UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA

TESIS

RELACION MORFÓMETRICA DE EMBRIONES FRESCOS DE LLAMA PRODUCIDOS POR SUPEROVULACIÓN CON LA FERTILIDAD OBTENIDA MEDIANTE TRANSFERENCIA

PRESENTADO POR:

Br. FRANKLIN ROLANDO TORRES CHAHUARA

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO ZOOTECNISTA

ASESORES:

Dr. LUCIO ENRIQUE AMPUERO CASQUINO

Dr. JOEL IVAN PACHECO CURIE

FINANCIADO POR:

PROYECTO CANON DE IMPACTO SOCIAL - UNSAAC

CUSCO - PERÚ

2026

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor** Dr. Lucio enrique ampuero casquino quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: "Relación morfométrica de embriones frescos de llama producidos por superovulación con la fertilidad obtenida mediante transferencia".

Presentado por: Franklin Rolando Torres chahuara DNI N° 75815444;
presentado por: ..... DNI N°: .....
Para optar el título Profesional/Grado Académico de Ingeniero Zootecnista

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del ***Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC*** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 07 de Octubre de 20 26

Firma

Post firma Lucio enrique ampuero casquino
Nro. de DNI 23962676
ORCID del Asesor 0000-0001-6159-7451
0000-0001-9978-6522 40112676

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259:635627748

Escaneado con CamScanner

Franklin Torres

RELACIÓN MORFOMÉTRICA DE EMBRIONES FRESCOS DE LLAMA PRODUCIDOS POR SUPEROVULACION CON LA FERTI...

Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::27259:635627748

Fecha de entrega
7 oct 2026, 11:13 a.m. GMT-6

Fecha de descarga
7 oct 2026, 12:00 p.m. GMT-6

Nombre del archivo
RELACIÓN MORFOMÉTRICA DE EMBRIONES FRESCOS DE LLAMA PRODUCIDOS POR SUPEROVULA....pdf

Tamaño del archivo
4.1 MB

114 páginas

22.853 palabras

131.571 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

9%	Fuentes de Internet
4%	Publicaciones
5%	Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, fuerzas y el valor para permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional y a no rendirme en todos los obstáculos que la vida pone en el camino.

Dedico a mis padres Felicitas Chahuara Huacho y Rolando Jines Torres García y mi hermana, quienes han sido mi mayor fuente de inspiración y apoyo incondicional. Su amor, sacrificio y confianza en mí me han dado la fuerza para superar cualquier obstáculo y seguir adelante.

A mis familiares y amigos por su constante apoyo y por siempre estar a mi lado y contribuir en la realización de esta investigación, brindándome ánimo en cada paso de este camino.

A todos ustedes, con cariño
Franklin Rolando Torres Chahuara

AGRADECIMIENTO

A mis padres por su amor incondicional y su constante apoyo en todos los desafíos de mi vida.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, a mis docentes de la Escuela Profesional de Zootecnia, por haberme impartido sus conocimientos en mi formación profesional.

Al proyecto de investigación "Aplicación de biotecnologías reproductivas para la conservación y el mejoramiento genético de camélidos domésticos de los productores en la región cusco" por su apoyo con equipos y materiales para la ejecución de la tesis.

Al Dr. Joel Iván Pacheco Curie y Dr. Lucio Enrique Ampuero Casquino, por su apoyo y asesoría en mi trabajo de tesis, a la Ing. Ayde Meza Chatata por sus acertados consejos, apoyo y su infinita amabilidad, les quedo muy agradecido.

A Kevin Gutiérrez, Lucero Sánchez, Danny Jesús y todos los tesistas y practicantes del CICAS, por su apoyo en la parte experimental del presente trabajo de investigación.

A todos mis amigos de siempre que me brindaron su apoyo moral, con quienes compartí bellos momentos por el transcurrir en las aulas universitarias.

Al administrador del CICAS la Raya Ing. José Antonio Becerra Callo por darme las facilidades para la ejecución del presente trabajo de investigación, asimismo al personal que labora en el CICAS, al Sr. Ladislao, Nicolas, Roger, Marcelo, José y a todo el personal que me apoyo durante la ejecución de este proyecto de investigación.

INDICE

DEDICATORIA i

AGRADECIMIENTOS ii

ÍNDICE iii

ÍNDICE DE TABLAS vi

ÍNDICE DE FIGURAS vii

ÍNDICE DE ANEXOS xiii

GLOSARIO DE TÉRMINOS ix

RESUMEN x

ABSTRACT xi

INTRODUCCIÓN 1

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN 3

1.1. Desarrollo del problema 3

1.2. Preguntas de investigación 4

1.2.1. Pregunta general 4

1.2.2. Preguntas específicos 4

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN 5

2.1. Objetivos 5

2.1.1. Objetivo general 5

2.1.2. Objetivos específicos 5

2.2. Justificación de la investigación 6

III. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL 7

3.1. ANTECEDENTES 7

3.2. MARCO TEÓRICO 10

3.2.1. Llamas (*Lama glama*) 10

3.2.2. Importancia de los camélidos sudamericanos 11

3.2.3. Ciclo reproductivo de los camélidos sudamericanos 12

3.2.4. Fisiología reproductivo de los camélidos sudamericanos 13

a). Pubertad 13

b). Comportamiento de receptividad sexual dentro de la dinámica ovárica 13

c). Desarrollo folicular y ovulación 14

e). Actividad lútea 16

3.2.5. Control de la dinámica ovárica en camélidos sudamericanos 17

3.2.6. Embriología del Camélido 19

a). Desarrollo embrionario 19

b). Migración embrionaria 20

c). Reconocimiento maternal de la gestación 22

d). Recolección de embriones 22

e). Morfología embrionaria 23

f). Evaluación de los embriones 23

3.2.7. Calidad embrionaria en rumiantes y en camélidos sudamericanos.....24

3.2.8. Producción de embriones: ovulación simple y superovulación 26

3.2.8.1. Ovulación simple 26

3.2.8.2. Superovulación.....27

3.2.9. Colecta de embriones.....28

3.2.10. Transferencia de embriones 31

3.2.11. Diagnóstico de gestación mediante ecografía.....32

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....35

4.1. Ubicación y periodo experimental 35

4.2. Materiales y equipos 37

4.2.1. Material biológico 37

4.2.2. Materiales de campo 37

4.2.3. Materiales de experimentación 38

4.2.4. Equipos 39

4.3. Descripción de las actividades y métodos 40

4.3.1. Donadoras 40

4.3.2. Receptoras 41

4.3.3. Protocolo de superovulación de las donadoras 41

4.3.4. Recuperación de embriones día 7 y 8 43

4.3.5. Evaluación morfométrica embrionaria 44

4.3.6. Preparación de receptoras 47

4.3.7. Transferencia de embriones 48

4.3.8. Diagnóstico de gestación post transferencia 49

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 50

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 51

5.1. Evaluación de la respuesta fisiológica en donadoras y receptoras en el programa de transferencia embrionaria 51

5.2. Evaluación de la morfometría embrionaria de embriones colectados en el séptimo y octavo día para el objetivo N° 1. 53

5.2.1. Evaluación según la morfología de los embriones clasificados en cuatro grupos del séptimo y octavo día 53

5.2.2. Evaluación según el promedio del diámetro del embrión del séptimo y octavo día . 55

5.2.3. Evaluación según el área del embrión del séptimo y octavo día 56

5.3. Evaluación de la tasa de preñez de embriones colectados en el séptimo y octavo día para el objetivo N° 2 58

5.3.1. Relación entre la morfología embrionaria y la tasa de preñez según el día de

colecta….59

5.3.2. Relación entre el tamaño embrionario y la tasa de preñez según el día de lavado 61

5.3.3. Relación entre el área embrionaria promedio y la tasa de preñez en función del día de la colecta 63

VI. CONCLUCIONES 65

VII. RECOMENDACIONES 66

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 67

ANEXOS 84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Resultados de la respuesta superovulatoria y sincronización de receptoras según el día de colecta embrionaria 53

Tabla 2 Resultados de la clasificación morfológica de los embriones colectados al séptimo y octavo día 55

Tabla 3 Resultados del promedio del diámetro de los embriones del séptimo y octavo día..... 56

Tabla 4 Promedio según el área de los embriones del séptimo y octavo día 57

Tabla 5 Numero de lavados, embriones recuperados, embriones transferidos y llamas preñadas según el día de colecta.....59

Tabla 6 Resultados de preñez en llamas en función de la morfología embrionaria (colectas día 7 y 8) 61

Tabla 7 Resultado de la categorización del tamaño del embrión (> <1000 µm) y la tasa de preñez, de embriones colectados al séptimo y octavo día.....63

Tabla 8 Preñeces obtenidas en llamas en función de la categoría del área embrionaria en colectas de los días 7 y 8 post-monta.....64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Instalaciones del Centro Experimental de Camélidos Sudamericanos CICAS-La raya 35

Figura 2 Instalaciones de la Estación IVITA-Maranganí 36

Figura 3 Mapa de ubicación del Distrito de Pichigua-Cusco 37

Figura 4 Protocolo de superovulación de donadoras y sincronización de receptoras 43

Figura 5 Clasificación de los embriones según su morfología en cuatro grados 45

Figura 6 Mediciones morfométricas realizada a los embriones colectados 46

Figura 7 Regla milimétrica utilizada de trasfondo con una distancia de 1000 µm entre dos líneas consecutivas 47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Registro de hembras llamas donadoras de embriones 84

