

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**EFFECTO DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN LA  
MIGRACIÓN Y LOCALIZACIÓN DEL EMBRIÓN DE ALPACAS  
(*Vicugna pacos*)**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. ALFREDO FREDY QUISPE PAREDES**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO-PERÚ**

**2017**

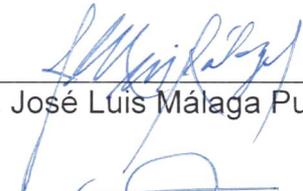
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**TESIS**  
EFECTO DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN LA MIGRACIÓN Y  
LOCALIZACIÓN DEL EMBRIÓN DE ALPACAS (*Vicugna pacos*)

**PRESENTADO POR:**  
Bach: ALFREDO FREDY QUISPE PAREDES  
**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**  
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



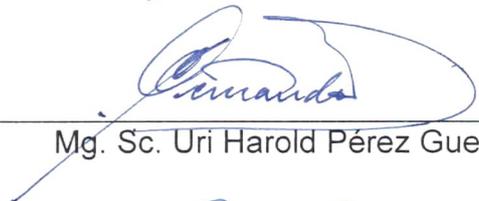
**APROBADA POR:**

**PRESIDENTE** :   
Mg. Sc. José Luis Málaga Pumarica

**PRIMER MIEMBRO** :   
Mg. Sc. Bilo Wenceslao Calsín Calsín

**SEGUNDO MIEMBRO** :   
Mg. Sc. Nubia Lilia Catacora Flores

**DIRECTOR** :   
Dr. Manuel Guido Pérez Durand

**ASESOR** :   
Mg. Sc. Uri Harold Pérez Guerra

**ASESOR** :   
M.V.Z Rito Felipe Huayta Arizaca

Área: Reproducción animal

Tema: Transferencia de embriones en alpacas

## DEDICATORIA

Con gratitud y cariño a mis padres Anastasio y Felicitas, por su infinito apoyo y motivación que supieron encaminarme en mi desarrollo personal y profesional.

A mis queridas hermanas Lucila, Nélide, Dina y Miriam por su apoyo incondicional, por su comprensión y consejos durante mi formación profesional.

A mis sobrinos Jhelsi, Franclin, Ivan, Angie y Terry por darme alegrías y reflexiones en momentos importantes de mi vida.

A la memoria de mi hermano Franclin Alvaro.

**FREDY**

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

Al Centro de Mejora Genética de Alpacas PACOMARCA S.A del Grupo INCA.

Al Dr. Manuel Guido Pérez Durand, por su acertada Dirección y exigencia en la culminación de presente trabajo de investigación.

Al MVZ. Rito Felipe Huayta Arizaca, maestro por compartir su profesionalismo, experiencia y acertado asesoramiento durante la realización del presente trabajo.

Al Mg Sc. Leyfeng Alan Cruz Camacho, por su apoyo incondicional, facilidades en logística, materiales, semovientes y acertado asesoramiento.

Al Ph.D Bernardo Roque Huanca, maestro por compartir su sabiduría y darme consejos y motivación constante.

A los miembros del jurado, por sus acertados aportes y correcciones oportunas en la revisión del presente trabajo.

A mis amigos Alan, Gyorgy, Elmer, Samuel, Andrea, Lizbeth por su amistad y apoyo brindados.

## ÍNDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1.	ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA .....	14
2.2.	FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LOS CAMELIDOS SUD-AMERICANOS .....	15
2.2.1.	Dinámica folicular en alpacas .....	16
2.2.2.	Ovulación .....	17
2.2.3.	Cuerpo hemorrágico .....	19
2.2.4.	Formación y actividad del cuerpo lúteo .....	20
2.2.5.	Inducción de la ovulación .....	23
2.3.	MIGRACIÓN E IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA .....	24
2.4.	MORTALIDAD EMBRIONARIA .....	26
2.5.	GESTACIÓN .....	28
2.6.	DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN .....	28
2.7.	TRANSFERENCIA DE EMBRIONES .....	29
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
3.1.	LUGAR DE ESTUDIO .....	31
3.2.	CONDICIONES ECOLÓGICAS .....	31
3.3.	CARACTERÍSTICAS DE LA CRIANZA .....	32
3.4.	DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES .....	33
3.5.	MATERIAL Y EQUIPO .....	33
3.6.	METODOLOGÍA .....	35
3.6.1.	Selección y preparación de machos .....	35
3.6.2.	Selección y preparación de donadoras .....	36
3.6.3.	Selección y preparación de receptora. ....	36
3.6.4.	Empadre de donadoras .....	37
3.6.5.	Colección de embriones .....	37
3.6.6.	Evaluación de embriones .....	39
3.6.7.	Uso del medio de mantenimiento y preparación de la pajilla .....	40
3.6.8.	Transferencia de embriones .....	40
3.6.9.	Diagnóstico de gestación .....	41
3.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	41

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>43</b>
4.1. Efecto de la transferencia embrionaria de acuerdo a la ubicación del cuerpo lúteo sobre la migración y localización del embrión. ....	<b>43</b>
4.2. Relación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez. ....	<b>46</b>
4.3. Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de la transferencia de embriones con la tasa de preñez.....	<b>48</b>
4.4. Efecto del diámetro del embrión sobre la tasa de preñez a los 25 días post transferencia de embriones.....	<b>50</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	<b>52</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	<b>53</b>
<b>VII. REFERENCIAS</b> .....	<b>54</b>
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	<b>67</b>

**INDICE DE FIGURAS**

<b>Fig. N° 1:</b> Protocolo de recolección y transferencia de embriones .....	<b>39</b>
<b>Fig. N° 2:</b> Formula Chi Cuadrado .....	<b>42</b>

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Variedad de pastos naturales del Fundo Pacamarca .....	<b>31</b>
<b>Tabla 2.</b> Distribución de Animales Machos, Donadoras y Receptoras.....	<b>33</b>
<b>Tabla 3.</b> Distribución de donadoras y receptoras para la Transferencia de Embriones .	<b>33</b>
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de embriones .....	<b>40</b>
<b>Tabla 5.</b> Tasa de preñez en alpacas según el grupo de transferencia embrionaria.....	<b>43</b>
<b>Tabla 6.</b> Relación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez .....	<b>46</b>
<b>Tabla 7.</b> Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez .....	<b>48</b>
<b>Tabla 8.</b> Efecto del diámetro del embrión sobre la tasa de preñez en alpacas .....	<b>50</b>

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

<b>LH</b>	: Hormona Luteinizante
<b>GnRH</b>	: Hormona Liberadora de las Gonadotropinas
<b>FSH</b>	: Hormona Folículo Estimulante
<b>hCG</b>	: Hormona Corionica Humana
<b>Pg</b>	: Prostaglandina
<b>eCG</b>	: Gonadotropina Corionica Equina
<b>UI</b>	: Unidad Internacional
<b>PBS</b>	: Buffer Fosfato Salino
<b>MHZ</b>	: Megahertz
<b>mg</b>	: Miligramo
<b>mm</b>	: Milímetro
<b>ng</b>	: Nanogramo
<b>pg</b>	: Picogramo
<b>mL</b>	: Mililitros
<b>cm</b>	: Centímetro
<b>h</b>	: Hora
<b>Fig</b>	: Figura
<b>S.A</b>	: Sociedad Anónima

## RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto del lugar de la transferencia embrionaria sobre la migración y localización del embrión con la tasa de preñez en alpacas. El trabajo se realizó entre los meses de enero a marzo del año 2015 en el Centro de Mejora Genética de Alpacas PACOMARCA. Se utilizaron 120 alpacas receptoras, y se distribuyeron en 4 tratamientos: G1 (n= 30): Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral, G2 (n=30): Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral, G3 (n=30): Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral, G4 (n=30): Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral. Se utilizaron 25 alpacas como donadoras de embriones. A los 8 días post empadre se realizó el lavado uterino para la recolección, evaluación, medición y transferencia con embriones frescos y de grado uno el mismo día. Los resultados indican una tasa de preñez del 53.33% (G1) y 66.67% (G3) en hembras con cuerpo lúteo en ovario derecho e izquierdo con transferencia ipsilateral, mientras que en la transferencia contralateral derecha e izquierda fueron 36.67% (G2) y 30% (G4). No se registraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre el grupo G1 con los grupos G2, G3 y G4. Se encontró diferencia ( $p<0.05$ ) entre el grupo G3 con los grupos G2 y G4. Los resultados indican una mayor tasa de preñez al realizar la transferencia ipsilateral a la posición del cuerpo lúteo ubicado en el ovario izquierdo. El diámetro de los embriones influye significativamente sobre la tasa de preñez en alpacas encontrando un 57.14% de preñez en embriones  $>3\text{mm}$ .

**Palabras clave:** Transferencia embrionaria, cuerpo lúteo, embrión, preñez, alpacas.

### ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the place of the embryo transfer on the migration and location of the embryo with the pregnancy rate in alpacas. The work was carried out between the months of January and March of the year 2015 in the Center of Genetic Improvement of Alpacas PACOMARCA. 120 alpacas receptors were used and distributed in 4 treatments: G1 (n = 30): Right corpus luteum in the right ovary and ipsilateral transfer, G2 (n = 30): Corpus luteum in the right ovary and contralateral transfer, G3 (n = 30): Corpus luteum in left ovary and ipsilateral transfer, G4 (n = 30): Corpus luteum in left ovary and contralateral transfer. 25 alpacas were used as embryo donors. At 8 days post-loading the uterine lavage was performed for collection, evaluation, measurement and transfer with fresh embryos and grade one the same day. The results indicate a pregnancy rate of 53.33% (G1) and 66.67% (G3) in females with corpus luteum in the right and left ovary with ipsilateral transfer, whereas in right and left contralateral transference there were 36.67% (G2) and 30 % (G4). There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) between the G1 group with the G2, G3 and G4 groups. Differences ( $p < 0.05$ ) were found between the G3 group and the G2 and G4 groups. The results indicate a higher pregnancy rate when transferring ipsilateral to the position of the corpus luteum located in the left ovary. The diameter of the embryos significantly influences the pregnancy rate in alpacas finding a 57.14% pregnancy in embryos  $> 3\text{mm}$ .

**Key words:** Embryo transfer, corpus luteum, embryo, pregnancy, alpacas.

## I. INTRODUCCIÓN

Los bajos índices reproductivos en la crianza de camélidos sudamericanos son un problema prioritario para el productor alpaquero, ya que aproximadamente el 50% de hembras que son servidas en una campaña exhiben fallas para producir una cría al año (Fernandez Baca, 1970). La transferencia de embriones es la técnica más utilizada en todo el mundo para multiplicar animales de alto valor genético (Bo *et al.*, 2002), al utilizarse como técnica de apoyo a programas de mejoramiento genético ha mostrado ser de gran utilidad en la ganadería lechera (Wiggans, 1991), de allí que su adaptación en alpacas tendría similares beneficios (Adams and Ratto, 2001). Los reportes sobre porcentaje de gestación de la transferencia embrionaria en camélidos son limitados y variables. Los valores obtenidos oscilan entre el 0% (Aller *et al.*, 2002b; Bourke *et al.*, 1992b) y el 50% (Bourke *et al.*, 1995). Los resultados obtenidos recientemente por Huanca y col (2006) señalan una tasa de gestación del 68,9 % en llamas y del 30,0 % en alpacas, así como 43,2% de gestación y 41,9% de crías nacidas vivas (Vaughan *et al.*, 2012).

La implantación del embrión en camélidos, generalmente se observa en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca y col, 1973; Sumar, 1997) a pesar de que los cuerpos lúteos de gestación se distribuyan de forma homogénea en ambos ovarios (Bravo and Varela, 1993), siendo similar en el camello y dromedario (Skidmore *et al.*, 1996), lo que indicaría que los embriones que se originan en el cuerno uterino derecho tienen que migrar al lado izquierdo para su implantación (Fernández-Baca y col., 1973; Sumar, 1997). Para garantizar este proceso, en camélidos es necesaria la presencia del cuerpo lúteo (Sumar, 1988; Fernández-Baca *et al.*, 1979).

La transferencia de embriones ha demostrado ser una poderosa herramienta en los programas de Mejora Genética de muchas especies domésticas, bovinos, ovinos, caprinos y porcinos, al permitir acortar los intervalos generacionales y facilitar la diseminación de las características genéticas ligadas a la producción. Sin embargo, el grado de desarrollo alcanzado por ésta técnica en los camélidos domésticos es notablemente inferior, ello es consecuencia de que la mayor parte de los trabajos en los que se estudia la fisiología reproductiva son relativamente recientes, por lo que los conocimientos existentes son sensiblemente inferiores a las de otras especies de rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos). En los camélidos sudamericanos la transferencia de embriones está orientado a seleccionar y multiplicar a los mejores animales desde un punto de vista productivo (calidad de la fibra), con la obtención de embriones viables a partir de hembras de mayor calidad genética e incrementar sensiblemente el número de descendientes obtenidos a partir de las mismas, que beneficiará a los productores alpaqueros de la región y del país.

Por tal razón se plantea el presente trabajo de investigación con el objetivo de contribuir al estudio sobre la migración y localización embrionaria, efecto del diámetro del embrión sobre la tasa de preñez en alpacas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

El tamaño y la forma de los ovarios varían con la edad y con su contenido en folículos y cuerpos lúteos. Así, su longitud oscila entre los 5 y 12 mm y su peso entre los 1,9 y 2,4 g (Sato y Montoya, 1990; Sumar, 1985). La presencia de folículos maduros y, sobre todo, de cuerpos lúteos le confiere al ovario un aspecto lobulado. Cada ovario está rodeado completamente por un largo pliegue del mesosalpinx con forma cónica denominado bursa ovarica, cuya porción apical forma un amplio orificio circular que comunica con la fimbria del oviducto (Bravo, 2002).

Los oviductos son dos conductos delgados y tortuosos, de 15 a 20 cm de longitud, que comunican la superficie del ovario con el útero. Cada oviducto se une a un cuerno uterino a través de un estrecho orificio que forma una papila protuberante. Esta estructura, denominada istmo, actúa como un esfínter para evitar movimientos retrógrados de los fluidos contenidos en el útero (Sumar, 1985). Las funciones del oviducto son diversas, destacando la captación del ovocito proveniente del ovario, el transporte y almacenamiento de los espermatozoides depositados en el útero, proporcionar el ambiente adecuado para que se produzca la fecundación y el inicio del desarrollo embrionario (Sato y Montoya, 1990).

