Argentina), eCG recombinante (Syntex, Argentina), cloprostenol (Enzaprost®, Biogénesis Bagó)

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual)

Bienes de Consumo	\$ 35000
Viajes.....	\$15000
Otros (congresos y jornadas).....	\$10000
Total.....	\$ 60000

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

8.1. BIBLIOGRAFÍA

- Brown, B.W., 2000. A review on reproduction in South American Camelids. Anim Reprod Sci, 58, 169–195.
- Pacheco, J.I., Velez, G.M., García, W.C.R. (2020). Evaluation of a new protocol of superovulation in llamas: ovarian response, embryo recovery and post treatment effects. Rev. Inv. Vet. Perú, 31: e18731.
- Tibary, A.; Anouassi, A. (1997). Theriogenology in Camelidae. Anatomy, physiology, pathology and artificial breeding. In: Reproductive Physiology in female camelidae. Actes Éditions, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (Maroc), printed by Abu Dhabi Printing and Publishing Company, United Arab Emirates, 169-241
- Trasorras, V.; Chaves, M.; Miragaya, M.; Pinto, M.; Rutter, B.; Flores, M.; Agüero, A. (2009). Effect of eCG superstimulation and buserelin on cumulus-oocyte complexes recovery and maturation in llamas (*Lama glama*). Reprod. Dom. Anim., 44: 359-364.

- Trasorras, V.L.; Chaves, M.G.; Neild, D.; Gambarotta, M.; Aba, M.; Agüero, A. (2010). Embryo transfer technique: factors affecting the viability of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.*, 121: 279-285.
- Trasorras VL, Carretero MI, Neild DM, Chaves MG, Giuliano S, Miragaya M. (2017). Production, Preservation, and Transfer of South American Camelid embryos. *Front. Vet. Sci.* 4, 190.
- Villaraza, CJ. (2016). Producción de Hormona Gonadotrofina Coriónica equina recombinante en células Cho-K1. XX Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral.
- Moscoso, M.G., Cutaia, M.L., Aviles, M., Videla Dorna, I., Alisio, L., Moreno, D., 2020. Effect of 2000IU of synthetic ecg-like glycoprotein on the follicular development and ovulation in beef cows (*Bos Taurus*). 19th ICAR
- Cuadro, F., Nuñez-Olivera, R., Brochado, C., Cutaia, L., Videla Dorna, I., Menchaca, A., 2020. Effect of a synthetic ecg-like glycoprotein on the follicular development and ovulation in anestrous ewes. 19th ICAR