Anexo 2 Registro de sincronización de hembras llamas receptoras.....84

Anexo 3 Registro de colecta y transferencia de embriones.....85

Anexo 4 Resultados del análisis estadístico mediante el software estadístico SPSS-25 85

Anexo 5 Programa de medición de embriones (diámetro y área) con el software j – image®.....92

Anexo 6 Registro fotográfico 93

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **AO :** Anovulación
- **BSA :** Suero Albumina Bovina
- **CICAS :** Centro de investigación de camélidos sudamericanos
- **CL :** Cuerpo Lúteo
- **CLC :** Cuerpo lúteo cavitario
- **CSA :** Camélidos Sudamericanos
- **CV :** Coeficiente de Variabilidad
- **DS :** Desviación estándar
- **eCG :** Gonadotropina Coriónica equina
- **EM :** Endometritis
- **FPO:** Folículo preovulatorio
- **GnRH :** Hormona Liberadora de Gonadotrofinas
- **IETS :** Sociedad Internacional de Tecnología de Embriones
- **IVITA :** Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura
- **OCC :** Obliteración del canal cervical
- **PBS :** Buffer Fosfato Salino
- **PGF2a :** Prostaglandina
- **QF :** Quiste folicular

RESUMEN

La transferencia de embriones en camélidos sudamericanos presenta limitaciones debido a la ausencia de un método estandarizado definido de evaluación embrionaria, lo que repercute la eficiencia reproductiva. El objetivo fue plantear una nueva propuesta de evaluación embrionaria mediante la relación entre las características morfométricas (diámetro, área y forma) de embriones obtenidos por superovulación y la fertilidad post-transferencia. Se utilizaron 46 llamas donadoras clínicamente sanas, distribuidas según el día de colecta embrionaria: día 7 (n = 20) y día 8 (n = 26). día 1, inducción de ovulación (GnRH); día 3, aplicación eCG, 600 UI; día 6, aplicación de luteolítico (PGF2α); días 9 y 10, monta natural para inducir ovulación; días 17 y 18, lavado uterino y recuperación de embriones según el día de colecta; día 51: evaluación ecográfica para determinar la gestación. Los resultados mostraron diferencias morfométricas según el día de colecta. Los embriones del día 7 presentaron un diámetro promedio de 663,19 µm y un área de 348,66 µm², mientras que los del día 8 alcanzaron 1533,13 µm y 2139,92 µm², respectivamente. La fertilidad fue del 40 % (8/20) para el día 7 y del 61,11 % (33/54) para el día 8. Según la forma, los embriones esféricos del día 7 y los irregulares del día 8 concentraron el mayor número de gestaciones en sus respectivos grupos. Se concluye que la morfometría constituye una herramienta complementaria a la evaluación morfológica tradicional, con potencial para optimizar la selección embrionaria y mejorar la eficiencia de la transferencia en llamas.

Palabras clave: Llama, Morfometría, Superovulación, Embriones, Fertilidad,

ABSTRACT

Embryo transfer in South American camelids faces several limitations due to the lack of a standardized method for embryo evaluation, which affects reproductive efficiency. The aim of this study was to propose a novel embryo evaluation approach based on the relationship between morphometric characteristics (diameter, area, and shape) of embryos obtained through superovulation and post-transfer fertility. A total of 46 clinically healthy donor llamas were used and grouped according to the day of embryo collection: day 7 (n = 20) and day 8 (n = 26). The protocol consisted of the following steps: day 1, ovulation induction with GnRH; day 3, administration of 600 IU of eCG; day 6, administration of a luteolytic agent (PGF2α); days 9 and 10, natural mating to induce ovulation; days 17 and 18, uterine flushing and embryo recovery according to the collection day; and day 51, ultrasonographic examination to determine pregnancy status. The results revealed morphometric differences according to the day of embryo collection. Embryos collected on day 7 had a mean diameter of 663.19 µm and an area of 348.66 µm², whereas those collected on day 8 reached 1,533.13 µm and 2,139.92 µm², respectively. Fertility rates were 40% (8/20) for day 7 and 61.11% (33/54) for day 8. Regarding embryo shape, spherical embryos collected on day 7 and irregularly shaped embryos collected on day 8 accounted for the highest number of pregnancies within their respective groups. In conclusion, morphometry represents a complementary tool to conventional morphological evaluation, with potential to optimize embryo selection and improve the efficiency of embryo transfer in llamas.

Keywords: Llama, morphometry, superovulation, embryos, fertility.

INTRODUCCIÓN

La producción de camélidos sudamericanos representa un componente fundamental en las economías altoandinas, no solo por su valor cultural y social, sino también por el aprovechamiento de recursos como la carne, fibra y el estiércol (Larico, 2019). La llama (*Lama glama*) representa una de las principales actividades económicas para los productores de las comunidades altoandinas del país, especialmente en zonas donde la agricultura y la crianza de otras especies domésticas no son viables. Estos animales muestran una notable adaptación a altitudes superiores a los 4200 msnm, donde históricamente han sido utilizados como animales de carga y transporte, y en la actualidad se valoran como fuente de alimento por su carne, rica en proteínas y baja en colesterol. Por su parte, otras especies de camélidos sudamericanos generan ingresos principalmente a través de la comercialización de su fibra (Huanca, 2007).

En camélidos sudamericanos como la llama y la alpaca, la reproducción presenta particularidades fisiológicas, como la ovulación inducida y la sensibilidad a factores ambientales, lo que ha llevado al desarrollo de técnicas específicas para mejorar su eficiencia reproductiva (coronel, 2021). Entre estas, destacan la inseminación artificial y la transferencia de embriones, esta última con gran potencial para multiplicar animales de alto valor genético, mejorar la calidad de fibra en alpacas y aumentar el peso corporal en llamas. Además, su aplicación puede contribuir al crecimiento poblacional y al manejo sostenible de estas especies (Vivanco et al., 2010).

En las llamas, la baja tasa reproductiva, con menos de seis crías por hembra en toda su vida reproductiva, representa una limitación para el mejoramiento genético (Quispe, 2021). Aunque los protocolos de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET) han demostrado ser exitosos en bovinos y tienen uso comercial en países con ganadería avanzada, su aplicación en

camélidos sudamericanos muestra una respuesta ovárica muy variable y una baja tasa de recuperación de embriones (Pérez et al., 2019; Miragaya et al., 2006; Neira et al., 2023).

En este contexto, conocer la forma, el tamaño y área de los embriones en el ámbito de la reproducción es importante, ya que permite predecir con mayor precisión el potencial de desarrollo de cada embrión. Para realizar una valoración objetiva, se requiere conocer con exactitud la morfometría embrionaria, entendida como la medición de parámetros como el diámetro, el grosor de la zona pelúcida y el grado de expansión, los cuales están asociados a su viabilidad y capacidad de implantación (Pérez et al., 2019). Autores como Neira et al. (2023) han señalado la relación directa entre las características morfométricas de gametos y embriones con el éxito reproductivo en especies como los bovinos, lo que respalda la importancia de su estudio en camélidos. No obstante, aún se requiere mayor conocimiento sobre cómo estas características varían según el día de colecta post monta y su relación con la fertilidad posterior en llamas.

Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo describir la morfometría de embriones frescos obtenidos por superovulación y evaluar su fertilidad después de la transferencia, considerando los días séptimo y octavo post monta. Esta información busca contribuir al plantear una nueva forma en la evaluación de los embriones de los camélidos sudamericanos.

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Desarrollo del problema

La cría de camélidos en las regiones altoandinas constituye una actividad tradicional y fundamental para las comunidades locales, debido a la adaptación de estos animales a condiciones climáticas extremas y al valor de su carne, cuero, fibra y uso histórico como animales de carga (García, 2019; Huamán, 2022). Sin embargo, las llamas presentan un bajo rendimiento reproductivo, con un número limitado de crías a lo largo de su vida útil, lo que dificulta el progreso genético y la sostenibilidad de los sistemas productivos. En este contexto, las biotecnologías reproductivas, particularmente la transferencia de embriones, se consideran herramientas clave para incrementar la eficiencia reproductiva y acelerar el mejoramiento genético, al permitir multiplicar animales de alto valor genético y mejorar la eficiencia reproductiva (Pacheco et al., 2021; Ruiz, 2022). A esto se suma que el tamaño corporal de las llamas exige infraestructura adecuada y personal especializado para el manejo durante la superovulación, la colecta y transferencia de embriones (Ormachea et al., 2022).

A pesar de su importancia, la aplicación de la transferencia de embriones en camélidos sudamericanos enfrenta limitaciones: la ausencia de un método estandarizado de evaluación embrionaria. Mientras que en bovinos existe una clasificación morfológica validada y utilizada en programas de transferencia (Robertson et al., 2010; Wright, 2010), en camélidos la evaluación sigue siendo subjetiva, basada en criterios propios de cada especialista, lo que reduce la reproducibilidad y dificulta predecir la fertilidad post-transferencia. Estudios previos señalan que parámetros como el diámetro embrionario y el día de colecta influyen en el éxito gestacional, destacándose menor eficiencia en embriones menores a 1 mm y mayor tamaño en colectas de días 8 y 9 (Trasorras et al., 2017; Vaughan et al., 2013).

Ante ello, el presente estudio plantea una nueva propuesta de evaluación embrionaria que busca establecer una relación entre las características morfométricas de los embriones frescos y la fertilidad obtenida post-transferencia. Contribuyendo así a la mejora de las biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos.

1.2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.2.1. Pregunta general

¿Cuál es la relación morfométrica de embriones frescos producidos por superovulación con la fertilidad obtenida mediante transferencia?