El útero de la alpaca es bicorne, con forma de Y, presentando dos cuernos uterinos con una longitud media de 7,5 cm y un cuerpo muy corto, en las hembras no gestantes el órgano se localiza en el interior de la pelvis (Sato y Montoya, 1990). El aparato genital está suspendido de las paredes abdominales y pélvicas por amplios ligamentos (Fowler, 2010). El cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho desde la etapa fetal y prepuberal (Tibary and Anouassi, 1997) y esta diferencia se acentúa en las hembras multíparas como consecuencia de que el 98% de las gestaciones tienen lugar en el cuerno izquierdo (Fernández-Baca y col.,

1973). La mucosa uterina está formada por un epitelio cilíndrico y la submucosa por un tejido fibroso denso que contiene pequeñas glándulas uterinas (Fowler, 2010). El tono y el edema del útero se incrementan durante la fase folicular, manteniéndose relajado y homogéneo durante la fase lutéica (Tibary, 2001).

El cérvix es similar al de la vaca, contiene 2 ó 3 pliegues anulares (Sato y Montoya, 1990) y su longitud oscila entre los 2 y 5 cm. El grado de apertura o cierre está sometido a regulación endocrina, de manera que su luz se dilata durante el celo para facilitar la cópula, mientras que se estrecha durante la gestación para evitar la contaminación del útero mientras se completa el desarrollo embrionario o fetal (Sato y Montoya, 1990). El cérvix protruye en la vagina, formando dos sacos ciegos, uno dorsal y otro ventral.

La longitud de la vagina varía entre 13 y 15 cm y su diámetro está comprendido entre 3,5 y 5 cm y se caracteriza por tener una mucosa que forma numerosos pliegues (Sumar, 1985; Fowler, 2010). Es una estructura extensible, por lo que a medida que avanza la gestación, el peso del útero ocasiona la desaparición de los mencionados pliegues. El himen, o sus restos, marcan la separación entre la vagina y la vulva. La longitud de la vulva es de unos 3 cm y el clítoris es muy pequeño (Bravo *et al.*, 2000).

## **2.2. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE LOS CAMELIDOS SUD-AMERICANOS**

Los camélidos sudamericanos no muestran ciclos completos, porque no se produce la ovulación si la hembra no recibe el estímulo producido por el contacto sexual con el macho, por tal razón son denominados “ovuladores inducidos” (Fernández-Baca, 1971) y permanecen en estado de receptividad cuando se expone al macho, pudiendo aceptar la cópula hasta por 40 días consecutivos (Novoa, 1989).

### 2.2.1. Dinámica folicular en alpacas

Los camélidos son especies de ovulación inducida, presentan celo continuo, siendo receptivas al macho por periodos de 30 a 40 días y siendo no receptivas por periodos cortos no mayores de 48 horas (Novoa, 1992).

El crecimiento y maduración folicular representa una sucesión de transformaciones subcelulares y moleculares de diversos componentes del folículo: el oocito, granulosa y teca, regidas por varios factores intraováricos e intrafoliculares, y señales hormonales que conducen a la secreción de andrógenos y estrógenos (principalmente estradiol) (Testart *et al.*, 1982).

Las llamas y alpacas presentan ciclos de actividad folicular que duran aproximadamente 13 días, según Bravo and Sumar (1989) mediante laparoscopia en alpacas determinaron que la duración es de 12 días y Bravo *et al.* (1990) mediante ecografía en llamas reportaron 13.8 días. En cada onda folicular, un grupo de folículos es reclutado y uno de ellos es seleccionado como folículo dominante, iniciando su crecimiento, diferenciándose y alcanzando el tamaño ovulatorio ( $\geq 7$  mm), mientras que los demás regresionan (Bravo *et al.*, 1990; Fernández-Baca, 1993; Brown, 2000).

El folículo crece de 3 a 8 – 12 mm de diámetro en un promedio de 4.8 días, se mantiene en fase madura (8 – 12 mm) por 5 días y luego regresiona en un lapso de 4 días (Bravo *et al.*, 1990; Novoa y Leyva, 1996). En un 85 % de los casos el crecimiento se alterna entre ambos ovarios lo cual explicaría los largos periodos de aceptación al macho (Bravo *et al.*, 1990).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia del folículo dominante en ambos ovarios en un 85 % (Fernández-Baca, 1993); detectándose

después de la ovulación el cuerpo lúteo en llamas en el ovario derecho en 51 %, ovario izquierdo en 47 % y en ambos en 2 % (Bravo *et al.*, 1990).

Los folículos > 6 mm son responsables de la continua receptividad. El comportamiento de la hembra se asocia con las concentraciones plasmáticas de estradiol 17- $\beta$  (33- 700 pmol / L). Los valores permanecen elevados por 18 – 24 horas post empadre para caer significativamente durante el segundo día, permaneciendo bajo y estable hasta el día 10 (Bravo *et al.*, 1990).

La ecografía ovárica realizada en hembras adultas de las diferentes especies de camélidos, llamas (Adams *et al.*, 1989), alpacas (Vaughan *et al.*, 2004) y vicuñas (Miragaya *et al.*, 2004), indican que en ausencia de cópula los animales muestran oleadas de crecimiento folicular de manera continua, de manera similar a lo observado en otras especies doméstica.

En ausencia del macho se ha observado mediante ultrasonografía y laparoscopia la ocurrencia de ondas foliculares repetidas de crecimiento y regresión sin ovulación en alpacas (Bravo *et al.*, 1990) y llamas (Adams *et al.*, 1990). Por lo tanto, en los camélidos resulta más adecuado utilizar el modelo de crecimiento folicular en oleadas que el del ciclo estral. Además, se ha comprobado la existencia de una correlación negativa entre el número de folículos antrales presentes en el ovario y el diámetro que alcanza el folículo de mayor tamaño (Adams *et al.*, 1989,1990; Agüero *et al.*, 2001; Miragaya *et al.*, 2004; Vaughan *et al.*, 2004).

### **2.2.2. Ovulación**

Los camélidos son especies de ovulación inducida, por lo que, las hembras necesitan estimulación coital para que se produzca la ovulación del folículo dominante y la formación de un cuerpo lúteo (England *et al.*, 1969; Fernández-Baca *et al.*, 1970a; León *et al.*, 1990; Rodríguez, 1959; San

Martín *et al.*, 1968). La elevación de los niveles de estradiol asociada al crecimiento folicular no es suficiente para provocar la descarga preovulatoria de LH (Bravo *et al.*, 1990).

La cópula estimula las terminaciones nerviosas de cérvix y vagina, éste estímulo viaja hacia el hipotálamo provocando la liberación de GnRH, desencadenando la liberación de LH en la hipófisis produciendo la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Bravo *et al.*, 1990; Hafez y Hafez, 2002). Después de la cópula, los valores basales de LH (0.7 ng / ml) se incrementan a 1.1 ng / ml a los 15 minutos, alcanzando el máximo de 4.4 ng / ml a las 2 horas y luego desciende nuevamente al nivel basal en un período de 5 - 6 horas (Bravo *et al.*, 1990; Novoa y Leyva, 1996).

El primer incremento significativo de los niveles plasmáticos de LH se produce entre 15 y 40 min después del inicio del coito, como consecuencia de un reflejo neuroendocrino (Spies *et al.*, 1997). Los estímulos neuronales que desencadenan dicho reflejo se han relacionado con la estimulación peniana del cérvix, los sonidos emitidos por el macho y el contacto físico (Bravo *et al.*, 1994; Fernández-Baca *et al.*, 1970a) y recientemente, con la presencia en el semen de un factor inductor de la ovulación (Adams and Ratto, 2001; Chen *et al.*, 1985). En un estudio realizado por Fernández-Baca *et al.* (1970a) se demostró que la cópula con machos enteros o vasectomizados provocaba la ovulación 77–82%, mientras que en los casos en los que se producía la monta sin intromisión el número de ovulaciones eran muy bajo.

El pico de LH se presenta a las 2 ó 3 horas de la monta, retornando a niveles basales al cabo de 7 a 12 horas de la misma (Aba *et al.*, 1998; Aba *et al.*,

1995; Bravo *et al.*, 1990; 1991; Bravo *et al.*, 1992). La descarga de LH como respuesta a la cópula está condicionada por el tamaño del folículo dominante (Bravo *et al.*, 1991). Cuando los folículos tienen un diámetro entre 4 y 5 mm, la cantidad de LH secretada es muy inferior y no se produce la ovulación. Esta situación parece ser consecuencia de que los folículos de pequeño tamaño no son capaces de producir suficiente cantidad de estradiol para sensibilizar al eje hipotálamo hipofisario (Bravo *et al.*, 1991). Sin embargo, Aba *et al.* (1995), no encontraron ninguna correlación entre los niveles plasmáticos de estradiol (rango 5 a 41 pmol/l) y la cantidad de LH liberada en respuesta a la administración de GnRH (0.2 µg/kg de peso vivo) en alpacas y llamas.

Algunos estímulos físicos, auditivos, olfatorios o visuales pueden inducir la ovulación, pero su efectividad es considerablemente inferior a la de los estímulos coitales. En estas circunstancias se habla de ovulaciones espontáneas, siendo su presentación inferior al 5-10% y observándose preferentemente durante el postparto (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Bravo and Sumar, 1989).

### 2.2.3. Cuerpo hemorrágico

En camellos luego de la ovulación, la cavidad folicular esta con sangre y forma el cuerpo hemorrágico de 10 a 15 mm, al seccionar el cuerpo hemorrágico muestra una pared dura luteinizada con sangre a nivel céntrico (Arthur *et al.*, 1982). A las 24 horas de inducida la ovulación se forma el cuerpo hemorrágico que es un estado transitorio entre el folículo y el cuerpo lúteo, esta estructura se observa a las 36 y 48 horas post ovulación, mostrándose rojiza y con el estigma de ovulación claro (Bravo, 2002).

Tras la ovulación el plegamiento de las paredes foliculares aumenta, denominándose cuerpo hemorrágico, donde el estrato granuloso y teca interna presentan signos de regresión, proceso seguido por la invasión de microvascularización en la granulosa por vasos que parten de la teca interna; posteriormente las células de la granulosa se agrandan, se luteinizan y contribuyen a formar la población de células luteales grandes: las células fibroblásticas de la teca interna se redondean, contribuyen a la formación de las células luteales pequeñas del cuerpo lúteo (Dellmann and Brown, 1976). Un nuevo desarrollo manifiesto en el citoplasma de las células de la granulosa en la formación de gotas lipídicas que sugieren que las células resultan con mayor actividad esteriodogénica durante las horas precedentes a la ruptura folicular (Neill, 2006).

#### **2.2.4. Formación y actividad del cuerpo lúteo**

Producida la ruptura folicular e independientemente de la fertilización o no del óvulo liberado sigue la formación del cuerpo lúteo (Fernández-Baca *et al.*, 1970a) que se conforma por células de las paredes del folículo ovulatorio a medida que se produce la luteinización se producen eventos de proliferación, diferenciación celular y remodelamiento de tejidos, este proceso comprende; a) término de la proliferación rápida hipertrofia y diferenciación de células esteroiogénicas a células luteales y b) rápido desarrollo de vasos sanguíneos (Ichikawua *et al.*, 1987).

El cuerpo lúteo se desarrolla en el ovario a los 5 días de la cópula (2 a 4 días después de la ovulación), localizándose en el punto de ovulación (Adams *et al.*, 1989; 1990; 1991; Sumar and Bravo, 1991), observándose una elevación de los niveles de progesterona entre 4 y 6 días después del coito (Aba *et al.*, 1995; Sumar y García, 1986).

En alpacas y llamas, posterior a la inducción de la ovulación, la observación del cuerpo lúteo es posible a los 3 – 4 días post ovulación en alpacas (Adams *et al.*, 1991), mostrándose de color rosáceo por el desarrollo vascular y paralelamente se inicia la secreción de progesterona, e incrementa de tamaño acompañado por el incremento en tamaño llegando a 15 mm de diámetro a los 9 días post ovulación, la no existencia de fertilización produce su regresión a los 12 días (Bravo, 2002).

El cuerpo lúteo alcanza su tamaño máximo (10 a 15 mm) entre 8 y 9 días después del coito, coincidiendo con los niveles máximos de progesterona (Aba *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 1991); el cuerpo lúteo declina claramente en tamaño y actividad secretoria para el día 12, dándose la regresión completa entre los días 15 y 18 (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Adams *et al.*, 1991).

A partir de los 4 días de la ovulación puede visualizarse el cuerpo lúteo con relativa facilidad utilizando ultrasonografía transrectal y aparece como una estructura de ecogenidad media con una zona central muy ecogénica. Algunos cuerpos lúteos presentan una cavidad central, no ecogénica, repleta de líquido cuyo diámetro oscila entre 3 a 8 mm (Adams *et al.*, 1991).

En camellos se puede visualizar mediante ultrasonografía a los 4 a 5 días y mediante palpación rectal a los 8 a 10 días, sin embargo el cuerpo lúteo no resulta visible ya que es una estructura poco ecogénica, en la imagen se observa una estructura redondeada protruida, a veces con una cavidad central, el cuerpo lúteo maduro es hiperecogénico con un espacio central (Tibary and Anouassi, 1997; Skidmore, 2000).

La actividad secretora del cuerpo lúteo de los camélidos puede determinarse a través de los niveles plasmáticos de progesterona o los niveles urinarios de glucuronato de pregnanodiol, ya que se ha comprobado que los cambios en las concentraciones de ambas sustancias son paralelos a las variaciones en el tamaño del cuerpo lúteo (Bravo *et al.*, 1991; 1994; England *et al.*, 1969; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). Algunos autores señalan que la existencia de unos niveles plasmáticos de progesterona superiores 0,32 ng/ml (1 nmol/l) (Sumar, 1988) indican de la existencia de un cuerpo lúteo funcional, mientras que otros establecen unos valores mínimos de 2 ng/ml (6,4 nmol/l) (Adams *et al.*, 1991).

En ausencia de gestación la vida del cuerpo lúteo es muy corta, 8 a 9 días, al cabo de los cuales se inicia su regresión, reduciéndose su diámetro a la mitad a los 12 días del coito, al tiempo que desciende la secreción de progesterona, alcanzando su nivel más bajo en los días 14 ó 15 (Adams *et al.*, 1989; 1990; 1992; Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Sumar and Bravo, 1991). Cuando no existe gestación, las hembras vuelven a mostrar receptividad sexual 12 a 14 días después de la última cópula.

En hembras preñadas el diámetro máximo se da en el día  $21 + 1.2$  ( $16.3 + 0.3$  mm) (Adams *et al.*, 1991), siendo necesario para el mantenimiento del preñez; ya que existe similar relación entre el desarrollo del cuerpo lúteo y el perfil secretoral de progesterona en las alpacas y llamas (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Adams *et al.*, 1991), aunque para el día 4 las concentraciones sean significativamente más alta en estas últimas (Aba *et al.*, 1995). En llamas y alpacas preñadas, Aba *et al.* (1995) señalan que

existe una disminución transitoria en las concentraciones de progesterona entre los días 8 y 18 post- ovulación.

La regresión del cuerpo lúteo es consecuencia de la secreción endometrial de PGF2 $\alpha$  que llega a la circulación sistémica a través de las venas uterinas (Aba *et al.*, 2000), no se ha aclarado aún la intervención de la oxitocina en la luteolisis en los camélidos. Un hecho curioso observado en los camélidos es que el cuerno uterino izquierdo tiene un efecto luteolítico local y sistémico, mientras que el efecto luteolítico del cuerno derecho solamente es local, por lo tanto, solo afecta al ovario derecho (Fernández-Baca *et al.*, 1979). Esta diferencia en la actividad luteolítica ha sido relacionada con la anatomía vascular del útero, el oviducto y los ovarios, observándose que en el 90% de las hembras la arteria uterina derecha es más gruesa y presenta ramificaciones que irrigan el cuerno izquierdo, mientras que la vena uterina izquierda presenta un diámetro superior. Ello ha llevado a sospechar de la existencia de conexiones arteriovenosas que permiten al cuerno izquierdo influir sobre la actividad funcional del ovario derecho (Del Campo *et al.*, 1996).

#### **2.2.5. Inducción de la ovulación**

Para inducir la ovulación en las alpacas y las llamas se recurre a la administración de hormonas con actividad de LH. La más comúnmente utilizada es la Gonodotropina Coriónica humana hGC, a unas dosis que varían desde 10 a 1 600 U.I. En el caso de las alpacas son suficientes 750 UI de hCG para inducir ovulación en la mayor parte de los animales (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970a).

Existen algunos estudios en los que se ha comprobado que la administración de GnRH, es eficaz para provocar la liberación endógena de LH (San Martín

*et al.*, 1968; England *et al.*, 1969; Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Bourke *et al.*, 1992; 1995; Bravo *et al.*, 1992). Sin embargo, para que esta hormona sea capaz de inducir la ovulación es necesario utilizar concentraciones superiores a los 1000  $\mu\text{g}$  (Bravo *et al.*, 1992, Huanca y col., 2001). Cuando se emplean análogos sintéticos de la GnRH, como la Buserelina, las dosis necesarias para inducir la ovulación son notablemente inferiores (8  $\mu\text{g}$ ) (Bourke *et al.*, 1992; 1995). La ovulación se produce generalmente a las 26 h de la inyección de hCG (San Martín *et al.*, 1968) y a las 28 h de la aplicación de GnRH (Bourke *et al.*, 1992).

La respuesta a la GnRH, está condicionada por los niveles endógenos de estrógenos y el grado de desarrollo del folículo dominante. Por ello algunos autores son capaces de inducir la ovulación con 750  $\mu\text{g}$  de GnRH (Correa *et al.*, 1997), mientras que otros indican que son necesarios 1000  $\mu\text{g}$  (Bravo *et al.*, 1992). Para que se produzca la ovulación en las alpacas y las llamas, el folículo dominante deberá haber alcanzado un diámetro superior a los 7 mm y estar en fase de crecimiento. Cuando los folículos son de menor tamaño no se produce la ovulación y si el folículo dominante está en fase de regresión se produce la luteinización del mismo (Bravo *et al.*, 1991).

### 2.3. MIGRACIÓN E IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5-6 días de la ovulación en forma de blastocistos en eclosión o recién eclosionados (Del Campo *et al.*, 1995) comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de gestación (Tibary, 2001). En este mismo estudio se comprobó que el número de gestaciones originadas por embriones procedentes del cuerno derecho, que migran al izquierdo y se implantan en él es

bastante reducido. No obstante, en un estudio posterior se observó que la mitad de las gestaciones establecidas en el cuerno izquierdo estaban soportadas por un cuerpo lúteo localizado en el ovario derecho (Fernández-Baca *et al.*, 1979).

A pesar de que exista migración del cuerno derecho al izquierdo, la ausencia de un embrión en dicho cuerno podría contribuir a la regresión del cuerpo lúteo, especialmente si la migración se retrasa con respecto al momento del reconocimiento maternal de la gestación. Tampoco podemos descartar la existencia de diferencias entre ambos cuernos en el mecanismo implicado de reconocimiento maternal de la gestación. Si bien no se conoce exactamente las razones de la migración, una explicación al respecto estaría en la actividad luteolítica diferencial de ambos cuernos uterinos al ser sólo local en el cuerno derecho y local y sistémica en el izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1979) por lo cual, el embrión al implantarse en el cuerno izquierdo contrarrestaría su acción luteolítica (Fernández Baca, 1993). El proceso de implantación es un estado de transición en el progreso de la gestación, durante el cual, el blastocisto asume una posición fija e inicia una interrelación fisiológica con el útero. Para garantizar este proceso, en camélidos es necesaria la presencia del cuerpo lúteo (Sumar, 1988; Fernández-Baca *et al.*, 1979). La localización del embrión es en el cuerno uterino izquierdo, siendo similar en el camello y dromedario (Skidmore *et al.*, 1996)

Recientemente se ha descrito la anatomía macro y microscópica de la placenta de la alpaca (Olivera *et al.*, 2003), formando en los camélidos un tipo de placentación epiteliocorial de tipo difusa, tal como los porcinos y equinos (Skidmore, 2005).

La implantación parece iniciarse en el día 14 post -ovulación comenzando en el cuerno izquierdo, para posteriormente extenderse al derecho (Olivera *et al.*, 2003) y las interdigitaciones entre las células epiteliales del útero y el trofoblasto

embrionario se observan solamente en el cuerno uterino izquierdo, en regiones próximas al embrión. Estas zonas han sido descritas en dromedarios y permiten los primeros intercambios materno-fetales y el reconocimiento maternal de la gestación (Skidmore *et al.*, 1996).

Las interdigitaciones aumentan en profundidad y complejidad a medida que la gestación avanza, facilitando el intercambio gaseoso entre la madre y el feto (Fowler and Olander, 1990; Olivera *et al.*, 2003). Las zonas de contacto entre el trofoblasto y el endometrio presentan una capa altamente glicosilada que podría jugar un papel destacado en el proceso de adhesión (Jones *et al.*, 2000).

Olivera *et al.* (2003) señalan en las alpacas, que el día 15 el blastocisto se encuentra libre en el lumen uterino, observándose los días 22 y 26 de gestación al trofoblasto con áreas de contacto y adhesión por complejos de interdigitación a la superficie uterina. Posteriormente, al día 30 el trofoblasto está rodeado por tejido conectivo extraembrionario, el cual al día 45 se encuentra bien vascularizado, indicando la formación placentaria.

Estas graduales modificaciones en la interface materno-embionaria son características de las fases de aproximación, contacto y adhesión del proceso de implantación embrionaria (Olivera *et al.*, 2003).

#### **2.4. MORTALIDAD EMBRIONARIA**

La mortalidad embrionaria es un factor que reduce la eficiencia reproductiva en muchas especies domésticas, siendo esta pérdida embrionaria más alta en los Camélidos Sudamericanos. A pesar de que el porcentaje de ovocitos fecundados es muy elevado en estas especies (70% a 80%), entre un 25 y un 50% de los embriones mueren durante los primeros 30 días de gestación, sin que se conozca su causa (Fernández-Baca *et al.*, 1970b). Sin embargo, los factores que causan la alta tasa de

pérdida embrionaria no son bien conocidos. Aunque, los factores más importantes podrían ser la restricción alimenticia, desbalances hormonales, factores inmunológicos, ambiente externo, entre otros (Sumar, 1983; Sumar, 1997).

Una de las probables razones de esta elevada mortalidad embrionaria es la incapacidad del cuerno uterino derecho para soportar la gestación. A pesar de que ambos ovarios contribuyen de manera similar a la producción de ovocitos, muy pocos de los embriones implantados en el cuerno derecho son capaces de sobrevivir al día 30 de gestación y ninguno consigue sobrevivir a partir del día 87 (Fernández-Baca *et al.*, 1970b). Fernández Baca *et al.* (1979) reportaron que el embrión procedente del cuerno derecho migra hacia el cuerno izquierdo para poder sobrevivir, ya que si el cuerno izquierdo permanece vacío causaría la luteólisis del cuerpo lúteo ubicado en el ovario derecho y terminaría de esta manera con la gestación. Debido a la acción luteolítica local y sistémica del cuerno izquierdo.

No obstante, en un estudio posterior se observó que la mitad de las gestaciones establecidas en el cuerno izquierdo estaban soportadas por un cuerpo lúteo localizado en el ovario derecho (Fernández-Baca *et al.*, 1979). Esto podría indicar que la mortalidad embrionaria afecta a los embriones procedentes de ambos cuernos de manera similar.

Por otro lado, Cervantes (2004) señaló que el estadio del desarrollo folicular (crecimiento, estática o regresión) parece no tener influencia sobre la mortalidad embrionaria en alpacas. Además, Palomino (2004) determinó que la aplicación de estradiol exógeno a los 8 y 9 días post cópula permite tener una tasa de sobrevivencia embrionaria de 75% en llamas al día 35. Asimismo, Leyva y García (1999a) sugieren que existe mejor efecto al administrar GnRH al día 5 postservicio sobre la sobrevivencia embrionaria en alpacas, coincidiendo con Araínga y col.,

(2002), quien señaló que al aplicar GnRH en alpacas en el día 4 post ovulación, mejora la tasa de sobrevivencia embrionaria (debido a su efecto luteotrópico), mientras que si se aplica esta hormona durante los días 8 y 9 post ovulación esta tasa disminuye.

## 2.5. GESTACIÓN

Bravo *et al.* (1996) señalan en alpacas, que a los 4 días post cópula el óvulo fertilizado se encuentra en estadio de mórula en el oviducto y al día 7 en estadio de mórula compacta, mientras que al día 10 se encuentra en el estadio de blastocisto en el cuerno uterino. Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5-6 días de la ovulación en forma de blastocistos en eclosión o recién eclosionados (Del Campo *et al.*, 1995), comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de gestación (Tibary, 2001).

En alpacas y llamas, el cuerpo lúteo es necesario para la conservación de la preñez durante todo el período de gestación, existiendo una relación entre el diámetro del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en plasma (Sumar, 2002). La duración de la gestación varía de 335 a 360 días en llamas y 343 y 346 días en alpacas Huacaya y Suri (Novoa y Leyva, 1996). Presentándose la mayor parte de las gestaciones con un sólo feto ubicado en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973).

## 2.6. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

La técnica más comúnmente utilizada por los ganaderos para el diagnóstico de gestación es el comportamiento de las hembras en presencia de un macho sexualmente activo (Fernández-Baca y col., 1974). Este método es un buen

indicador, pero su certeza no es absoluta. Algunas de las hembras que rechazan al macho no están gestantes, por haber sufrido mortalidad embrionaria y no haberse completado la regresión del cuerpo lúteo (Alarcón *et al.*, 1990). Además, algunas hembras muy sumisas aceptan la cópula a pesar de estar gestantes, especialmente cuando el macho es muy agresivo (Bourke, 1998).

Para el diagnóstico de gestación temprano en llamas y alpacas también se han utilizado las determinaciones de las concentraciones de progesterona, la cual incrementa a partir del día 4 post apareamiento (Aba *et al.*, 1995; Aba *et al.*, 1997). Sin embargo, estos niveles elevados de progesterona en plasma y leche indican la presencia de cuerpo lúteo, pero no siempre indican preñez (Foote, 1982; Adams *et al.*, 1989). La palpación rectal ha sido utilizada por los Veterinarios para el diagnóstico de preñez a partir de los 35 días, sin embargo, se requiere mucha experiencia, por lo que es recomendable retrasarla hasta los 45-50 días (Alarcón *et al.*, 1990).

Actualmente se utiliza la ecografía transrectal, que permite diagnosticar la gestación con gran precisión entre los días 19 y 28 (Bourke *et al.*, 1992a), aunque algunos trabajos señalan que es posible determinar la presencia de la vesícula embrionaria a partir del día 13 (Bravo and Fowler, 1989).

## **2.7. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES**

En camélidos, el primer reporte sobre transferencia de embriones fue realizado por Sumar y Franco (1974), estos utilizaron procedimientos quirúrgicos tanto para la obtención de los embriones, como para su posterior transferencia a las receptoras. La técnica no quirúrgica utilizada en camélidos para la recuperación de los embriones es similar a la descrita en vacuno y consiste en lavar los cuernos uterinos con PBS de Dulbecco's (Huanca y col., 2004). Posteriormente otros reportes

confirman la factibilidad de la aplicación de la técnica pero con una variabilidad en la respuesta ovárica a los protocolos de superestimulación, así como la respuesta en número y calidad de embriones recuperados (Del Campo *et al.*, 1995). Las tasas de gestación fueron 50% (2/4) y 31.3% (5/16) para receptoras que recibieron embriones vitrificados y frescos, respectivamente (Del Campo *et al.*, 1995).

En todos los programas de transferencia de embriones el grado de sincronía entre el ciclo de la donante y las receptoras condiciona la supervivencia embrionaria. En la mayor parte de los experimentos de transferencia llevados a cabo, las receptoras son tratadas con hCG o un análogo de la GnRH (buserelina) para sincronizar su ovulación con la de la donante (Wiepz and Chapman, 1985; Bourke *et al.*, 1992; 1995; Aller *et al.*, 2002).