1.2.2. Preguntas específicas

- ¿Cómo es la morfometría embrionaria de embriones frescos producidos por superovulación colectados en el día séptimo y octavo post monta?
- ¿Cuál es el porcentaje de fertilidad post transferencia de embriones frescos producidos por superovulación colectados en el día séptimo y octavo post monta?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo general

Determinar la relación entre la morfometría embrionaria con la fertilidad post transferencia.

2.1.2. Objetivos específicos

- Describir la morfometría embrionaria de embriones frescos de superovulación colectados en el séptimo y octavo día post monta.
- Determinar la fertilidad post transferencia de embriones de superovulación colectados en el séptimo y octavo día post monta.

2.2. Justificación de la investigación

La transferencia de embriones es una herramienta clave para el mejoramiento genético en alpacas y llamas, pues permite multiplicar descendientes de animales de élite y acelerar el progreso genético en los rebaños, además de mejorar características deseables como aumentar peso corporal de las llamas como producción de carne (Ratto y Adams, 2007). Asimismo, reduce los riesgos de transporte, aumenta la diversidad genética y mejora la rentabilidad de los sistemas productivos (Palomino et al., 2020; Pérez et al., 2019). También, no existen descripciones claras ni estandarizadas de las características morfométricas de los embriones de llama obtenidos por superovulación, en parte por la complejidad del manejo y por el limitado interés previo en este aspecto (Mamani, 2022). Esta carencia constituye un vacío técnico que limita la selección precisa de embriones y restringe el avance de los programas de reproducción asistida (Valadez y Miranda, 2020).

Por ello, este estudio busca generar información objetiva que permita determinar si existe una relación entre la morfometría embrionaria y la fertilidad obtenida tras la transferencia. La clasificación morfométrica basada en el diámetro, la forma y el área del embrión permitirá establecer criterios más confiables para evaluar la calidad embrionaria y recomendar su aplicación en programas de reproducción asistida en llamas, con el fin de mejorar las tasas de implantación y la eficiencia de la transferencia de embriones (Carnero et al., 2011; Quina, 2015).

Finalmente, los resultados de este trabajo están dirigidos a transferencistas, criadores, investigadores y programas de reproducción asistida, quienes podrán utilizar esta información para seleccionar embriones de mayor potencial reproductivo, mejorar la eficiencia de los procedimientos y contribuir al fortalecimiento productivo y genético de las poblaciones de llamas, fundamentales para las comunidades altoandinas (Elguera, 2015).

III. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

3.1. ANTECEDENTES

Vaughan et al. (2013) analizaron un conjunto de datos con información de 5547 transferencias embrionarias de embriones únicos y de embriones de ovulaciones múltiples (MOET) en alpacas realizadas en granjas comerciales de alpacas en Australia entre febrero de 2004 y diciembre de 2008 en 53 granjas diferentes para determinar los factores que influyen en el número y la calidad de los embriones producidos, el éxito de la transferencia embrionaria (porcentaje de crías nacidas) y la duración de la gestación tras la transferencia, utilizaron regresión logística binaria para identificar las variables día de colecta después de la cubrición, diámetro del embrión, calidad del embrión, día de la transferencia después del GnRH y edad de la receptora, que tienen un impacto significativo en el éxito de la transferencia embrionaria, donde los embriones más pequeños o de embriones de menor calidad resulto en tasas de éxito de transferencia disminuidas, detectaron que los días óptimos para la obtención de embriones de las donantes fueron los días 8 y 9 después del apareamiento, y los días óptimos para la transferencia a las receptoras fueron los días 7 y 8 después del tratamiento con GnRH, asimismo, la edad (>15 años) y la condición corporal de las receptoras <2 también disminuyeron las tasas de éxito de la transferencia, mientras que el calor del verano no tuvo ningún efecto adverso, sin embargo, la temporada sí influyó en la duración de la gestación, mientras que el sexo de la cría no lo hizo. En conclusión, los resultados del análisis de este conjunto de datos muy grande pueden fundamentar nuevas recomendaciones para mejorar el éxito de la transferencia de embriones en alpacas y llamas.

Trasorras et al. (2017) analizaron algunas de las técnicas reproductivas necesarias para la producción de embriones que están disponibles hoy en CSA y que pueden aplicarse en hembras y

machos genéticamente superiores, mencionando que, si bien se han logrado avances en algunas técnicas de reproducción asistida (TRA), como la sincronización del desarrollo folicular ovárico, la superestimulación ovárica y la transferencia de embriones (TE), algunas otras presentan menos avances, como por ejemplo, la inseminación artificial (IA), especialmente cuando se utiliza semen crioconservado, la fecundación *in vitro* (FIV) y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI); asimismo, hacen evidente la necesidad de mejorar algunos factores, entre ellos, los más urgentes son los protocolos de inhibición folicular y superestimulación ovárica, la maduración *in vitro* de ovocitos, la criopreservación de gametos y el calendario y dosis para la IA; finalmente concluyen que la aplicación de biotecnologías reproductivas como las descritas permitirá ampliar la población de animales genéticamente seleccionados y también la de especies salvajes de camélidos, vicuñas y guanacos, cuyos embriones podrían transferirse después al útero de especies domésticas.

Picha et al. (2013) desarrollaron el primer estudio destinado a determinar el destino de los ovocitos no fecundados en alpacas (*Vicugna pacos*), considerando la hipótesis de que éstos podrían ser retenidos en la unión útero-tubárica (UTJ), como ocurre en la yegua. Se trabajó con 14 hembras adultas (3–6 años), divididas en dos experimentos: el primero con inducción de ovulación mediante GnRH y el segundo con superovulación mediante eCG seguida de GnRH. El seguimiento folicular se realizó por ultrasonografía transrectal, y la recuperación de ovocitos mediante lavado post-mortem de oviductos y cuernos uterinos. Metodológicamente, se aplicó un diseño experimental descriptivo con control de variables reproductivas (estado folicular, tiempo post-ovulación y lateralidad del cuerpo lúteo). Se estandarizó la técnica de recolección (flushing normógrado de oviductos y cateterización de cuernos uterinos) y se describió la morfología ovocitaria en distintos días post-ovulación. Los resultados mostraron que los ovocitos se

localizaron en oviductos del día 1 al 3 post-ovulación en diversos grados de degeneración, y alcanzaron los cuernos uterinos al día 6, incluso en hembras superovuladas, descartando la hipótesis de retención selectiva en la UTJ. Este estudio constituye un referente metodológico en reproducción de camélidos sudamericanos, al integrar diagnóstico ecográfico de la dinámica ovárica, protocolos hormonales controlados y recuperación in situ de gametos, aportando evidencia para comprender el transporte ovocitario y sus implicancias en biotecnologías reproductivas como la transferencia embrionaria.

3.2. MARCO TEÓRICO

3.2.1. Llamas (*Lama glama*)

La llama (*Lama glama*) es el camélido doméstico de mayor tamaño, capaz de crecer hasta 120 cm de altura a la cruz y pesar entre 100 y 140 kg en la edad adulta, la cual, se encuentra adaptada para prosperar en las variadas condiciones ambientales del terreno alto andino, concretamente entre los 3600 y 5500 metros sobre el nivel del mar, caracterizada por pastos naturales con un contenido nutricional limitado (Mendoza, 2012). El principal impulso para su cría actual radica en su obtención de carne, cuero y fibra, por tanto, la llama, sigue siendo un activo inestimable en numerosas regiones aisladas de los Andes (Mendoza, 2015).

Existen dos características físicas claramente diferenciadas en las llamas, conocidas como fenotipos Ch'aku y K'ara, también denominados Lanuda y Pelada respectivamente (Quina, 2015). La principal diferencia entre estos fenotipos es la extensión de la cobertura corporal y el largo de mecha de la fibra. El fenotipo K'ara se caracteriza por un físico fuerte, con una masa muscular considerable y una grasa corporal mínima, en cambio, el fenotipo Ch'aku presenta un mayor nivel de distribución de fibras, que cubren uniformemente las extremidades (Rodríguez et al., 2021). En lo que se refiere a los sistemas de cría mixtos, comunes entre los pequeños productores, existen variedades intermedias que pueden confundirse con huarizos, los cuales son el resultado del cruce entre llamas y alpacas (Quina, 2015).

En la época del Tahuantinsuyo, vivían aproximadamente 23 millones de llamas, sin embargo, tras la conquista del Perú en 1532, se produjo una notable disminución de la población de llamas y alpacas durante los siglos XVI y XVII, atribuyéndose a la transmisión de enfermedades foráneas traídas por los colonizadores, que tuvieron un impacto perjudicial sobre estas especies; en

consecuencia, al concluir el Virreinato, quedaban casi un millón de llamas y algo más de 440,000 alpacas en la región del Alto y Bajo Perú (INEI, 2012).

Adicionalmente, entre 1994 y 2012 se registró una disminución del 25.81% en la población de llamas, evidenciando en el año 2012, una población de llamas de 746,269, siendo los departamentos de Puno y Cusco los que presentaron una mayor concentración de llamas (INEI, 2012).