Los resultados en cuanto a porcentajes de recuperación en base al número de cuerpos lúteos presentes en el ovario han sido descritos recientemente por Huanca y col. (2006) siendo de  $4,8 \pm 0,9$  (66,1%) en llamas y de  $1,6 \pm 0,3$  (23,6 %) en alpacas. Algunos autores han realizado la recogida de embriones en hembras no superovuladas obteniendo una tasa de recuperación de 79% (Taylor *et al.*, 2001), 33% (Adams y Domínguez, 2007) y  $66,9 \pm 37,1\%$ . (Vaughan *et al.*, 2012 ).

Con respecto a las tasas de gestación conseguidas tras la transferencia de embriones, los resultados son muy variables, siendo más abundantes los trabajos realizados con llamas que los que utilizan alpacas. Los valores obtenidos oscilan entre el 0 (Aller *et al.*, 2002; Bourke *et al.*, 1992) y el 50% (Bourke *et al.*, 1995). Los resultados obtenidos recientemente por Huanca y col. (2006) señalan una tasa de gestación del 68,9 % en llamas y del 30,0 % en alpacas; 43,2% de gestación y 41,9% de crías nacidas vivas (Vaughan *et al.*, 2012).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El trabajo de investigación se realizó en el Centro de Mejora Genética de Alpacas Pacamarca S.A, ubicado en el distrito de LLalli, provincia de Melgar en la región de Puno. El Centro de Mejora Genética de Alpacas Pacamarca S.A perteneciente al GRUPO INCA, se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas 29°21'01" latitud Sur, 82°41'57" longitud Oeste, a 47 km del distrito de Ayaviri y 8 km. del distrito de Llalli, a una altitud de 4,060 msnm, con una temperatura media anual de 12°C, una máxima de 17°C y una mínima de -17°C. (Loayza, 2004).

#### 3.2. CONDICIONES ECOLÓGICAS

##### Fisiografía y suelos

Los suelos del Centro de Mejora Genética de Alpacas Pacamarca S.A cuentan con una reacción ácida y con una salinidad muy ligera, el contenido calcáreo es nulo, todos los suelos presentan un contenido medio de materia orgánica y la capacidad de intercambio es baja debido a la reacción del suelo. (Loayza, 2004).

##### Cobertura vegetal

Presenta una gran variedad de pastos naturales, los mismos que se describen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Variedad de pastos naturales del Fundo Pacamarca (Fuente: Loayza, 2004)

Nombre científico	Nombre común
<i>Poa gilgiana</i>	Corta corta
<i>Hypochoeris sessiliflora</i>	Causillo siki
<i>Poa candamoana</i>	Cebadilla
<i>Festuca dolichophylla</i>	Chilligua
<i>Calamagrostis vincunarum</i>	Parwayo pasto
<i>Bromus catharticus</i>	Soqla
<i>Alchemilia erodifolia</i>	Sillu sillu
<i>Stipa depauperata</i>	Signa pasto
<i>Hordeum modicum</i>	Achaco wichinka
<i>Geranium sessiliflorum cavanilles</i>	Wila layo
<i>Festuca ortophylla</i>	Iru ichu

### 3.3. CARACTERISTICAS DE LA CRIANZA

#### Los animales

El Centro de Mejora Genética de Alpacas Pacamarca S.A, cuenta con alpacas de las razas Suri y Huacaya blancos y de color implementado el año 2002, las hembras fueron adquiridas originalmente de las zonas alpaqueras de las regiones de Puno, Arequipa y Cusco. Los machos reproductores o progenitores fueron adquiridos en la zona de Carabaya del Sr. Julio Barreda Aragón; de allí en adelante se viene trabajando con apareamientos dirigidos a través del empadre controlado y la totalidad de los animales de reemplazo son obtenidos en el Fundo Pacamarca.

#### Alimentación

La alimentación de las alpacas en la época de lluvias se realiza al pastoreo en praderas de pastos naturales, mientras que en la época de estiaje o sequía la alimentación se encuentra compuesta por heno de avena (*Avena sativa*), ensilado de avena (*Avena sativa*) asociado a *Vicia sativa*, combinado con el pastoreo en praderas sembradas con pasturas cultivadas pertenecientes a las asociaciones de *Rye grass* Ingles con trébol blanco (*Trifolium amabile*) y *Festuca rubra*.

#### Empadre.

El método de apareamiento utilizado, es el empadre controlado, el mismo que contempla la toma de datos como: el número de arete de la hembra, número de arete del macho y tiempo de cópula, del mismo modo durante el proceso de empadre se verifica individualmente si se realizó la penetración, a través de la palpación directa del pene erecto del macho y que éste se encuentra incorporado en la vagina de la hembra.

La identificación de los animales se realiza inmediatamente en el momento del nacimiento con un arete metálico, el mismo que lleva gravado el año de nacimiento

y el número asignado a cada animal, una vez que los animales se encuentran aptos para la reproducción, que es aproximadamente a los 36 meses en los machos y a los 24 meses en las hembras, los aretes metálicos son cambiados por aretes de plástico de manera que permitan una mejor visualización del número del animal para un mejor registro de los mismos.

### 3.4. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES

**Tabla 2.** Distribución de Animales Machos, Donadoras y Receptoras

<b>TOTAL DE ANIMALES n= 170</b>		
<b>MACHOS</b>	<b>DONADORAS</b>	<b>RECEPTORAS</b>
<b>n= 25</b>	<b>n= 25</b>	<b>n= 120</b>

**Tabla 3.** Distribución de donadoras y receptoras para la Transferencia de Embriones

<b>DONADORAS (n=25)</b>			
<b>RECEPTORAS C.L EN OVARIO DERECHO (n= 60)</b>		<b>RECEPTORAS C.L EN OVARIO IZQUIERDO (n= 60)</b>	
<b>Transferencia de Embriones</b>		<b>Transferencia de Embriones</b>	
<b>G1: Ipsilateral</b>	<b>G2: Contralateral</b>	<b>G3: Ipsilateral</b>	<b>G4: Contralateral</b>
<b>n= 30</b>	<b>n= 30</b>	<b>n= 30</b>	<b>n= 30</b>

### 3.5. MATERIAL Y EQUIPO

#### Material de antisepsia

- Alcohol
- Jabón.
- Papel toalla.

#### Material descartable

- Jeringas hipodérmicas de 1 y 3 mL.
- Guantes quirúrgicos.

- Guantes obstétricos.

#### **Hormonas.**

- Prostaglandina F2 $\alpha$
- GnRH (Acetato de buserelina)

#### **Tranquilizantes.**

- Xilacina.
- Acepromacina.

#### **Materiales de Laboratorio.**

- Catéter de Foley de doble vía N° 14.
- Sonda de doble vía.
- Gel lubricante.
- Suero fisiológico.
- Jeringa de 10 ml.
- Jeringa tuberculina.
- Vaso colector con filtro.
- Placas Petri.
- Placa de 6 discos.
- Placa de 4 discos.
- Pajillas de 0.25 ml.
- Solución de lavado de embriones BIOLIFE™ (D-PBS, Glucosa, piruvato de sodio, gentamicina y kanamicina)
- Solución de mantenimiento de embriones (D-PBS, Glucosa, piruvato de sodio)
- Pistola de inseminación.
- Camiseta sanitaria.
- Funda para pistola de inseminación.

- Mesa de sujeción.

- Baldes.

#### **Equipos de laboratorio.**

- Estufa.
- Baño María.
- Estereoscopio.
- Ecógrafo (Pie medical 400).

#### **Otros materiales.**

- Cuadernos de campo.
- Bolígrafos.
- Calculadora.
- Reloj.
- Material fotográfico y video.

### **3.6. METODOLOGÍA**

#### **3.6.1. Selección y preparación de machos**

##### **Características de Selección**

Los machos seleccionados fueron entre 4 a 6 años de edad, de acuerdo a la valoración genética que tiene cada animal, así mismo, aquellos machos que tuvieron buenas características fenotípicas, y de fertilidad probada.

##### **Preparación de machos**

Los machos se prepararon un mes antes en lo que concierne a la alimentación, fueron suplementados con ensilado de avena, asociado con *Vicia sativa*, así mismo, se suplemento con complejos vitamínicos B, E y

con minerales como el selenio. Esto con la finalidad de que estén expeditos para el momento del empadre.

### **3.6.2. Selección y preparación de donadoras**

#### **Características de selección**

Las donadoras fueron de la raza Huacaya, color blanco y de entre 4 a 6 años de edad, tomando en cuenta su historial reproductivo y la calidad de sus progenies, de acuerdo a la valoración genética de los animales.

#### **Preparación de las donadoras.**

Un mes antes de realizar el trabajo se le alimento en base a alfalfa, asociado con *Dactylis spp* para incrementar la condición corporal del animal, así mismo, se le adiciono a su alimentación con ensilado de avena, asociado con *Vicia sativa*.

### **3.6.3. Selección y preparación de receptora.**

Las receptoras fueron de raza Huacaya y Suri de entre 4 a 6 años de edad, blancos y de colores que tuvieron un buen record en su reproducción y una excelente habilidad materna, no importando el aspecto genético y fenotípico. Para determinar su buena performance reproductiva y habilidad materna se tomó en cuenta que las receptoras utilizadas no hayan tenido problemas para quedar preñadas al momento del empadre y que mínimamente tuvieron un parto a la edad de 3 años; toda la información se obtuvo de la base de datos del programa PACOPRO 5.1, y que es un software que utiliza la empresa para un manejo y administración más eficiente.

Las receptoras al igual que las donadoras fueron alimentadas con alfalfa, asociado a *Dactylis spp.* y ensilado de avena más *Vicia sativa ad libitum* para incrementar la condición corporal del animal. Se utilizaron

#### **3.6.4. Empadre de donadoras.**

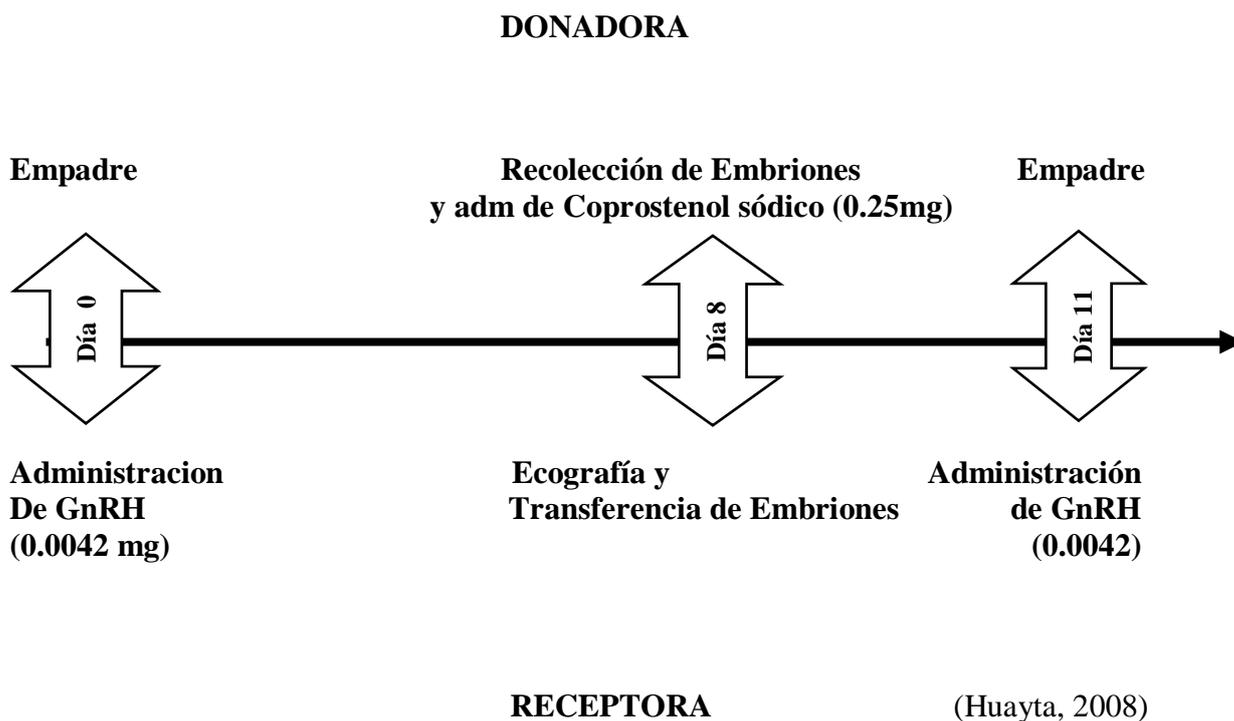
Las donadoras fueron empadradas con un macho de buenas características reproductivas, productivas y de muy buena valoración genética. El día que se realizó el empadre a la donadora, a la receptora se le aplicará una dosis de 0.0042 mg de Acetato de Buserelina (GnRH) y se esperó hasta el momento de la transferencia dentro de 8 días.

#### **3.6.5. Colección de embriones.**

A los 8 días post empadre se realizó el lavado del útero para la extracción del embrión, de la siguiente forma:

- a. Se le aplicó un tranquilizante y relajante a una dosis de 0.6 mg de xilacina más 0.4 mg de acepromacina vía intramuscular profunda.
- b. Luego de 10 a 15 min. la donadora ingreso a la zona de trabajo del laboratorio, donde se le maniató a la altura del cuello y miembros posteriores en la mesa de sujeción y también se le colocó un atuendo en la cabeza para minimizar el estrés de la alpaca.
- c. Una vez colocada en la mesa de sujeción, se le realizó la limpieza rectal, extrayendo el contenido fecal con la mano enguantada y debidamente lubricada.
- d. Luego de ello se introdujo el transductor lineal del ecógrafo (Pie medical 400) programado a 5 MHz de frecuencia para visualizar el cuerpo lúteo.

- e. Visualizado el cuerpo lúteo se procedió a la introducción del catéter de Foley previamente preparado y pasar transcervicalmente llegando al cuerpo uterino.
- f. El bulbo del catéter se insufló con una jeringa, la cantidad de 7 mL de aire para que el globo no permita que el embrión escape al momento del lavado, y este pase por el conducto de la sonda de Foley al filtro.
- g. Seguidamente se procedió a introducir la solución de lavado (BIOLIFE™ Advantage Embryo Collection Medium) mediante gravedad en la cantidad de 80 a 150 mL aproximadamente, dependiendo del tamaño del cuerno uterino de la alpaca donadora.
- h. Una vez lleno el cuerno uterino con solución de lavado se abrió la llave de la sonda de doble vía para que el contenido vaya hacia el vaso colector con filtro, se cerró la llave de la sonda que lleva la solución de lavado hacia el útero, esta operación se realizó unas 3 a 4 veces hasta lograr visualizar el embrión en el vaso colector.
- i. Terminado el lavado del cuerno uterino y obtenido el embrión se procedió a aplicar 0.25 mg de Cloprostenol sódico a la donadora para la regresión del cuerpo lúteo y después de 3 días de descanso se empadró nuevamente para realizar el nuevo lavado correspondiente repitiéndose este protocolo durante la época reproductiva (Enero, febrero, marzo) hasta completar el sexto lavado de embriones.

**Figura 1.** Protocolo de recolección y transferencia de embriones

### 3.6.6. Evaluación de embriones

- a. Visualizado el embrión en el vaso colector, se procedió a pasar a la parte limpia y estéril del laboratorio para la manipulación del embrión, vaciando el contenido del vaso colector a una placa Petri, para luego absorber este con una pajilla, con ayuda de una jeringa de tuberculina se realizó el lavado respectivo del embrión con medio de colección de embriones (BioLife™) que contiene:, piruvato D-PBS, Glucosa de sodio, gentamicina y kanamicina, en las placas de 6 disco con solución de lavado de embriones.
- b. La evaluación de los embriones se realizó, con el microscópico estereoscópico a 15X para su ubicación y 60X para su evaluación de acuerdo a sus características morfológicas y estado de desarrollo de acuerdo a la tabla N° 4; para el presente trabajo se utilizó embriones de Grado I y que se encuentren en estadio de blastocisto expandido.

c. Finalmente se procedió a determinar las dimensiones de los embriones utilizando un ocular calibrado en mm.

**Tabla 4.** Clasificación de embriones (Skidmore, 2004)

<b>Grado de embriones</b>	<b>Características</b>
Grado I	Excelente calidad. Tamaño corresponde al estado de colección en relación a la ovulación. Antes de los 8 días debe ser –perfectamente esférico con superficie lisa.
Grado II	Buena calidad. Lo mismo que arriba, con algunas irregularidades del contorno y muy pocas células protruidas.
Grado III	Media calidad. Embrión pequeño con parches oscuros, contorno Irregular y algunas células protruidas.
Grado IV	Embrión colapsado. Con manchas oscuras de degeneración y muchas células protruidas.
Grado V	Embrión no transferible. Embrión colapsado con muchas manchas negras o embriones que están retardados, mórula negra y todos los estados jóvenes a mórula.

### **3.6.7. Uso del medio de mantenimiento y preparación de la pajilla**

a. Terminado el lavado de los embriones se le pasó a la placa de 4 discos con solución de mantenimiento: D-PBS, Glucosa, piruvato de sodio, gentamicina y kanamicina, para luego absorberla a la pajilla de 0.25 mL; primeramente se absorbió solución de mantenimiento, luego aire y consecutivamente solución de mantenimiento conjuntamente con el embrión, luego se absorbió aire y finalmente solución de mantenimiento hasta sellar la pajilla.

b. Luego se procedió a preparar la pistola de inseminación con la pajilla contenida del embrión, colocándole la funda y la camiseta sanitaria.

### **3.6.8. Transferencia de embriones.**

a. Una vez lista la pistola de inseminación (conteniendo el embrión dentro de la pajilla) y pasado los 8 días de sincronización con Acetato de Buserelina

para la receptora, se procedió a aplicar el tranquilizante a la receptora, en una dosis de 0.6 mg de xilacina y 0.4 mg de acepromacina.

b. Luego de 10 a 15 min. se procedió a ingresar al laboratorio a la receptora para la sujeción en la mesa de trabajo y se realizó la limpieza rectal, extrayendo el contenido fecal con la mano enguantada y debidamente lubricada,

c. Luego de ello se introdujo el transductor lineal del ecógrafo (Pie medical 400) a 5 MHz, para la visualización del cuerpo lúteo.

d. Visualizado el cuerpo lúteo se procedió a la introducción de la pistola de inseminación con la pajilla contenida del embrión, la pistola de inseminación se pasó transcervicalmente hasta llegar a la parte distal del cuerno uterino ipsilateral o contralateral a la posición del cuerpo lúteo, dejando al embrión de acuerdo al tratamiento.

### **3.6.9. Diagnóstico de gestación**

El diagnóstico de gestación se realizó 25 días post transferencia (Bourke *et al.*, 1992a) mediante ecografía (Pie medical 400) a 5 MHz de frecuencia, donde se observó la presencia o ausencia de la vesícula embrionaria dentro del útero.

### **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para evaluar los resultados del estudio se utilizó el programa estadístico STATA versión 13 (Statistic Data Analysis), con la finalidad de determinar si existe asociación entre los grupos de tratamiento respecto a la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo, así mismo evaluar la influencia del tamaño del embrión sobre la tasa de preñez a los 25 días post transferencia. Los grupos en tratamiento fueron analizados mediante la tabla de contingencia de Ji-cuadrado. Para evaluar la

dependencia de la tasa de preñez respecto al tamaño del embrión se utilizó una regresión logística binaria para prueba dependiente.

**Figura 2.** Formula Chi Cuadrado

$$X^2 = \frac{\sum \sum (O_i - e_i)^2}{e_i}$$

**Donde:**

$X^2$	=	Valor de Ji-cuadrado.
$\sum$	=	Sumatoria.
$O_i$	=	valores observados.
$e_i$	=	Valores esperados.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1. Efecto de la transferencia embrionaria de acuerdo a la ubicación del cuerpo lúteo sobre la migración y localización del embrión.

Tabla 5. Tasa de preñez en alpacas según el grupo de transferencia embrionaria

	G1	G2	G3	G4
<b>PREÑADAS</b>	16 (53.33%) <sup>a,b</sup>	11 (36.67%) <sup>b</sup>	20 (66.67%) <sup>a</sup>	9 (30%) <sup>b</sup>
<b>VACIAS</b>	14 (46.67%)	19 (63.33%)	10 (33.33%)	21 (70%)
<b>TOTAL</b>	30	30	30	30

\*Valores con letras distintas indican diferencia

- G1: (n = 30) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral.
- G2: (n = 30) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral.
- G3: (n = 30) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral.
- G4: (n = 30) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral.

La tasa de preñez al día 25 post transferencia embrionaria de acuerdo a los grupos de trabajo, fue de 53.33 % en el grupo G1 (16/30), 36.67% en el grupo G2 (11/30), 66.67% en el grupo G3 (20/30) y 30% en el grupo G4 (9/30) (Tabla 5), estos resultados nos indican que no existe diferencia significativa ( $p>0.05$ ) al realizar la transferencia ipsilateral al CL del ovario derecho (G1) con los grupos G2, G3 y G4 (Anexo 1). Sin embargo, se encontraron diferencias ( $p<0.05$ ) al realizar la transferencia ipsilateral al CL del ovario izquierdo (G3) con los grupos G2 y G4 (Anexo 1).

Los resultados obtenidos, indican que al realizar las transferencias embrionarias ipsilaterales a la posición del cuerpo lúteo (CL) en el ovario izquierdo o derecho en alpacas, las tasas de preñez al día 25 posterior a la transferencia embrionaria son más altas en el cuerno izquierdo con 66.67% (20/30) y en el cuerno derecho con 53.33% (16/30). Mientras que, al realizar las transferencias contralaterales a la posición del cuerpo lúteo fueron de 36.67% (11 /30) y 30% (9 / 30) en el cuerno izquierdo y derecho respectivamente (Tabla 5). No obstante, únicamente se notó

diferencia significativa al realizar la transferencia embrionaria ipsilateral al CL ubicado en el ovario izquierdo con respecto a las transferencias contralaterales a la posición del CL. En ese sentido Vaughan *et al.* (2012), indica que el éxito de la transferencia de embriones fue significativamente mayor en la receptoras en las que el embrión era transferido en el cuerno uterino izquierdo cuando el cuerpo lúteo estaba en el ovario ipsilateral (izquierdo) en comparación con las receptoras que tenían el cuerpo lúteo en el ovario contralateral (derecho). Este hallazgo corrobora la sugerencia de Trassorras *et al.* (2010) quien indica, que para mejorar las tasas de preñez los embriones deben ser colocados en el cuerno uterino izquierdo con un cuerpo lúteo ipsilateral. Estos resultados coinciden con nuestro trabajo en virtud a que la migración embrionaria puede darse en ambos sentidos y no del cuerno derecho hacia el izquierdo tal como lo señala Fernandez-Baca *et al.* (1979); así mismo Carnero *et al.* (2005) registraron en llamas, una tasa de preñez del 75% al hacer la transferencia embrionaria ipsilateral al cuerpo lúteo en ovario izquierdo y 60% al realizar la transferencia ipsilateral al cuerpo lúteo en ovario derecho. Estos resultados de cierta forma se asemejan a los nuestros en referencia a que se utilizaron similares tratamientos experimentales; sin embargo en el trabajo antes mencionado solo utilizaron 43 embriones de llamas, con tratamiento de multiovulación y los grupos experimentales no fueron homogéneos.

Otros trabajos en llamas también se hicieron de manera forma similar, así Aller (2002a) realizó la transferencia de embriones frescos solamente en el cuerno izquierdo en llamas receptoras encontrando una tasa de preñez de 33%, aunque no indica la ubicación del CL. Taylor *et al* (2000) realizaron la transferencia embrionaria en llamas mediante el método no quirúrgico al cuerno uterino izquierdo, y registraron una tasa de preñez de 66 %, lo cuales difieren de nuestros

resultados probablemente debido a que estos últimos realizaron la transferencia embrionaria el día 9 empleando solo 3 animales. Consecuentemente Görlach (1997) señala que al realizar la transferencia embrionaria ipsilateral en bovinos, la tasa de preñez esperada es de 60% a más, mientras que, las tasas de preñez se ven disminuidas en un 30% al realizar la transferencia contralateral.

La mayor tasa de sobrevivencia embrionaria en el cuerno uterino izquierdo en relación a la ubicación ipsilateral del cuerpo lúteo podría deberse a que el cuerno uterino izquierdo presenta condiciones más favorables para el desarrollo embrionario, tal como lo señalan Sumar y Leyva (1979). Por otro lado, las tasas de preñez registradas en el cuerno uterino derecho en posición ipsilateral y contralateral al cuerpo lúteo se atribuiría a lo señalado por Fernández Baca *et al* (1975) quienes reportaron que en ausencia del cuerno uterino izquierdo, el cuerno derecho también ofrece condiciones igualmente favorables para la sobrevivencia del embrión en la alpaca. Sin embargo, la menor tasa de preñez registrada en el cuerno uterino derecho con cuerpo lúteo ubicado en el ovario izquierdo (Grupo 4) podría deberse a lo señalado por Fernández Baca *et al* (1979) quienes indican que en la alpaca, existe actividad luteolítica local del cuerno derecho y local y sistémica en el cuerno izquierdo. Por otro lado, al realizar la transferencia contralateral en los grupos G2 y G4, la baja tasa de preñez presentada, podría atribuirse a que el embrión produciría una débil señal antiluteolítica que ocasionaría una secreción insuficiente de progesterona y regresión prematura del cuerpo lúteo tal como lo que ocurre en gatas (Arthur, 1991; Feldman, 2000), en conejas (Gadsby, 1984) y en vacas (Hansen, 2002).

En un amplio estudio de Fernandez-Baca *et al.* (1973), 472 cuerpos lúteos en el ovario derecho se asociaron con 12 alpacas preñadas en el cuerno uterino derecho

y 460 alpacas preñadas en el cuerno izquierdo, mientras que 440 cuerpos lúteos en el ovario izquierdo se asociaron con 3 alpacas preñadas en el cuerno uterino derecho y 437 alpacas preñadas en el cuerno izquierdo. Aunque la migración y la implantación del embrión no fue monitoreado, nuestros datos sugieren que, en contraste con la hipótesis de Fernandez-Baca *et al.* (1979), la migración del embrión desde el cuerno uterino derecho hacia el cuerno uterino izquierdo, probablemente no sea motivo de ser una razón importante para la mortalidad embrionaria en alpacas, coincidiendo con los resultados publicados por Vaughan *et al.* (2012), quien también sostiene que; si los embriones eclosionados se mueven alrededor de los cuernos uterinos en general (como un medio para enviar la señal de reconocimiento materno del tracto reproductivo de la receptora), independientemente del lugar donde los embriones son colocados durante la transferencia, este movimiento intrauterino puede explicar las tasas de preñez más bajas que se observan en los camélidos en general, en comparación con otros tipos de especies domésticas.

#### 4.2. Relación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

**Tabla 6.** Relación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez

Tamaño CL	Ovario derecho			Ovario izquierdo		
	Total (n)	Preñadas	Vacías	Total (n)	Preñadas	Vacías
≤ 10 mm	24	5 (20.83%)	19 (79.17%)	20	15 (75%)	05 (25%)
> 10 mm	36	22 (61.11%)	14 (38.88%)	40	22 (55%)	18 (45%)

Los resultados que se muestran en la tabla 6, evalúan la asociación entre el tamaño del CL ( $\leq 10$  mm y  $> 10$  mm) ubicado en el ovario derecho con la tasa de preñez al día 25 post transferencia se registraron los siguientes valores: 20.83% (5/24) y 61.11% (22/36), mientras que al ubicarse el CL en el ovario izquierdo con tamaño  $\leq 10$  mm y  $> 10$  mm

los porcentajes de preñez fueron de 75% (15/20) y 55% (22/40) respectivamente. La prueba de Chi cuadrado indica que no existe asociación de la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo en la tasa de preñez ( $p>0.05$ ), entre los grupos indicados.