3.2.2 Importancia de los camélidos sudamericanos

Perú es el principal productor de fibra de alpaca, seguido por Bolivia, Australia, Estados Unidos y otros países presentan poblaciones menores, esto se debe a que nuestro país es hogar de alpacas, llamas, vicuñas y guanacos, que se encuentran en las regiones alto andinas a altitudes superiores a los 4,000 metros sobre el nivel del mar (Sumar, 2007). El objetivo principal de la cría de alpacas es proporcionar fibra de alta calidad, que sirve como fuente vital de ingresos para las comunidades andinas, las cuales enfrentan dificultades para llevar a cabo la crianza de animales domésticos que puedan adaptarse a pastar y reproducirse eficazmente en su entorno (Bustinza, 2001). Se está utilizando la biotecnología reproductiva en estas especies de camélidos, especialmente, en alpacas y llamas ya que tienen la capacidad de producir solo un máximo de 4-5 crías a lo largo de su vida reproductiva, por lo las biotecnologías van tomando mayor importancia (Mendoza, 2015).

El propósito de la cría de llamas es la producción de carne, seguido por la obtención de piel y fibra, de igual manera, otros fines mencionados por los criadores incluyen el aprovechamiento del estiércol (Winblad, 2015). La llama (*Lama glama*) es una especie fundamental para las regiones altoandinas debido a su alta resistencia al cambio climático y su capacidad de adaptación a condiciones extremas, como pastizales secos y de bajo valor nutricional, esta especie posee una

fisiología eficiente que le permite conservar energía, utilizar bien el agua y alimentarse de forrajes pobres sin afectar su productividad. Esta adaptabilidad no solo la convierte en una opción viable frente al deterioro ambiental, sino que también permite su integración en sistemas de producción sostenibles, contribuyendo a la seguridad alimentaria y al bienestar económico de las comunidades rurales (Gerken, 2006).

3.2.3. Ciclo reproductivo de los camélidos sudamericanos

Los camélidos son animales que necesitan una cierta estimulación durante el apareamiento para desencadenar la liberación de un óvulo de un folículo dominante, un proceso biológico denominado ovulación (Tibary, 2001a). Se ha identificado que el intervalo de receptividad sexual en alpacas varía de 3 a 6 días después de la ovulación, en cambio, en las llamas varía de 3 a 4 días (Chaves et al., 2002). No obstante, las hembras experimentan periodos alternos de receptividad y no receptividad mientras no se están apareando, estas fases están vinculados al ciclo desde la formación de un folículo dominante hasta el siguiente (Chaves et al., 2002; Vaughan, 2004).

Particularmente, el intervalo de no receptividad para las alpacas es de 12 a 15 días, mientras que para las llamas oscila entre 20 y 22 días, puesto que, durante este período de tiempo después de la ovulación, las llamas no aceptan la monta de los machos debido a los altos niveles de progesterona en su sistema reproductivo (Chaves et al., 2002). Si el cuerpo lúteo (CL) está presente, este intervalo se prolonga; de modo que, la duración de esta condición puede durar hasta 10 días después de la ovulación en llamas que no están preñadas, y hasta 12 días en alpacas (Brown, 2000).

3.2.4. Fisiología reproductiva de los camélidos sudamericanos

a) Pubertad

La valoración de la pubertad en hembras de camélidos sudamericanos es complicada debido a que no presentan un ciclo estral definido, ya que son ovuladoras inducidas; es decir, ovulan solo ante el estímulo del macho, lo que dificulta reconocer signos externos de madurez sexual (Fowler y Bravo, 2010). Sin embargo, la mayoría de las alpacas muestran ser sexualmente receptivas alrededor de los 12 a 14 meses de edad a pesar de haberse comprobado que la actividad ovárica (presencia de folículos con un diámetro superior a los 5 mm) se inicia a edades más tempranas (Novoa, 1991). Según Fernández-Baca et al. (1970) La aparición de la pubertad está supeditada a las condiciones ambientales, especialmente a la situación nutricional. Así, la pubertad se produce cuando el animal alcanza el 60% del peso corporal de un adulto, lo que supone unos 33 - 36 kg. La primera gestación se inicia a partir de los 2 años de edad, lo que unido a la tasa de natalidad media es aproximadamente del 50% en estos animales, determina que únicamente la mitad de los mismos produzca su primera cría a los 3 años, mientras que el resto no lo hace hasta los 4 años de edad. Sin embargo, cuando las condiciones nutricionales son adecuadas es posible lograr que las hembras inicien su primera gestación a los 12 meses de edad, obteniéndose una buena fertilidad (Fernández-Baca y Col., 1972).

b) Comportamiento de receptividad sexual dentro de la dinámica ovárica

Las hembras de los camélidos sudamericanos (CSA) presentan crecimiento folicular continuo, lo que las distingue de la mayoría de las especies domésticas. Las llamas y alpacas no preñadas muestran períodos prolongados de receptividad que duran más de 36 días tras el apareamiento inicial, sin embargo, estos períodos son interrumpidos brevemente por episodios cortos de anestro,

que no pasan de 48 horas (Picha et al., 2010). Parece ser que los camélidos son los únicos que no tienen periodos de comportamiento estral, asociados con distintos episodios o incrementos en actividad del estradiol, como ocurre en la ovulación espontanea de animales tales como ovejas y vacas, o en algunas especies de ovulación inducida como la coneja. Se podría argumentar que en camélidos el rápido reemplazo de folículos dominantes que prevalece por relativos periodos largos de tiempo es probable que asegure niveles casi ininterrumpidos de estrógeno, lo que facilita la continua receptividad a los machos (Bravo et al., 1990a).

Durante la cópula la concentración de estradiol alcanza niveles máximos (10-20 pg ml^{-1}), lo que es comparable a los mayores niveles producidos en asociación con el desarrollo de los folículos grandes, como indican las escasas investigaciones sobre los cambios hormonales durante este periodo, en consecuencia, la liberación de estradiol puede ser suficiente para mantener una sensación constante en los centros cerebrales que regulan el comportamiento sexual, siempre y cuando los intervalos entre cada pico no sean excesivamente largos, potencialmente entre 1-2 días (Adams y Ratto, 2001). La desincronización intermitente de las ondas de desarrollo folicular puede conducir a breves episodios de anestro en hembras que no están preñadas, esto provoca un retraso en el inicio de una nueva oleada y la liberación de estradiol, que es lo suficientemente largo como para hacer que los centros neurales sean menos sensibles (Brown, 2000).

c) Desarrollo folicular y ovulación

En las especies domesticas las hembras nacen con ovocitos y folículos ováricos con una cantidad ya definida, en su mayoría, ellos se atresiarán y nunca serán ovulados. A lo largo de la vida de una hembra, los folículos primordiales se mantienen en un estado de reposo y en cada cierto tiempo, algunos folículos son seleccionados para desarrollarse. El desarrollo folicular es un proceso

continuo que culmina con la ovulación del folículo madurado y con la regresión del mismo (Galina y Valencia, 2008).

La dinámica folicular en llamas es similar a la de las hembras bovinas, por lo que se sigue un patrón clásico de ondas ya descritas, en cada una de las ondas foliculares que se presentan surge un grupo de folículos, siendo uno de ellos el folículo dominante que continuara su crecimiento hasta alcanzar un diámetro máximo de 9-16mm. El folículo dominante tiene una acción inhibitoria llevando a los folículos subordinados a detener su crecimiento y atresiarse. Entre 1 y 3 días de comenzada la regresión del folículo dominante emerge la onda (Cervantes et, al., 2007, Vaughan et, al., 2004).

En el crecimiento folicular interviene la proliferación y la diferenciación, esta se da por la estimulación de las hormonas de las células de la granulosa y de la teca, lo que conlleva a un aumento de la capacidad de producir folículos, de producir estradiol y de reaccionar a las gonadotropinas (Vaughan, 2004). La producción de estradiol establecerá cuál de los folículos tendrá los receptores de hormona luteinizante necesarios para la ovulación y luteinización. Las perturbaciones en las respuestas de la granulosa y teca a las señales gonadotrópicas interrumpen el crecimiento folicular (Hafez, 2000).

En los camélidos se dará la descarga del LH y la consecuente ovulación a través del estímulo de la introducción del órgano copulador; mientras el estímulo de la monta sola sin la introducción del pene, resultará una tasa de ovulación baja (Fernández-Baca et, al., 1970). Para inducir a la ovulación en alpacas es suficiente con unos periodos de monta de 5 minutos como mínimo, esto en presencia de un folículo preovulatorio, así mismo también se reporta un 5% de ovulaciones

espontaneas cuando la hembra está aislada del macho y luego se le presenta ante este (Bravo, 2002; Vivanco et al., 2010).

d) Actividad lútea

Varios autores han descrito el crecimiento y la regresión lútea de llamas y alpacas hembra no preñadas. Diferencias aparentes en la duración de la función luteal parece estar relacionada con la variación en el intervalo entre cópula y ovulación (Vaughan, 2011). Hay también alguna sugerencia que los cuerpos lúteos en el ovario derecho se someten a una regresión más rápida que aquellos del ovario izquierdo y este puede relacionar la predominante acción luteolítica local del cuerno uterino derecho (Brown, 2000).

Está documentado que el cuerpo lúteo su máxima tamaño reportado va entre 10 a 15 mm en alpacas y llamas es alcanzado a los 7-9 días después del empadre y es acompañado con la producción de progesterona máxima (Picha et al., 2013a). La realización de una ecografía transrectal para visualizar el cuerpo lúteo cuatro días después de la ovulación es relativamente sencilla; En general, los cuerpos lúteos son de ecogenicidad media con un hoyo central más ecogénico, sin embargo, una proporción de ellos pueden presentar una cavidad central no ecogénica llena de fluido desde 3 a 8 mm de diámetro (Tibary, 2001b). La producción de progesterona del cuerpo lúteo disminuye entre 9 y 11 días después del apareamiento, y su diámetro se reduce a la mitad a los 12 días (Tibary y Anouassi, 2010). El tiempo de vida del cuerpo lúteo por lo tanto es de 8-9 días. Las hembras deberían ser sexualmente receptivas de nuevo aproximadamente a los 12-14 días después del empadre cuando no ocurre la concepción. Como en otras especies, también hay una alta correlación entre diámetro/ peso luteal y concentraciones de progesterona en llamas y alpacas (Zampini et al., 2020).