El cuerpo lúteo de las receptoras en nuestro estudio fue evaluado ecográficamente al día 8 post administración de GnRH exógena (Acetato de buserelina), registrándose cuerpos lúteos (CL) con un diámetro promedio de  $10.73 \pm 1.44$  mm los cuales se clasificaron en 2 grupos, alpacas receptoras con CL de tamaño  $\leq 10$ mm y  $>10$ mm. Esta clasificación se realizó basándose en Adams *et al* (1991). Los resultados mostrados por Carnero *et al.* (2005), en llamas encontró cuerpos lúteos en promedio de  $11.21 \pm 1.88$  mm previo tratamiento con LH. Así mismo Bourke *et al.* (1995), después de la administración de eCG en llamas registraron que los cuerpos lúteos alcanzaron un tamaño máximo promedio de 12 (con rangos de 9 a 13mm) en el día 8. En un estudio realizado por Fernández Baca *et al.* (1970a), en alpacas observaron que el tamaño del cuerpo lúteo alcanzó un máximo tamaño de 14 mm el día 9 después de recibir un estímulo natural o artificial. Así mismo Adams *et al* (1991) reportaron que el diámetro máximo del cuerpo lúteo en llamas el día 6 fue aproximadamente de 12.8 mm. Nuestros resultados coinciden en cuanto a tamaño del cuerpo lúteo se refiere con los autores antes mencionados; aunque estos no indican la relación del tamaño del cuerpo lúteo que encontraron con la tasa de preñez.

La similitud de los resultados obtenidos en comparación con los demás autores, podría deberse a lo fundamentado por Fernández Baca *et al* (1970a) quien sugiere que el cuerpo lúteo alcanza su máximo desarrollo el día 8, y el embrión prolonga la vida funcional del cuerpo lúteo sin afectar marcadamente su tamaño, masa total o rango de secreción. Y recientemente con la teoría de Ratto *et al.* (2006), quien menciona que el cuerpo lúteo que se produce en respuesta a la GnRH exógena, como en el caso de las receptoras utilizadas en nuestro estudio, se ha demostrado que tienen una forma y función semejante a los producidos por apareamiento natural en llamas. Y no debería tener un efecto de supresión sobre las tasas de preñez y el número de crías nacidas tal como refiere Vaughan *et al.*, (2012).

La organización estructural y funcional del cuerpo lúteo se da por acción de la LH tal como menciona Hafez (2002). Sustentado en que con un mejor estímulo en la hipófisis hay una mayor liberación de LH, lo cual refuerza el establecimiento y desarrollo del CL para una eficiente secreción de progesterona (Leyva y García, 1999a). Asimismo, England (1969) afirma que el incremento en el tamaño del cuerpo lúteo en los camélidos

está relacionado con la actividad secretoria de esta glándula, lo cual es necesario para el mantenimiento de la preñez.

Al evaluar la asociación entre el tamaño y ubicación del CL al momento de la transferencia sobre la tasa de preñez, se encontró que no existen diferencias significativas entre los grupos, lo cual difiere con Fernández Baca *et al* (1970b) donde señala que el CL en el ovario derecho regresiona más rápido y sugiere su influencia sobre la sobrevivencia embrionaria. Por otro lado, en vacunos Moreno *et al* (2003), Niemann *et al* (1985) y Spell *et al* (2001) coinciden en señalar que la medición del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona plasmática de las receptoras al momento de la transferencia embrionaria, están relacionadas positivamente, aunque no se observaron diferencias significativas en los rangos de preñez post transferencia embrionaria.

#### 4.3. Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de la transferencia de embriones con la tasa de preñez.

**Tabla 7.** Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez

Tamaño CL	Cuerno derecho			Cuerno izquierdo		
	Total (n)	Preñadas	Vacías	Total (n)	Preñadas	Vacías
≤ 10 mm	23	9 (39.13%)	14 (60.87%)	21	12 (57.14%)	09 (42.86%)
> 10 mm	37	18 (48.65%)	19 (51.35%)	39	26 (66.67%)	13 (33.33%)

La asociación entre el tamaño del CL ( $\leq 10$  mm y  $> 10$  mm) al realizar la transferencia embrionaria al cuerno uterino derecho con la tasa de preñez, registró valores de 39.13 % (9/23) y 48.65 % (18/37), mientras que al realizar la transferencia embrionaria al cuerno uterino izquierdo se registraron tasas de preñez de 57.14 % (12/21) y 66.67% (26/39), respectivamente (Tabla 7). Al realizar la prueba de Chi cuadrado para los grupos señalados, no se encontró influencia del tamaño del cuerpo lúteo y lugar de la transferencia embrionaria sobre la tasa de preñez ( $p > 0.05$ ) (Anexo 3).

En un estudio en vacunos Moreno *et al.* (2003), Niemann *et al.* (1985) y Spell *et al.* (2001), coinciden en señalar que la medición del CL y la concentración de progesterona plasmática de las receptoras al momento de la transferencia embrionaria, están relacionadas positivamente, aunque no se observaron diferencias significativas en los rangos de preñez post transferencia embrionaria. Esto podría explicar que no existen diferencias entre los grupos en el presente estudio, al evaluar la asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia y el lugar de transferencia sobre la tasa de preñez, sugiriendo que la tasa de preñez post transferencia no sería dependiente del tamaño del cuerpo lúteo, ni del sitio de transferencia, lo cual coincide con Skidmore (2005) quien señala que en dromedarios no existe un efecto significativo en el sitio de transferencia sobre el porcentaje de preñez debido probablemente a que el embrión es altamente móvil y puede migrar fácilmente al cuerno uterino izquierdo; así también Sumar y leyva (1979) en llamas y Fernández-Baca *et al* (1970b) en alpacas, observaron la migración de los embriones mayormente hacia el cuerno izquierdo, lo cual estaría relacionado con lo hallado por Pajuelo (2000) en alpacas, donde determinó una mayor respuesta contráctil del miometrio en los cuernos uterinos con respecto al cuerpo uterino, debido a que en esas áreas se podrían localizar mayor número de receptores de  $PGF2\alpha$ , ayudando al embrión a movilizarse y acomodarse apropiadamente para su implantación, y asimismo al posterior proceso de gestación en el cuerno uterino quien ofrece condiciones favorables para el desarrollo embrionario.

#### 4.4. Efecto del diámetro del embrión sobre la tasa de preñez a los 25 días post transferencia de embriones.

**Tabla 8.** Efecto del diámetro del embrión sobre la tasa de preñez en alpacas

Diámetro embrión (mm)	Transferencia de embriones con ovulación simple				Total
	≤ 1	>1 y ≤ 2	>2 y ≤ 3	> 3	
Embriones Transferidos	38	58	17	07	120
% de preñez	14 (36.84%) <sup>a</sup>	28 (48.28%) <sup>b</sup>	10 (58.82%) <sup>a,b</sup>	04 (57.14%) <sup>a,b</sup>	

\*Valores con letras distintas indican diferencia

El diámetro de los embriones obtenidos mediante ovulación simple en promedio fue de  $(1.48 \pm 0.46 \text{ mm})$ . El diámetro de los embriones, como se observa en la tabla 8, influye significativamente en la tasa de preñez en alpacas siendo 36.84% (14/38) para los embriones menores a 1 mm y 48.28% (28/58) para los que son mayores a 1mm y menores iguales a 2 mm, mientras que para los embriones mayores a 2 mm y menores iguales a 3 mm la tasa de preñez fue de 58.82% (10/17); la tasa más alta de preñez se registró en los embriones transferidos que tuvieron mayor a 3 mm y fue del 57.14% (04/07), y que estos se encontraron en estadio de blastocisto expandido respectivamente.

El día de colección del embrión en relación con el día del empadre tuvo un efecto significativo sobre el tamaño del embrión y, por lo tanto, indirectamente sobre la tasa de éxito de la transferencia de embriones (Vaughan *et al.*, 2012). Los embriones recolectados en el día 7 fueron significativamente más pequeños que los embriones recolectados en el día 8 (Vaughan *et al.*, 2012). También hubo variación dentro del diámetro del embrión y entre lavados en la presente investigación. Otros autores también han observado una gran variabilidad en el diámetro de embriones, entre los embriones individuales de la misma hembra en repetidas colecciones y entre los

embriones de diferentes hembras (Del Campo *et al.*, 2002). La variación en el diámetro del embrión dentro de cualquier día de la recolección se puede atribuir a la variación en el tiempo de la ovulación y por lo tanto el tiempo de desarrollo del embrión (Trasorras *et al.*, 2010).

Todos los embriones fueron colectados como blastocistos eclosionados, similares a los hallazgos de muchos trabajos en camélidos (Ratto *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 2000; Del Campo *et al.*, 2002; Huanca *et al.*, 2009; Aller *et al.*, 2010).

## V. CONCLUSIONES

- ✓ La transferencia embrionaria ipsilateral a la posición del cuerpo lúteo ubicado en el ovario izquierdo, presento una mayor tasa de preñez (66.67%) a los 25 días post transferencia con respecto a los demás grupos.
- ✓ No existe relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y el tamaño del cuerpo lúteo con respecto a la tasa de preñez a los 25 días post transferencia de embriones en alpacas.
- ✓ No existe relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez a los 25 días post transferencia de embriones en alpacas.
- ✓ Existe una influencia significativa del tamaño del embrión sobre la tasa de preñez a los 25 días post transferencia embrionaria en alpacas.

## VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda seguir con los estudios y trabajos sobre transferencia de embriones en alpacas en escala productiva o de campo.
- ✓ Recomendamos hacer trabajos específicos sobre factores celulares y moleculares que influyen en la migración e implantación embrionaria en alpacas.
- ✓ Recomendamos perfeccionar los protocolos de sincronización para la transferencia embrionaria con ovulación simple en alpacas.

## VII. REFERENCIAS

- Aba, M. A. 1995.** Studies on the reproductive endocrinology of llamas and alpacas from mating throughout early pregnancy. Master Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. pp: 11-78.
- Aba, M., M. Forsberg, H. Kindahl, J. Sumar and L. Edqvist. 1995.** Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36, 489-498.
- Aba, M. A., J. Sumar, H. Kindahl, M. Forsberg and L. E. Edqvist. 1998.** Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF (2-alpha), progesterone, estrone sulfate, estradiol -17-beta and cortisol during late-gestation, parturition and the early postpartum period in llamas and alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 50, 111-121.
- Aba, M.A.; H. Kindahl, M. Foosberg, M. Quiroga, N. Auza. 2000.** Levels of progesterone and changes in prostaglandin F2alpha released during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 59 (1-2), 87-97.
- Adams, G.P., P.G. Griffin, O.J. Ginther. 1989.** In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol. of Reprod.* 41: 551-558.
- Adams, G. P., J. Sumar and O. J. Ginther. 1990.** Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* pp: 535.
- Adams, G. P., J. Sumar and O. J. Ginther. 1991.** Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 24, 127-138.
- Adams, G. P., R. L. Matteri and O. J. Ginther. 1992.** Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J. Reprod. Fert.* 96, 627-664.

- Adams, G.P. and M. H. Ratto. 2001.** Reproductive Biotechnology in South American Camelids. *Rev. de Inv. Vet., Peru.* 1: 134-141.
- Adams, G.P. and M. Dominguez. 2007.** Pregnancy diagnosis in llamas and alpacas. In: Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (Eds.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology 2.* Saunders Elsevier, St. Louis, pp. 889–895
- Agüero, A., M. H. Miragaya, M. S. Ferrer, E. F. Capdevielle, M. G. Chaves and B. Rutte. 2001.** Follicular dynamics in (Vicugna vicugna). *Theriogenology.* 34, 1119-1127.
- Alarcón, V., J. Sumar, G.S. Riera and W. C. Foote. 1990.** Comparison of three methods of pregnancy diagnosis in alpacas and llamas. *Theriogenology.* 55, 1119-1127.
- Aller J F, Rebuffi G E y Cancino A K (2002a):** Superovulación response to progestogen –eCG treatment in vicugna (Vicugna vicugna) in semicaptive conditions. *Theriogenology.* 57, 576.
- Aller, J., G. Rebuffi, A. Cancino and E. Alberio. (2002b).** Successful transfer of vitrified llama (Lama glama) embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 73:121-127.
- Aller, J.F., Cancino, A.K., Rebuffi, G.E., Alberio, R.H., 2010.** Effect of estradiol benzoate used at the start of a progestagen treatment on superovulatory response and embryo yield in lactating and non-lactating llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 119, 322–328.
- Araínga, M.R., V. Leyva; W. García; E. Franco. 2002.** Efecto de la GnRH en el proceso del reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. *Rev Inv Vet Perú;* 14 (2): 104-110.
- Arthur, G. 1991.** Reproducción y obstetricia veterinaria. Editorial Interamericana.

- Arthur, G. and A. Al-Rahim. 1982.** Aspects of reproduction in the female camel (Camelus dromedaries) in Saudi Arabia, Vet. Med. Rev. 1.
- Bo, G.A, P.S. Baruselli, D. Moreno, L. Cutaia, M. Caccia, R. Tríbulo, H. Tríbulo and R.J. Mapletoft. 2002.** The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology. 50: 53-72.
- Bourke D, Adam C and Kyle C E 1992a:** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (Lama glama). Vet. Rec. 130, 424-428.
- Bourke, D., C. Adam, C. Kyle, P. Young and T. G. Mc Evo. 1992b.** Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. Procc. 12th Congress on Animal Reproduction, Vol. 1 The Hague, 23-27 August. pp:193-195.
- Bourke, D., C. E. Kyle, T. G. Mc Evoy, O. Young and C. L. Adam.1995.** Superovulatory responses to eCG in llamas (Lama glama). Theriogenology. 44, 255-268.
- Bravo, W., J. Sumar and S. G. Riera. 1985. Factors that determine fertility in alpacas.** In: Proceedings of the International Convention on SAC. pp: 4.
- Bravo, W., J. Sumar and S. G. Riera. 1987. Reproductive wastage in female alpaca.** In: Improving Reproductive Performance of Small Ruminants, Utah State University, Logan, UT. pp: 155.
- Bravo, W. y M. E. Fowler. 1988.** Aplicación de la técnica de ultrasonografía en alpacas y llamas. VI Convención Internacional de Especialistas en Camélidos. Programa y Resúmenes de trabajos. Oruro-Bolivia. pp: s/n.
- Bravo, W., M. E. Fowler, B. Lasley and G. H. Stabenfeldt. 1988.** Hormonas folículo estimulante y luteinizante en llamas. VI Convención Internacional de Especialistas en Camélidos. Programa y Resúmenes de trabajos. Oruro-Bolivia pp: s/n.
- Bravo, W. and J. Sumar. 1989.** Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 21: 271-281.