Se han descrito que en llamas y las alpacas tienen fases lúteas cortas, reportaron una fase luteal de solo 4 días en 2 hembras de un grupo de 12 (Bianchi et al., 2012). Estudios de ultrasonografía mostraron que los folículos en regresión (7-10 mm de diámetro) fallaron para ovular a pesar de una liberación normal de LH en respuesta a la copula (Gallelli et al., 2020). Estos folículos desarrollan tejido luteal con cavidades central grandes y con un tiempo de vida de aproximadamente 5 días. Los autores postularon que las células de la granulosa en folículos en regresión pueden tener la capacidad para la luteinización, pero han perdido la capacidad para secretar importantes factores hormonales para la ruptura del folículo. La luteinización de folículos (presencia de tejido luteal, pero ausencia del estigma de ovulación) fue también evidenciado por laparoscopia en alpacas empadradas y no empadradas (García, 2022).

Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo se genera en el folículo postovulatorio mediante la luteinización de las células de la granulosa, esta célula producirá la progesterona necesaria para preparar y mantener la gestación entre los días 3 y 5 después del apareamiento (Campbell et al., 2017), de tal forma, se puede considerar normal a los cuerpos lúteos cavitarios (Tibary et al., 2007).

3.2.5. Control de la dinámica ovárica en camélidos sudamericanos

Se debe realizar un seguimiento ultrasonográfico durante al menos 14 días para detectar un momento de emergencia. La ovulación y la regresión del CL pueden lograrse mediante la inyección de PgF2α cuando el CL es funcional (Vaughan, 2007). Se ha intentado regular la dinámica ovárica creando una actividad lútea artificial y luego comenzando una nueva dinámica ovárica mediante la aplicación de progesterona exógena, la cual tiene un efecto controlador en la ovulación, y un tratamiento de progesterona exógena junto con eCG (Chaves et al., 2002;

Miragaya et al., 2006). Mediante la manipulación de la onda folicular y la administración de gonadotropinas, podemos inducir la superovulación, lo que resulta en el crecimiento de folículos preovulatorios maduros y el máximo desarrollo folicular en un periodo de 10 días. Los folículos, que oscilan entre 6 y 12 mm de diámetro, inducen la ovulación repetida en alpacas liberando la cantidad necesaria de estrógeno y desencadenando la liberación de LH después de la cópula (Gallelli et al., 2019).

Los folículos que miden menos de 6 mm (específicamente 4-5 mm) sugieren la presencia de folículos diminutos, una síntesis inadecuada de estrógeno y la falta de estimulación natural de la hormona LH, resultando en la ausencia de ovulación, es decir, si los folículos alcanzan su crecimiento máximo y comienzan a retroceder debido al envejecimiento, las hembras no experimentarán la ovulación (Tibary et al., 2007). La vida media de formación de los cuerpos lúteos es de unos cinco días, de tal manera, la monitorización del desarrollo folicular es esencial en las llamas para garantizar el éxito de la cópula o la inducción de la ovulación, ya que sus niveles de LH son mayores que los de las alpacas, esto puede explicar por qué responden más favorablemente a la estimulación con hormonas superovulatorias (Barraza, 2019). Las alpacas muestran una respuesta óptima a la estimulación hormonal ovárica cuando se regula la onda folicular y se produce la ovulación correctamente, demostrado que la dosis de FSH puede ser modificada con base en la reacción del individuo, sin embargo, es importante considerar la variabilidad en la respuesta a la dosis (García, 2019; Montalvo, 2020).

3.2.6. Embriología del camélido

a) Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario comienza con la división celular del cigoto y su posterior paso por el oviducto hasta llegar al útero, sin embargo, se debe tener en cuenta, que la duración de este proceso difiere según las especies (Sadler, 2019). Tras muchas rondas de división celular, el embrión adopta la forma de un grupo compacto de células conocido como mórula, y posteriormente, estas células se organizan para convertirse en un blastocisto, que es una estructura hueca llena de líquido (Hyttel et al., 2010).

Cigoto (Día 1): El cigoto se forma cuando el ovocito es fecundado con éxito por el espermatozoide (Sadler, 2019). Durante las fases iniciales de crecimiento, el cigoto sufre una rápida división por mitosis a medida que se desplaza desde el oviducto hasta el útero, este trayecto tiene lugar entre el día 1 y el día 5 después de la ovulación y se produce en el oviducto del mismo lado que el ovario que liberó el ovocito. El día 1 después de la ovulación, el cigoto se encuentra en una fase unicelular, el día 2 tiene de 2 a 4 células, el día 3 tiene de 4 a 8 células, el día 4 forma mórulas tempranas y el día 5 se desarrolla en mórulas compactas y blastocistos tempranos (Hafez y Hafez, 2002).

Mórula (Día 5): Luego de varias divisiones celulares, el cigoto sufre cambios morfológicos y se transforma en una formación redondeada conocida como mórula, formada por un grupo de 16 células que aún no se han especializado, denominadas blastómeros. Esta fase es crítica, ya que significa las primeras fases de diferenciación y especialización celular dentro del embrión en desarrollo (Sadler, 2019; Van et al., 2011).

Blastocisto (Día 6-7): La mórula sigue dividiéndose y desarrolla una cámara central llena de líquido, lo que da lugar a la formación del blastocisto, el cual, posee una estructura única formada

por dos componentes principales: el trofectodermo, que en última instancia dará lugar al tejido fetal y a las membranas extraembrionarias, y el blastocele, una cavidad llena de líquido (Hafez y Hafez, 2002). A partir del día 6, tras la ovulación, los embriones se encuentran en el útero, el día 7 se encuentran en la fase de blastocisto temprano, el día 8 en la fase de blastocisto colapsado y el día 9 en la fase de blastocisto alargado alcanzando más de 1.5–2 mm de diámetro. Este crecimiento es crítico para el reconocimiento embrio-maternal y evitar la luteólisis, (Hyttel et al., 2010; Noden y De Lahunta, 1990; Sadler, 2019).

Gástrula (Día 14-16): En este momento, el blastocisto comienza su interacción con el endometrio y fijándose completamente a los 21 días en la pared uterina, y, a medida que sus células se diferencian, se establecen distintos estratos embrionarios, como el endodermo, el mesodermo y el ectodermo. A partir de estos estratos se desarrollarán los distintos tejidos y órganos del embrión (McGeady et al., 2006; Noden y De Lahunta, 1990; Sadler, 2019).

Feto (a partir del día 45 aproximadamente): Tras pasar por muchas etapas de desarrollo y la formación de órganos esenciales, el embrión recibe el nombre de feto; a partir de este estadio, el embrión seguirá creciendo y madurando hasta el momento del nacimiento (Hafez y Hafez, 2002).

b) Migración embrionaria

La migración embrionaria del cuerno derecho al cuerno izquierdo de los embriones producidos por la ovulación del ovario derecho lo realizan en el estado de blastocisto elongado a los 8 días post ovulación o a los 9 días post monta (Picha et al., 2013).

Los embriones llegan al cuerno uterino unos 5-6 días de la ovulación en forma de blastocistos en eclosión o recién eclosionados, 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 (Del campo et al.,

1995). La investigación de Tibary, (2001) 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. 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 (Olivera et al., 2003). 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 por lo cual, el embrión al implantarse en el cuerno izquierdo contrarrestaría su acción luteolítica (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 (Del campo et al., 1995).

c) Reconocimiento maternal de la gestación

El reconocimiento de la preñez en camélidos ocurre tempranamente entre los 8 a 10 días después de la monta, frente a otros rumiantes como el ovino y vacuno ocurre a los 12 y 16 días respectivamente, esto debido a que en el ovino a los 11 después del estro y 13 días en vacas el blastocisto sufre un crecimiento logarítmico. Mientras que en los camélidos la elongación del alantoides es después de la migración y pronto se expande dentro el cuerno izquierdo, cuerpo y cuerno derecho (Picha et al., 2013).