**Bravo, W., M. E. Fowler, G. H. Stabenfeldt and B. L. Lasley. 1990.** Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biol. Reprod.* 43, 579-585.

**Bravo, W., G. H. Stabenfeldt, B. L. Lasley and M. E. Fowler. 1991.** The effect of ovarian follicular size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. *Biol. Reprod.* 45, 553-559.

**Bravo, W., G. H. Stabenfeldt, M. E. Fowler and B. L. Lasley. 1992.** Pituitary response to repeated copulation and/or gonadotropin-releasing hormone administration in llamas and alpacas. *Biol. Reprod.* 47, 884-888.

**Bravo, W. and M. H. Varela. 1993.** Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim. Reprod. Sci.* 32, 245-252

**Bravo, W., M. E. Fowler and B. L. Lasley. 1994.** The postpartum llama: fertility after parturition. *Biol. Reprod.* 51, 1084-1087.

**Bravo, W., D. R. Steward, B. L. Lasley and M. E. Fowler. 1996.** Hormonal indicators of pregnancy in llamas and alpacas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208, 2027-2030

**Bravo, W., J. A. Skidmore and X. Zhao. 2000.** Reproductive aspects and storage of semen camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 173-193.

**Bravo, W. 2002.** *The reproductive Process of South American Camels*, Seagull Printing. United States of America.

**Brown, B. W. 2000.** A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 169-195.

**Carnero, S. 2007.** Transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a la posición del cuerpo luteo y supervivencia embrionaria en Llamas. Tesis FMV-UNMSM. Perú.

- Cervantes, M. 2004.** Estudio del efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Tesis Med. Vet. FMV – UNMSM. Lima. 43 p.
- Chen, B., Z. X. Yuen and G. W. Pan.1985.** Semen induced ovulation in the bactrian camel (*Camelus bactrianus*). J. Reprod. Fétil. 73, 335-339.
- Correa, J., M. H. Ratto and R. Gatica. 1997.** Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. Anim. Reprod. Sci. 46, 289-296.
- Del Campo, M. R., C. H. Del Campo and G. P. Adams. 1995.** The application of new reproductive technologies to South American camelids. Theriogenology. 43, 21 – 30.
- Del Campo, M. R., C. H. Del Campo and O. J. Guinther. 1996.** Vascular provisions for a local utero-ovarian cross-over pathway in New World camelids. Theriogenology. 46,983-991
- Del Campo M R, Toro F, von Baer A, Montecinos S, Donoso X y von Baer L 2002.** Morphology and physiology of llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama paco*) embryos. Theriogenology. 57, 581.
- Dellmann, H. and E. Brown. 1976.** Histologia Veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza España.
- England, B. G., W. C. Foote, D. H. Matthews, A. G. Cardozo and S. Riera. 1969.** Ovulation and Corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). J. Endocr. 45, 505-513.
- Feldman, E. 2000.** Endocrinología y reproducción en perros y gatos. 2da edición. Mc Graw Hill. 825 p.
- Fernandez-Baca, S. 1970.** Luteal function and the nature of reproductive failures in the alpaca. Ph.D. Thesis. Cornell Univ. Ithaca, New Cork.

- Fernández-Baca, S., W. Hansel and C. Novoa. 1970a.** Corpus luteum function in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 252-261.
- Fernández-Baca, S., W. Hansel and C. Novoa. 1970b.** Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 243-251.
- Fernández-Baca, S. 1971.** La alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7 IVITA. UNMSM. Lima.43 p.
- Fernández Baca, S., J. Sumar, C. Novoa, V. Leyva. 1973.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. *Rev. Inv. Pec. (IVITA).* UNMSM. 2(2): 131-135.
- Fernández-Baca, S. C. Novoa y J. Sumar. 1974.** Pubertad en alpacas. Avances de Investigación. Bol. de Div. N° 15 IVITA UNM San Marcos. Lima-Perú. pp: 129-138.
- Fernández Baca, S.; J. Sumar; C. Novoa. 1975.** Actividad funcional del ovario y cuerno uterino en la alpaca. An. V reunión ALPA. Maracay, Venezuela. pp. 99.
- Fernández-Baca, S. Hansel, W. Saatman, J. Sumar and C. Novoa. 1979.** Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca. *Biol. Reprod.* 20,586-595.
- Fernández-Baca, S. 1993.** Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 307–323
- Fowler, M. E. and H. J. Olander. 1990.** Fetal membranes and ancillary structures of llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* 51, 1495-1500.
- Fowler, M. 2010.** *Medicine and Surgery of Camelids.* Blackwell Publishing. Third edition. Singapore.

- Gadsby, J.E.; Keyes, P.L. 1984.** Control of corpus luteum function in the pregnant rabbit: role of the placenta (“placental luteotropin”) in regulating responsiveness of corpora lutea to estrogen. *Biol. Reprod.*31:16-24
- Görlach, A. 1997.** Transferencia de embriones en el ganado vacuno. Editorial Acribia SA. Zaragoza España. Pp. 29-79.
- Hafez, E. S. E., y B. Hafez. 2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7ma edición. Editorial McGraw Hill.
- Hansen, P.J. 2002.** Embryonic mortality in cattle from the embryo’s perspective. *J. Anim. Sci.* 80(E. Suppl. 2): E33–E44
- Huanca, W., O. Cárdenas, C. Olazábal, M. Ratto y G.P. Adams. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev. Inv. Vet.* 1: 462-463.
- Huanca, W., T. Huanca, M. Ratto, A.Cordero, O.Cardenas y N. Apaza. 2004.** Transferencia de embriones. *Revista de la estacion experimental ILLPA Puno.* Año 3 N° 8. Enero –abril
- Huanca, W., M. Ratto, A. Cordero, A. Santiani, T. Huanca, O, Cárdenas y G. P. Adams, 2006.** Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. Resúmen V Congreso Mundial de Camélidos, Catamarca–Argentina.
- Huanca, W., Cordero, A., Huanca, T., Cardenas, O., Adams, G.P., Ratto, M.H., 2009.** Ovarian response and embryo production in llamas treated with equine chorionic gonadotropin alone or with a progestin-releasing vaginal sponge at the time of follicular wave emergence. *Theriogenology* 72, 803–808.
- Ichikawa, S., S. Uchino and Y. Hirata. 1987.** Lymphatic and blood vasculature of the forming corpus luteum. *Lymphology.*20.

- INEI. 2012.** IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Ministerio de Agricultura y Riego. Perú (www. Minagri.gob.pe)
- Jones, C. J., F. B. Wooding, M. Abd-Elnaeim, R. Leiser, V. Dantzer and R. W. Stoddart. 2000.** Glycoylation in the near-term epitheliochorial placenta of the horse, donkey and camel: a comparative study of interbreeding and non-interbreeding species. *J. Reprod. Fertil.* 118, 397-405.
- León, J. B., B. B. Smith, K. L. Timm and G. LeCrenn. 1990.** Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). *J. Reprod. Fétil.* 88, 503-511.
- Leyva, V. y W. García. 1999a.** Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.
- Leyva, V. y W. García. 1999b.** Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.
- Loayza, F. 2004.** Plan de manejo de avestruces Pacamarca. Informe final
- Melo, M. y T. Huanca. 2004.** La selección como un método para la mejora genética en Alpacas. INIA-PUNO. Perú
- Miragaya, M. H., M. A. Aba, E. F. Capdevielle, M.S Ferrer, M. G. Chaves, B. Rutter and A. Agüero. 2004.** Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuña (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology.* 61, 663-671.
- Miragaya, M., M. Chavez, A. Agüero. 2006.** Reproductive biotechnology in south american camelids. *Small Ruminant Research* 2006.

- Moreno, O.; L. Cutaia; R. Tribulo; M. Caccia; I. Videla Dorna; M.A. Aba; G.A. Bo. 2003.** Concentración plasmática de progesterona, área del cuerpo lúteo e índices de preñez en vacas receptoras de embriones. Quinto simposio intenacional de reproducción animal. IRAC.
- Neill, J. 2006.** Knobil and Neil's Physiology of Reproduction. Third Edition. Academic Press is an imprint of Elsevier. United States of America.
- Niemann, H.; B. Sacher; F. Elsaesser. 1985.** Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non surgical transfer of frozen / thawed bovine embryos. Theriogenology. Ap; 23(4): 631-9.
- Novoa, C. y J. Sumar. 1968.** Colección de huevos in vivo y ensayos de transferencia en alpacas. Rev. IVITA. 3er boletín.
- Novoa, C. 1989.** Reproducción de camélidos. Simposio de producción de Alpacas y Llamas. XII Reunión Científica Anual APPA. Perú.
- Novoa, C. 1992.** Reproducción de camélidos. Rev Cien Vet. Vol.8 N° 4. Lima – Perú.
- Novoa, C. y V. Leyva. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. Publicación Científica IVITA N° 26:30.
- Olivera, L. D. Zago, R. Leiser, C. Jones and E. Bevilacqua. 2003.** Developmental changes at the materno-embryonic interfase in early pregnancy of the alpaca, Lama pacos. Anat. Embryol. 207, 317–331.
- Olivera, L. 2007.** Caracterización Histológica de las Membranas Útero-Placentarias. XX Reunión ALPA. XXX Reunión APPA Cuzco-Perú.
- Pajuelo, G. 2000.** Actividad in vitro de la prostaglandina F2 $\alpha$  en el miometrio de alpacas (Lama pacos) adultas no gestantes. Tesis Med. Vet. FMV-UNMSM.
- Ratto, M.H., Gatica, R., Correa, J.E., 1997.** Timing of mating and ovarian response in llamas (Lama glama) treated with pFSH. Anim. Reprod. Sci. 48, 325–330.

- 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. *Anim. Reprod. Sci.* 91, 299–306.
- Rodríguez, R. 1959.** Ovulación en las alpacas (sum). *Vet. Zootec.* 11, 17.
- San Martín, M., M. Copaira, J. Zuñiga, R. Rodríguez, G. Bustinza and L. Acosta. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. *J. Reprod. Fertility.* 16, 395-399.
- Sato, A y L. Montoya. 1990.** Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*), Anatomía macroscópica. *Rev. Camélidos Sudamericanos.* 7, 13.
- Skidmore, J.A., W.R. Allen, and R.B. Heap. 1994.** Oestrogen synthesis by the periimplantation conceptus of the one humped camel (*Camelus dromedaries*). *J Reprod Fertil.* Jul; 101(2): 363-7.
- Skidmore, J. A., F. B. Wooding and W. R. Allen. 1996.** Implantation and early placentation in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Placenta.* 17, 253-262.
- Skidmore, J. A. 2000.** Cinética ovárica y control del ciclo ovárico en camélidos. In recent *Advances in Camelid Reproduction.* Ithaca New York. USA
- Skidmore, J. A. 2004.** Embryo Transfer. Lectures notes for the Shorter Course in *Reproduction in the Dromedary Camel.* Publisher. International Veterinary Information Service. Ithaca. New York. USA. pp 4.
- Skidmore, J.A. 2005.** Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* 2(3): 161-171. Jul/ Sept.
- Spell, A.R.; W.E. Beal; L.R. Corah; G.C. Lamb. 2001.** Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology.* Jul 15; 56(2): 287-97.

- Spies, H. G., K. Y. Pau and S. P. Yang. 1997.** Coital and estrogen signals: a contrast in the preovulatory neuroendocrine networks of rabbits and rhesus monkey. *Biol. Reprod.* 56, 310-319.
- Sumar, J y E. Franco. 1974.** Ensayos de transferencia de embriones en camélidos sudamericanos. IN: Informe Final (IVITA) UNMSM, Lima-Perú.
- Sumar, J.; V. Leyva. 1979.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la llama (*Lama glama*). En Res.Proy. Inv. Realizadas por la UNMSM. 1975-1979. Tomo II pg 124
- Sumar, J. 1983.** Studies on reproductive pathology in alpacas. MS Thesis, Department of Obstetrics and Gynaecology, College of Veterinary Medicine, Swedish University of Agriculture and Science, Uppsala. pp: 9-1003.
- Sumar, J. 1985.** Algunos aspectos obstétricos de la alpaca. *Bol. Tec.* 2.
- Sumar, J y M. García. 1986.** Fisiología de la reproducción de la alpaca. In: Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health, IAEA, Viena. pp: 149-177.
- Sumar, J. 1988.** Renoval of the ovarios or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand.* 83,133-141.
- Sumar, J and W. Bravo. 1991.** In situ observation of the ovarian of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. *J. Anim. Vet. Med. Assoc.* 199, 1159-1163
- Sumar, J. 1993.** Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y llamas. *Rev Pec Inv IVITA (Perú)* 6 (1): 17-21
- Sumar, J. B. 1997.** Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. En: Memorias de I Symposium Internacional Avances en Reproducción de Rumiantes. Lima. P 30-44.

- Sumar, J.B. 1999.** Reproduction in female south american domestic camelids. *J Reprod Fertil Suppl*, 54: 169-78.
- Sumar, J. B. 2002.** Llamas y alpacas. En: *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Hafez, E.S.E.; B. Hafez (eds.) 7ª ed. en español. p 224-242. Ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. De C.V. México DF.
- Taylor, S., P. J. Taylor, A.N. James and R.A. Godke. 2000.** Succesful commercial embryo transfer in the llama (*Lama glama*). *Theriogenology*. 53(2 ): 344.
- Taylor, P.J., S. Taylor, A.N. James, R.S. Denniston and R.A. Godke. 2001.** Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*. 55 (1): 401.
- Testart, J., A. Thebault and R. Frydman. 1982.** Oocyte and cumulus oophorus changes inside the human follicle cultured whit gonadotrophins. Lancaster. England
- Tibary, A and A. Anouassi. 1997.** *Theriogenology in camelidae*. Abu Dhabi Printing, Mina, Abu Dhavi, UAE.
- Tibary, A. 2001.** Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, Vancouver, BC, Canada, 12-15 september. pp: 387-396.
- Trasorras, V., 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.
- Vaughan, J., M. Mihm and T. Wittek. 2012.** Factors influencing embryo transfer success in alpacas - A retrospective study. *Anim. Reprod. Sci.* pp: 136:194– 204
- Vaughan, J.L., K. L. Macmillan, and M. J. D’Occhio. 2004.** Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 353–361

**Wiepz, W. C. and R. J. Chapman. 1985.** Non-surgical embryo transfer and live birth in a llama. *Theriogenology*. 24, 251 – 257.

**Wiggans, G. 1991.** National Genetic improvement programs for dairy cattle in the United States. *J Anim Sci* 69: 3853-3860.

## VIII. ANEXOS

**ANEXO 01: Panel fotográfico**



**Fotografía 1: Entrada al fundo PACOMARCA S.A**



**Fotografía 2: Vista panorámica del fundo PACOMARCA S.A**



**Fotografía 3: Selección de Donadoras**



**Fotografía 4: Selección de Receptoras**



**Fotografía 5: Empadre de donadoras**



**Fotografía 6: Aplicación de tranquilizante a la donadora**



**Fotografía 7: Aplicación de xilacina y acepromazina**



**Fotografía 8: Alpaca donadora maniatada en el cuello y miembros posteriores**



**Fotografía 9: Limpieza rectal y extracción del contenido fetal**



**Fotografía 10: Introducción del transductor lineal del ecógrafo**



**Fotografía 11: Detección del cuerpo lúteo**



**Fotografía 12: Visualización y medición del cuerpo lúteo**



**Fotografía 13: Introducción del catéter de Foley**



**Fotografía 14: Acomodación del catéter de Foley en el cuerno uterino**



**Fotografía 15: Insuflación del bulbo del catéter de foley**



**Fotografía 16: Lavado del cuerno uterino**



**Fotografía 17: Búsqueda del embrión en el vaso colector**



**Fotografía 18: Localización y/o visualización del embrión**



**Fotografía 19: Aplicación de prostaglandina en la donadora**



**Fotografía 20: Alpaca donadora después del trabajo de colección del embrión**



**Fotografía 21: Evaluación de embriones con estereoscopio**



**Fotografía 22: Evaluación y medición del embrión**



**Fotografía 23: Uso del medio de mantenimiento y preparación de la pajilla embrionaria**



**Fotografía 24: Preparación de la pistola de inseminación**



**Fotografía 25: Colocación de funda sanitaria**



**Fotografía 26: Medios de mantenimiento y de lavado de embriones**



**Fotografía 27: Limpieza rectal de la receptora**



**Fotografía 28: Introducción de la pistola de inseminación**



**Fotografía 29: Ubicación del cuerno uterino para el depósito del embrión**



**Fotografía 30: Aplicación de la pistola de inseminación y colocación del embrión**



**Fotografía 31: Equipo de trabajo en la finalización del proyecto**

**ANEXO 02: Distribución de datos**

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (GRUPO G1)										
DONADORA	RECEPTORAS									
ARETE	ARETE	RAZA	OVULACIÓN		TAMAÑO	PUESTA			DIAG	
			Ov.Der	Ov.lzq	C.L mm	Cuerno	Embrión mm	DIAS	GEST.	DIAS
492	319-04	HU	1		12	Der	1.8	8	P	25
590	281-R	HU	1		10.5	Der	2.5	8	P	25
622	712	SU	1		11	Der	1.5	8	V	25
45	498	HU	1		10	Der	2.5	8	P	25
367	315-04	SU	1		12	Der	2	8	V	25
441	013-03E	SU	1		12	Der	2.8	8	P	25
492	564	HU	1		11.5	Der	3	8	P	25
367	032-06	HU	1		10.5	Der	2.5	8	P	25
441	78	SU	1		12.5	Der	2.5	8	V	25
622	210-04	HU	1		10.5	Der	3.2	8	P	25.5
492	158	SU	1		11	Der	2.8	8	P	25.5
590	323	HU	1		11.5	Der	2.5	8	P	25.5
635	487	SU	1		9.8	Der	1.5	8	V	25.5
585	038-04	HU	1		10	Der	1.8	8	V	25
202	133	HU	1		11	Der	2.8	8	P	25
45	176	SU	1		12	Der	3.2	8.5	P	25
590	736	HU	1		10.5	Der	3	8	P	25
492	192-05	SU	1		11.5	Der	2	8.5	V	25
359	066-04	HU	1		11.5	Der	1.5	8	V	25
119	031-02	HU	1		8.5	Der	2	8.5	V	25
247	123	SU	1		12	Der	2.5	8.5	P	25.5
536	417	HU	1		10.5	Der	3	8.5	P	25.5
219	420-05	SU	1		9	Der	2.8	8	P	25.5
441	641	HU	1		11	Der	1.5	8	V	25.5
199	454	SU	1		10.5	Der	2.5	8	P	25.5
534	57	HU	1		9	Der	1.5	8	V	25.5
585	054-06	HU	1		8	Der	2	8	V	25.5
247	023-04	HU	1		10.5	Der	2.8	8	P	25.5
	159	SU	1		9.8	Der	2	8	V	25.5
473	208-04	HU	1		11.5	Der	2.5	8.5	P	25.5

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (GRUPO G2)										
DONADORA	RECEPTORAS									
ARETE	ARETE	RAZA	OVULACIÓN		TAMAÑO	PUESTA			DIAGNOSTICO	
			Ov.Der	Ov.lzq	C.L mm	Cuerno	Embrion mm	DIAS	GEST	DIAS
635	143-03	HU	1		12.5	lzq	2.6	8	V	25
600	384-05	HU	1		12	lzq	1.5	8	V	25
441	391-05C	SU	3		10.5	lzq	2.3	8	P	25
590	545	SU	1		8.5	lzq	1.5	8	V	25
98	95	HU	1		12	lzq	2.8	8	V	25
441	304-05	HU	1	1	12	lzq	2	8	V	25
102	067-04	HU	1	1	10	lzq	3	8	P	25
532	047-04	HU	1		11	lzq	1.8	8	V	25
171-06	553	HU	1		10	lzq	2	8.5	V	25
637	248-06	HU	1		10.5	lzq	2.4	8.5	V	25
660	070-07E	SU	1	1	9	lzq	2.5	8.5	V	25
527	186-05	HU	1		10.5	lzq	1.5	8.5	V	25.5
403-05	305-05R	HU	1		8.5	lzq	2.2	8	V	25
756	269-05	HU	1		12	lzq	2	8.5	P	25.5
622	441-05	SU	1		9	lzq	1.8	8.5	V	25.5
418-07	8	SU	1		10.5	lzq	1.5	8	V	25.5
057-07	126-06	HU	1		12	lzq	2.5	8.5	P	25.5
591-08	349	HU	1		9	lzq	1.8	8.5	V	25.5
637	301-06	HU	1		10.5	lzq	2	8	V	25.5
118	132-04	HU	1		9	lzq	1.8	8.5	V	25.5
244-08	038-04	HU	1		10.5	lzq	1.5	8	V	25.5
591-08	69	HU	1		10.5	lzq	3	8.5	V	25.5
418-07	120-C	SU	1		10.5	lzq	2.5	8	P	25.5
400	432-06E	HU	1		8.5	lzq	2.2	8.5	V	25.5
527	399	HU	1		11	lzq	2	8.5	P	25.5
137-08	740-E	SU	1		11	lzq	1.5	8.5	V	25.5
591-08	743	HU	1		10.5	lzq	3	8.5	V	25
219	157	SU	1		11	lzq	2	8	V	25
273	306-08E	SU	1		8.5	lzq	1.8	8	V	25
111	192-05	SU	1		10.5	lzq	1.6	8.5	V	25

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (GRUPO G3)										
DONADORA	RECEPTORAS									
ARETE	ARETE	RAZA	OVULACIÓN		TAMAÑO	PUESTA			DIAGNOSTICO	
			Ov.Der	Ov.lzq	C.L mm	Cuerno	Embrión mm	DIAS	GEST	DIAS
359	163	SU		1	11	lzq	2.5	8	P	25
534	700	SU		1	9.5	lzq	2	8	P	25
622	69	HU		1	12	lzq	1.5	8	P	25
359	191-05	HU		1	8.5	lzq	2.5	8	P	25
585	349	HU		1	12	lzq	2	8	P	25
534	544	SU		1	12	lzq	2	8	P	25
534	718	SU		1	13	lzq	2.5	8	P	25
98	194-05	HU		1	12	lzq	1.8	8	P	25
635	088-02	HU		1	11	lzq	2.5	8	V	25
1379	8	SU		1	13.5	lzq	1.5	8	V	25
1379	027-02	HU		1	9.5	lzq	1.5	8	P	Foliculo quistico der
247	168	SU		1	12	lzq	2.5	8	P	25
585	679	HU		1	12	lzq	2	8	P	25
635	288-05	HU		1	8.5	lzq	2	8	V	25
202	725	HU		1	8	lzq	3.2	8	V	25
637	277-04	HU		1	11	lzq	2	8.5	V	25
359	014-02E	HU		1	11.5	lzq	2	8.5	P	25
367	003-02E	HU		1	11	lzq	2.5	8	P	25
45	377-05	HU		1	9.5	lzq	1.8	8.5	P	25
	030-02	HU		1	12	lzq	2.8	8.5	P	25
70	695	SU		1	12	lzq	3	8.5	P	25
219	188	SU		1	11	lzq	3.2	8	P	25
102	126-06	HU	1	1	10.5	lzq	2.5	8	P	25
637	615	HU		1	8	lzq	1.5	8	P	25
202	162	SU		1	12	lzq	2	8.5	P	25
70	077-04	HU		1	11	lzq	1.8	8.5	P	25
473	153	HU		1	14	lzq	2.5	8.5	P	25
536	185	SU		1	10.5	lzq	2	8	P	25

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (GRUPO G4)										
DONADORA	RECEPTORAS									
ARETE	ARETE	RAZA	OVULACIÓN		TAMAÑO C.L mm	PUESTA			DIAGNOSTICO	
			Ov.Der	Ov.Izq		Cuerno	Embrion mm	DIAS	GEST	DIAS
367	017-04	HU		1	10.5	Der	1.5	8	V	25
359	645	HU		1	12	Der	1.8	8	V	25
635	422	HU		1	10	Der	2.5	8	P	25
98	209-05	HU		1	11	Der	1.5	8	V	25
637	448	HU		1	9	Der	3	8	P	25
36	115-05	HU		1	11.5	Der	1.5	8	V	25
247	41-C	SU		1	12	Der	1.8	8	V	25
1379	227	HU		1	12	Der	2.5	8	P	25
637	699	SU		1	10.5	Der	2	8.5	V	25
219	029-05	HU		1	10.5	Der	2.5	8.5	V	25
199	257-06	HU		1	10.5	Der	3	8.5	P	25
628	99	HU		1	9	Der	1.8	8	V	25
660	193	SU		1	11.5	Der	1.5	8	P	25
527	150	HU		1	12	Der	1.5	8.5	V	En otra 1 hr
400	284	HU		1	10.5	Der	2	8.5	V	25
36	735	HU		1	6	Der	1.5	8	V	C.L.Pequeño 6mm
285	420-05	SU		1	11	Der	1.8	8	V	25
403-05	066-07	HU		1	12	Der	2.5	8	V	25
400	432-06E	HU		1	11.5	Der	3	8	V	25
628	204-06E	HU		1	10	Der	2.5	8.5	P	Gemelos
85	137-05	HU		1	12	Der	1.8	8.5	V	25
628	077-04	HU		1	7.5	Der	2.5	8.5	P	25
684	024-02	HU		1	12.5	Der	1.8	8.5	V	25
285	422	HU		1	10.5	Der	2	8	P	estrecha
219	194	SU		1	9	Der	3	8	V	26
348-E	654	HU		1	11.5	Der	2.5	8.5	V	26
219	014-02E	HU		1	12	Der	2	8	V	26
1379	208-04	HU		1	9	Der	2	8	V	26
359	184	SU		1	8	Der	2.5	8	P	26
534	006-04	HU		1	12	Der	1.8	8	V	26

**ANEXO 03: Resultados del análisis estadístico****Efecto de la transferencia embrionaria de acuerdo a la ubicación del cuerpo lúteo sobre la migración y localización del embrión.**

GRUPO	DxPREÑEZ		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
(G1) IPSI DERECHO	14 21.88	16 28.57	30 25.00
(G2) CONTRA DERECHO	19 29.69	11 19.64	30 25.00
(G3) IPSI IZQUIERDO	10 15.63	20 35.71	30 25.00
(G4) CONTRA IZQUIERDO	21 32.81	9 16.07	30 25.00
Total	64 100.00	56 100.00	120 100.00

Pearson  $\chi^2(3) = 9.9107$  Pr = 0.019

**Relación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.**

OVARIO	DxPREÑEZ		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
OVARIO DERECHO	33 51.56	27 48.21	60 50.00
OVARIO IZQUIERDO	31 48.44	29 51.79	60 50.00
Total	64 100.00	56 100.00	120 100.00

Pearson chi2(1) = 0.1339 Pr = 0.714

CLCat	DxPREÑEZ		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
<= a 10	24 37.50	20 35.71	44 36.67
> 10	40 62.50	36 64.29	76 63.33
Total	64 100.00	56 100.00	120 100.00

Pearson chi2(1) = 0.0410 Pr = 0.840

**Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez.**

CLCat	DxPREÑEZ		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
<= a 10	24 37.50	20 35.71	44 36.67
> 10	40 62.50	36 64.29	76 63.33
Total	64 100.00	56 100.00	120 100.00

Pearson  $\chi^2(1) = 0.0410$  Pr = 0.840

TRANSFERENCIA	DxPREÑEZ		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
C. U IZQUIERDO	29 45.31	31 55.36	60 50.00
C.U DERECHO	35 54.69	25 44.64	60 50.00
Total	64 100.00	56 100.00	120 100.00

Pearson  $\chi^2(1) = 1.2054$  Pr = 0.272