Según Tibary, (2001) Los embriones 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 la gestación.

d) Recolección de embriones

La recolección de embriones en camélidos por lo general se hace del modo no quirúrgico. Se sujeta a la donante y se administra un sedante, luego se envuelva la cola para evitar la molestia de la misma, se limpian las heces del recto y la zona perineal (Campbell et al., 2017). Algunas veces se coloca anestesia epidural, se atraviesa el cérvix con una sonda Foley y por el recto con la mano enguantada se ayuda a dicha manipulación. Una vez insertada la sonda en el cuerno uterino, se llena el balon con 30 a 40 ml de aire para anclarlo, luego se introduce medio de lavado temperado y con suaves masajes se ayuda a evacuar el medio de lavado a través del catéter hacia el filtro colector, lavado que debe repetirse por lo menos tres veces con un mínimo de 500 ml (Huanca et al., 2004; Skidmore, 2000).

e) Morfología embrionaria

Los embriones obtenidos a los 6 a 7 días del empadre, en hembras superovuladas, presentan una variación de tamaño entre 0.1 a 1 mm, y normalmente se encuentran en estadio de blastocisto expandido liberado. Cancino et al., (2011) indican que el diámetro promedio de un total de 163 embriones de llama y 19 embriones de alpaca colectados el día 7 fue de 527.1 ± 168.0 μm y 534 ± 151.4 μm, respectivamente. La expansión del trofoblasto se extiende desde un promedio de 1.2 mm en diámetro en el día 6.5 a 7.5, hasta 83 mm de longitud al día 13 a 14. Esta tasa acelerada de desarrollo embrionario se le podría relacionar al aparentemente reconocimiento materno temprano de la preñez en estas especies (Tibary et al., 2015).

f) Evaluación de los embriones

Los embriones se clasifican según a su aspecto morfológico, con el apoyo de una pipeta fina de vidrio, la que permitirá desplazar los embriones para evaluarlos desde distintos ángulos (Hafez, 2000; Palomino, 2000). Se debe observar la integridad de la membrana prelucida y su esfericidad (Palomino, 2000). El embrión debe tener un desarrollo en relación al día de la colección, los embriones se colectan hasta con un tiempo máximo de 48 horas de retraso (Hafez, 2000). En los días 6to y 7mo, deben excluirse los embriones de menos de 32 células, por ello estas células deben de ser claras y de contorno regular, siendo la opacidad un signo de degeneración, este sistema de evaluación morfológica no constituye un test absoluto de la viabilidad embrionaria. Pero, se presentan diferencias significativas en el porcentaje de preñez cuando se trasfieren embriones de calidad media con respecto a la calidad buena o excelente (Hafez, 2000; Palomino, 2000).

3.2.7. Calidad embrionaria en rumiantes y en camélidos sudamericanos

Los rumiantes, incluidas las cabras, ovejas y vacas, ovulan espontáneamente (Palma, 2008). La ovulación suele producirse en un plazo determinado tras la cópula, usualmente, entre 24 y 32 horas después del apareamiento o la inseminación, sin embargo, este tiempo puede variar en función de la especie y de otros factores individuales, como la fase del ciclo reproductivo y la salud y el estado físico del animal (Palma, 2008).

Palma, (2008) respecto a los bovinos y caprinos, el desarrollo embrionario transcurre de la misma manera que de las diferentes especies domésticas, pero presentan la particularidad de perder la zona pelúcida recién una vez que el embrión se encuentra en la cavidad uterina. Durante su tránsito por el oviducto, esta envoltura actúa como barrera protectora frente a factores mecánicos, microorganismos y variaciones del medio. Al llegar al útero y desprenderse de la zona pelúcida, el embrión queda inmerso en un ambiente rico en secreciones uterinas que aportan nutrientes, factores de crecimiento y protección inmunológica, asegurando su viabilidad. Esta condición no solo favorece su adaptación al medio uterino, sino que también facilita las labores de recuperación mediante lavado, ya que el embrión se desprende con mayor facilidad del epitelio endometrial.

De igual forma Delver, (2011); Mapletoft et al., (2011) en el manual de la (IETS) han reconocido la importancia de la estimulación hormonal y el lavado para garantizar la producción de embriones de bovinos de alta calidad. Además, han identificado varios factores que pueden influir en la viabilidad de los embriones y en las técnicas utilizadas para su transferencia. Entre estos factores figuran la calidad de las instalaciones de manejo, la aplicación de estrategias de bioseguridad, la precisión del calendario de ovulación e inseminación, el control eficaz del desarrollo de la onda

folicular y la utilización de dispositivos internos de liberación controlada de fármacos para la regulación reproductiva

Por otro lado, Hafez y Hafez, (2002) realizaron una evaluación de la calidad embrionaria en varias especies animales, en la cual observaron que los embriones más viejos mostraban mayor resistencia a las manipulaciones *in vitro* que los más jóvenes, además, desaconsejaron descartar los embriones defectuosos que presentaban anomalías morfológicas, las cuales incluían blastómeros de tamaño irregular, restos celulares en la mórula, colapso del blastocisto debido a una zona pelúcida alargada, desintegración de la figura mitótica y células poco diferenciadas.

A diferencia de otros animales, las alpacas experimentan una ovulación inducida cuando se aparean con un macho, esto significa que el acto del apareamiento inicia la producción de un componente en el plasma seminal del macho que induce la ovulación en la hembra, y, como resultado, la ovulación, también conocida como ruptura folicular, suele producirse unas 26 horas después del apareamiento (Silva et al., 2020). Los embriones de los camélidos sudamericanos son muy susceptibles a los efectos de los medios de cultivo embrionario debido a la ausencia de la zona pelúcida durante la recolección intrauterina, por lo tanto, la calidad del medio puede tener una influencia sustancial en la calidad del embrión (Ascencio et al., 2019).

Actualmente, la calidad embrionaria desempeña un papel crucial en la selección de embriones para la transferencia en rumiantes, incluidas llamas, alpacas y bovinos. Los embriones se clasifican en cinco categorías en función de sus atributos físicos y su estado de desarrollo, lo que permite una evaluación exhaustiva de su calidad. Particularmente, en el caso de las llamas, los embriones que se extraen del útero suelen encontrarse en la fase de blastocisto eclosionado, presentando una amplia gama de tamaños, lo que se debe a los diferentes momentos en que ovula cada folículo en

las hembras que han sido superestimuladas. Además, se ha demostrado que la sustitución del medio de cultivo puede influir en el ritmo de eclosión de los blastocistos en las llamas, lo que subraya la importancia de las condiciones de cultivo en la calidad de los embriones (Trasorras et al., 2017).

3.2.8. Producción de embriones: ovulación simple y superovulación

Existen dos estrategias básicas para producir embriones para su transferencia: la ovulación simple y la superovulación.

3.2.8.1. Ovulación simple

El método más sencillo consiste en la recolección del embrión tras una única ovulación, sin utilizar ningún método para la producción de embriones. Se puede realizar una ecografía transrectal diaria para comprobar la existencia de un folículo dominante maduro y completamente desarrollado (de entre 7 y 12 mm) en el momento del apareamiento (día 0). La presencia de un CL (es decir, la ovulación) se puede confirmar mediante una ecografía transrectal, que indica la ovulación, el quinto día después del apareamiento, y así poder recoger los embriones como mínimo 7 días después del apareamiento, cuando suelen haber alcanzado la fase de blastocisto expandido (Sumar, 2008). De igual forma, se ha recomendado administrar GnRH inmediatamente después del apareamiento para garantizar la ovulación (Ratto y Adams, 2007).

La tasa de recogida de embriones del útero es subóptima el día 6, variable el día 6.5 o 7, y alcanza su máximo más de 7.5 días después del apareamiento y aunque es habitual recolectar embriones a los 8 días después del apareamiento, es importante tener en cuenta que estos embriones suelen ser bastante delicados debido a su tamaño y al inicio de su elongación (Taylor et al., 2000). Tras el lavado uterino, las donantes pueden recibir prostaglandinas para garantizar la luteólisis y mejorar la receptividad para el siguiente ciclo de monta y recogida, sin embargo, usualmente la luteólisis

se habrá completado en ese momento, incluso sin intervención. Como resultado, el desarrollo folicular ovárico y la capacidad ovulatoria están presentes durante todo el año en alpacas sanas y bien alimentadas (Sumar et al., 2010).

Usando un protocolo de ovulación único, se puede inducir a una donante a ovular cada doce a catorce días. Aproximadamente el 85 % de estos flujos pueden producir un solo embrión y con la técnica de ovulación única continua, se han producido entre 12 y 18 embriones por donante por año (Sumar, 2008).

3.2.8.2. Superovulación

La superovulación es la producción de un número mayor de lo habitual de folículos, generalmente resultante de la administración de gonadotropinas exógenas para procedimientos de fecundación asistida. También denominada ovulación múltiple o hiperestimulación ovárica controlada, se realiza su seguimiento con ecografías transrectales en animales domésticos de producción y cuyo objetivo es obtener más ovocitos para incrementar las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida. Los métodos de superovulación, también se aplican en el CSA (Vaughan et al., 2013). Los tratamientos superestimulatorios en camélidos han sido realizados mediante el uso de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) y Hormona Folículo Estimulante (FSH) durante la fase luteal inducida con GnRH o hCG o creando una fase luteal artificial mediante el uso de progestágenos). Así mismo, las gonadotropinas han sido administradas durante la fase de receptividad sexual. Luego del tratamiento superestimulatorio, las hembras son copuladas seguido de una administración de GnRH o Gonadotropina Coriónica humana (hCG) para inducir o reforzar la ovulación (Ratto, et al., 2015).

Tanto eCG y FSH se están utilizando en la actualidad como agentes para estimular la ovulación múltiple, se reportó que el uso de 500 UI de eCG no produjo superovulación ovárica después de la inhibición del folículo dominante con benzoato de estradiol (BE) y aplicación vaginal de progesterona (CIDR) (Taylor et al., 2000). El tratamiento con 1000 o 1500 UI de eCG es eficaz para la inducción del crecimiento de folículos múltiples en llamas, aunque la administración de 1500 UI produce un mayor número de folículos (Trasorras et. al., 2009).

La administración de altas dosis de eCG puede ser beneficiosa para llevar a cabo la aspiración del folículo para obtener ovocitos para su uso en técnicas de reproducción asistida tales como FIV e inyección intraplasmática de espermatozoides (ICSI). Por otro lado, cuando el objetivo es la obtención de embriones a través de lavado uterino, su uso podría ser perjudicial debido al posible desplazamiento de la bolsa ovárica, debido al gran tamaño del ovario superovulado (Vaughan, 2007). Las técnicas están produciendo un promedio de 2.5-3 embriones por descarga (hasta 14 embriones por hembra) (Adams y Ratto, 2001). El número de estudios sobre la superovulación y la TE en los CSA se mantiene baja y el perfeccionamiento de los protocolos existentes continúa para identificar un programa de superovulación que produce sistemáticamente un número aceptable de embriones transferibles, y se asocia con un riesgo mínimo de la infertilidad de la hembra donante elite (Vaughan et. al., 2013).

3.2.9. Colecta de embriones

La reproducción asistida en animales implica la recogida de embriones en distintas fases de desarrollo, y la selección de un día concreto viene determinada por varias circunstancias, no obstante, los procesos que rigen el desarrollo embrionario en el cuerpo uterino de los camélidos siguen siendo desconocidos (Bianchi, 2012). Es posible que la zona pelúcida deba eclosionar para

permitir el paso del embrión a través de la unión uterotubal, algunas investigaciones han demostrado que los embriones de camélidos migran a la cavidad uterina entre 5 y 6 días después de la ovulación, ya sea tras la eclosión o durante la fase inicial de blastocisto, siendo los días 7 u 8, tras la fecundación, críticos para la recogida (Vivanco et al., 2003).

De otro modo, el método no quirúrgico de recogida de embriones es el más utilizado debido a su naturaleza no invasiva y a la falta de necesidad de equipos especializados, previniendo complicaciones derivadas de adherencias y cicatrices; siguiendo esta línea, la ecografía es una técnica no invasiva que se utiliza para controlar la actividad folicular y diagnosticar la gestación (Vaughan et al., 2011). En tanto, la canulación cervical es relativamente sencilla durante las fases caracterizadas por altos niveles de estrógeno y progesterona, gracias a las características estructurales del cérvix, que consiste en tres pliegues anulares o espirales desiguales (Sumar, 2013).

Diferencias en el desarrollo embrionario

Los embriones obtenidos después de 7.5 días después del empadre miden típicamente entre 0.5 y 1.0 mm y suelen estar en la fase de blastocisto expandido (Tibary, 2001). Según Vásquez et al., (2007), los embriones de alpaca en el día 8 después del lavado tenían un diámetro medio de 0.53 ± 0.15 mm, mas, es importante señalar que puede haber una variación significativa en el tamaño de los embriones recuperados de diferentes donantes, por lo que se sugiere realizar la transferencia embrionaria a los 7.5 días en el cuerno uterino del mismo lado que la ovulación (Picha et al, 2013a). Pese a ello, se necesitan más estudios para descubrir cómo afecta el lado de la transferencia a la tasa de la gestación.

Día 7: En este punto, los embriones se encuentran en la primera fase de crecimiento, a menudo en la fase de blastocisto temprano, encontrando, a los embriones aún en un estado incompleto de desarrollo; lo que plantear retos en términos de identificación y manipulación (Taylor et al., 2000; Zampini et al., 2021).

Día 8: Para este día, los embriones han progresado en su crecimiento y es más probable que hayan alcanzado el estadio de blastocisto colapsado y día 9 en blastocisto elongado, por tal motivo, los embriones presentan un mayor tamaño y una disposición celular más definida, lo que facilita su reconocimiento y manipulación (Vásquez et al., 2007).

Recomendaciones para la colecta de embriones

Día 7: La colecta de embriones en el día 7 puede requerir más experiencia y destreza, ya que los embriones son diminutos y menos perceptibles en este periodo de desarrollo, como resultado, es aconsejable tener un cuidado meticuloso y manipular los embriones con delicadeza durante toda la operación para evitar posibles daños (Carnero et al., 2011).

Día 8: La recogida de embriones en el día 8 de desarrollo puede ofrecer ventajas en términos de facilidad y eficacia, ya que los embriones son más grandes y más fáciles de distinguir, a pesar de ello, es crucial ejecutar la técnica con meticulosidad para evitar cualquier daño a los embriones durante la extracción (Rossetto et al., 2022).

Viabilidad de los embriones

Día 7: A pesar de encontrarse en las primeras fases de desarrollo, los embriones del día 7 poseen la capacidad de progresar y desarrollarse con éxito si se transfieren a una hembra receptora competente (Oyuela y Jiménez, 2010).

Día 8: Los embriones que han alcanzado el día 8 se encuentran más desarrollados y tienen más probabilidades de poder sobrevivir y crecer con éxito dentro de una hembra receptora tras ser transferidos (Taylor et al., 2000).

3.2.10. Transferencia de embriones

El procedimiento pretende mejorar la tasa reproductiva y optimizar la calidad genética de la progenie (Vaughan, 2012), y consiste en colocar embriones cuidadosamente seleccionados y de calidad superior en los cuernos uterinos de alpacas receptoras (Palomino et al., 2020), realizándose mediante procedimientos invasivos como la laparotomía o la laparoscopia, o métodos no invasivos como el lavado transcervical (Huanca et al., 2006).

Con este método, en promedio, las hembras sometidas a superestimulación ovárica produjeron entre 2.5 y 3 embriones, lo que supone una producción potencial de unos 21 embriones al año a partir de una sola donante (Huanca et al., 2006).

Los embriones en estadio de mórula y los blastocistos agrandados se recogen mediante lavado uterino no quirúrgico a partir del séptimo día tras la cópula (Campbell et al., 2017), en cambio, Cervantes et al., (2011) demostraron que las alpacas que han sido superestimuladas con eCG, puede lograrse una recuperación embrionaria no quirúrgica a partir del día 6 después de la cópula.

En el estudio de Huanca (2005) se utilizó un método no quirúrgico al séptimo día de la cópula, recuperando con éxito, en promedio, 1.4 embriones en fase de blastocisto por alpaca. En el pasado, cada hembra tenía el potencial de producir un máximo de 7.5 folículos superovulados, se cree que esto se debe a que los embriones de alpaca tienen una mayor tasa de crecimiento en comparación con otros rumiantes, sugiriendo que son muy delicados cuando se separan de la zona pelúcida, ya

que se encuentran en etapas más avanzadas de desarrollo después de ser lavados (Campbell et al., 2017).

Según el estudio realizado por Huanca et al. (2006), el restablecimiento del tracto reproductivo en las donantes se logró plenamente tres semanas después del lavado uterino. A continuación, demostraron una tasa de gestación del 40% tras un único procedimiento, lo que sugiere que las donantes se recuperan rápidamente y pueden reanudar sus actividades regulares de apareamiento un mes después de haber sido estimuladas para producir más embriones.

Mientras tanto, otras investigaciones han demostrado que existe una correlación entre la ubicación del cuerpo lúteo y el cuerno uterino, que se alinean con el lugar de la ovulación (ipsilateral), y el lugar donde se implanta el embrión (Palomino, 2000); este hallazgo es apoyado por Carnero et al. (2011), quienes encontraron que la transferencia de embriones al mismo lado que el cuerpo lúteo, resultó en una mayor tasa de concepción exitosa, evaluada treinta días después de la transferencia.

Contrastando esta información, Palomino (2000) destaca que el éxito de una transferencia embrionaria depende de factores como la calidad embrionaria, la sincronización entre el embrión y la hembra a la que se transfiere, el método utilizado y el lugar de implantación, mientras que, Vaughan et al. (2013) sugieren que la tasa de éxito de la transferencia será menor si la receptora tiene más de 15 años o una mala condición corporal (puntuación inferior a 2 sobre 5), traduciéndose en la baja proporción de crías nacidas.

3.2.11. Diagnóstico de gestación mediante ecografía

Es un instrumento muy importante en el campo de la reproducción animal, particularmente después del proceso de transferencia embrionaria. La ecografía permite observar y evaluar el crecimiento embrionario dentro del útero de la hembra receptora de los embriones (Vásquez et al., 2011), es

por eso que se utiliza un ecógrafo diseñado para animales medianos y grandes, utilizando una sonda o transductor con la frecuencia necesaria para penetrar eficazmente en los tejidos y generar imágenes nítidas del útero de la llama (Silva et al., 2014).

Según Pacheco et al. (2021) tasa de éxito de la transferencia de embriones se evalúa mediante ecografía utilizando un ecógrafo portátil equipado con un transductor lineal de 7 MHz veinte días después de la transferencia de embriones, confirmando la gestación temprana mediante la visualización de la vesícula embrionaria y el cuerpo lúteo; mientras que, la tasa de natalidad se determina como la relación entre el número de crías nacidas durante un período especifico en relación con el tamaño total de la población de llamas durante ese mismo período.

La llama se coloca en una posición óptima para permitir la ecografía transrectal, esto puede requerir la contención segura del animal y, a veces, el uso de un anestésico moderado para ayudar en el proceso (Ábalos et al., 2022). El útero de la llama suele estar situado en la parte baja del vientre, por lo que es el objetivo de la búsqueda en esa zona, una vez localizado, se comprueba la presencia de estructuras embrionarias en su interior. La ecografía puede identificar la presencia de la vesícula embrionaria de la llama a partir de unos 20-25 días de gestación (Barraza, 2019).

Para diagnosticar la gestación en las hembras que se han sometido a una transferencia embrionaria, se recomienda utilizar un ecógrafo en el día 30, permitiendo observar claramente la vesícula embrionaria y confirmar la gestación, pero, si no hay vesícula embrionaria, se considera que está vacía y se puede realizar un segundo intento (Tibary et al., 2007).

Interpretación de los resultados

Gestación positiva: Si se detecta la presencia de una vesícula embrionaria, se confirma la gestación positiva.

Gestación negativa: Si no se detecta la presencia de una vesícula embrionaria, se considera que la llama no está gestando (Pacheco et al., 2020)**.**

Seguimiento:

En algunos casos, puede ser necesario repetir el examen ecográfico después de un tiempo para confirmar la progresión de la gestación y asegurarse de que el embrión esté desarrollándose con normalidad, generalmente se evalúa a los 60 días, después de pasado el periodo crítico en el que ocurre a mayor cantidad de mortalidad embrionaria (Pacheco et al., 2020)**.**

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Ubicación y periodo experimental

El trabajo de investigación se ejecutó en tres lugares, primero en el Centro Experimental (CICAS) "LA RAYA", de la Facultad de Agronomía y Zootecnia (FAZ), de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC); a una altitud de 4200 msnm, situado en el distrito de Marangani, Provincia de Canchis y Departamento del Cusco.



Figura 1. Instalaciones del Centro Experimental de Camélidos Sudamericanos CICAS – La raya

Se realizó también en La Estación IVITA-Maranganí está ubicada en el valle del Vilcanota, provincia de Canchis, departamento del Cusco. Las oficinas administrativas y laboratorios están ubicados en el poblado de Maranganí (3,550 msnm) a 150 km del Cusco (Carretera Cusco-Puno). Los campos experimentales están ubicados en el Centro Experimental UNSAAC-La RAYA a

4,335 msnm (limite Cusco-Puno) con una extensión aproximada de 600 has. El fundo San Marcos con una extensión de 8 has.



Figura 2. Instalaciones de la Estación IVITA-Maranganí

Se ejecutó también en el Distrito de Pichigua que está ubicada al norte de la capital de la provincia de Espinar – Yauri, Región Cusco. Geográficamente el distrito de Pichigua está formado por un extenso altiplano con pequeños cerros y colinas, rodeadas por altas montañas. Se halla comprendido entre:

- Al norte con la Provincia de Canas
- Por el sur con el Distrito de Yauri
- Por el oeste con el distrito de Coporaque
- Por el este, con el Distrito de Alto Pichigua.



Figura 3. Mapa de ubicación del Distrito de Pichigua – Cusco

4.2. Materiales y equipos

4.2.1. Material biológico

Para este trabajo de investigación, se trabajó con 46 llamas hembras fértiles de 5 a 8 años de edad aproximadamente designados como donadoras de embriones donde fueron divididos en dos grupos de 20 y 26 hembras para los distintos grupos de colecta que fueron el séptimo y octavo día respectivamente, para la colecta del séptimo día las hembras donadoras fueron seleccionadas del hato de llamas del Centro Experimental (CICAS) La Raya, La estación IVITA – Marangani, y para el grupo de colecta del octavo día fueron seleccionadas en el Distrito de Pichigua.

4.2.2. Materiales de campo

- Gel ecográfico
- Mameluco
- Cuaderno de campo

- Botas de jebe
- Guantes de látex
- Pintura en Spray
- Sogas
- Bolígrafos
- Cámara fotográfica
- Tablero
- Plumones
- Capucha para tapar los animales

4.2.3. Materiales de Experimentación

a) Hormonas y medios

- Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH)
- Hormona Gonadotropina Coriónica equina (eCG)
- Prostaglandina F2α
- Medio de mantenimiento Holding (BSA – Albumina sérica Bovina)
- Medio de Lavado (PBS - Fosfato buffer salina)

b) Instrumentos para colecta y empajillado de embriones

- Sonda Foley de látex y silicona de doble Vía (N° 16 y N° 18)
- Placas Petri
- Placas multipocillos con tapa (5 pocillos)
- Filtro EM CON para colecta de embriones
- Mandril
- Pinza de agarre

- Agua con Jabón
- Jeringas desechables de 3, 5, y 10 ml
- Jeringas de 60 y 100 ml
- Jeringa sin embolo de 20 ml
- Jeringas de tuberculina de 1 ml
- Guantes de palpación
- Gel ecográfico
- Alcohol 70°
- Jabón carbólico diluido
- Algodón
- Guantes de látex
- Pipeta de aspiración de embriones (STERIPETTE)
- Papel toalla
- Camisetas sanitarias
- Pajillas 0.25 ml para embriones
- Funda TRANSFIT para transferencia embrionaria
- Aplicador de embriones metálico

c) Anestésicos y tranquilizantes

- Lidocaína 5%
- Xilacina 2%

4.2.4. Equipos

- Ecógrafo portátil DRAMISKI con transductor lineal de 7 MHz.
- Estereoscopio EUROMEX

- Baño María
- Platina Térmica
- Funda térmica
- Cámara fotográfica estereoscópica digital

4.3. Descripción de las actividades y métodos

Para realizar el trabajo de investigación se inició con la selección y clasificación de las llamas hembras del Centro Experimental (CICAS) LA RAYA, La estación IVITA – Marangani y el Distrito de Pichigua en Donadoras y Receptoras clasificados para los distintos grupos de colecta que son el séptimo y octavo día. El trabajo de investigación tuvo una duración de 5 meses dando el inicio el trabajo en diciembre de 2024 y finalizando en abril de 2025.

4.3.1. Donadoras

Se trabajó con 46 Llamas donadoras de embriones con una edad de 5 a 8 años de edad aproximadamente divididas en dos grupos de 20 y 26 hembras para los distintos grupos de colecta que fueron el séptimo y octavo día respectivamente. Para la colecta del séptimo día las hembras donadoras fueron seleccionadas del hato de llamas del Centro Experimental (CICAS) La Raya y de la estación IVITA – Marangani. Para el grupo de colecta del octavo día fueron seleccionadas en el Distrito de Pichigua. Seleccionadas según sus características fenotípicas raciales de la raza, las hembras seleccionadas tuvieron una condición corporal de 2.5 a 3.5 en una escala de 0 a 5, con historial reproductivo comprobado de que tuvo cría o tenía cría en pie. Las hembras seleccionadas tuvieron amplitud de pelvis para efectuar la recto palpación durante el lavado. Las hembras seleccionadas fueron clínicamente sanas.

4.3.2. Receptoras

Se trabajó con un total de 74 llamas hembras como receptoras con una edad comprendida entre 5 y 8 años de edad aproximadamente seleccionadas en cantidad de 20 receptoras como mínimo para el séptimo día, siendo mayoritariamente para el octavo día en cantidad de 45 receptoras como mínimo, dependiente de cuantas donadoras se tenía y también por el hecho de que en este día se preveía que se tendría mayoritariamente los embriones frente al séptimo día donde se tuvo minoritariamente. Para la colecta del séptimo día las hembras donadoras fueron seleccionadas del hato de llamas del Centro Experimental (CICAS) La Raya y de la estación IVITA – Marangani. Para el grupo de colecta del octavo día fueron seleccionadas del Distrito de Pichigua. Hembras seleccionadas con historial reproductivo comprobado (cría en pie) y un descanso mínimo de descanso postparto de 15 días. Las hembras seleccionadas tuvieron amplitud de pelvis para efectuar la recto palpación durante el lavado. Las hembras seleccionadas fueron clínicamente sanas.

4.3.3. Protocolo de Superovulación de las donadoras

Se utilizó el protocolo evaluado por Pacheco et al. (2020), el cual inicia con la selección de las hembras mediante ecografía, seleccionando animales con presencia de un folículo preovulatorio con diámetro >7 mm. El protocolo de superovulación de las donadoras fue de la siguiente manera:

- Día 1: Se aplicó 1.5 ml de GnRH (Conceptase®), para inducir ovulación, la cual se confirmó mediante ecografía.

- Día 3: Se aplicó eCG (Novormon®), 3 ml (600 UI), para producir la superovulación en el inicio de la nueva onda folicular.

- Día 6: Se aplicó 1.5 ml de PGF2α (Lutaprost®), para causar la luteólisis del cuerpo lúteo formado después de la primera inducción a la ovulación en el Día 1.

- Días 9 y 10: Se realizó la monta natural (MN) utilizando machos seleccionados del plantel del Centro Experimental (CICAS) La Raya, la estación IVITA – Marangani y el Distrito de Pichigua, donde se seleccionaron machos de buena condición corporal, sanidad reproductiva comprobada y fertilidad probada y se empadró a las hembras donadoras con machos de la propia raza, Ch'aku y Ch'aku; K'ara y K'ara considerando el mismo macho con la misma hembra durante los dos días de empadre y se aplicó una dosis de 1.5 ml de GnRH.

- Día 10: Se hizo una segunda monta natural (MN) de las donadoras con los mismos machos del plantel para desencadenar la liberación de LH y asegurar la tasa de ovulación y con ello obtener la mayor cantidad de embriones.

También, se seleccionó a las receptoras mediante ecografía para ver la onda folicular y verificar la presencia de un folículo preovulatorio para la sincronización con las donadoras y se les administró una dosis de 1.5 ml de GnRH a las receptoras seleccionadas se realizó lo mismo para los dos grupos de lavado.

- Día 17 y 18: Se realizó el lavado uterino y recuperación de embriones de acuerdo a los grupos designados para el lavado del séptimo y octavo día. Donde se aplicó 2 ml de PGF2α una vez finalizado el lavado para causar la luteólisis de los cuerpos lúteos formados por la superovulación y evitar los problemas reproductivos posteriores (como persistencia de cuerpo lúteo o metritis relacionada a un estado de seudo-gestación).

- Día 51: Se realizó la ecografía (30 días después de la transferencia de embriones) a los animales que se les hizo la transferencia para el diagnóstico de preñez.

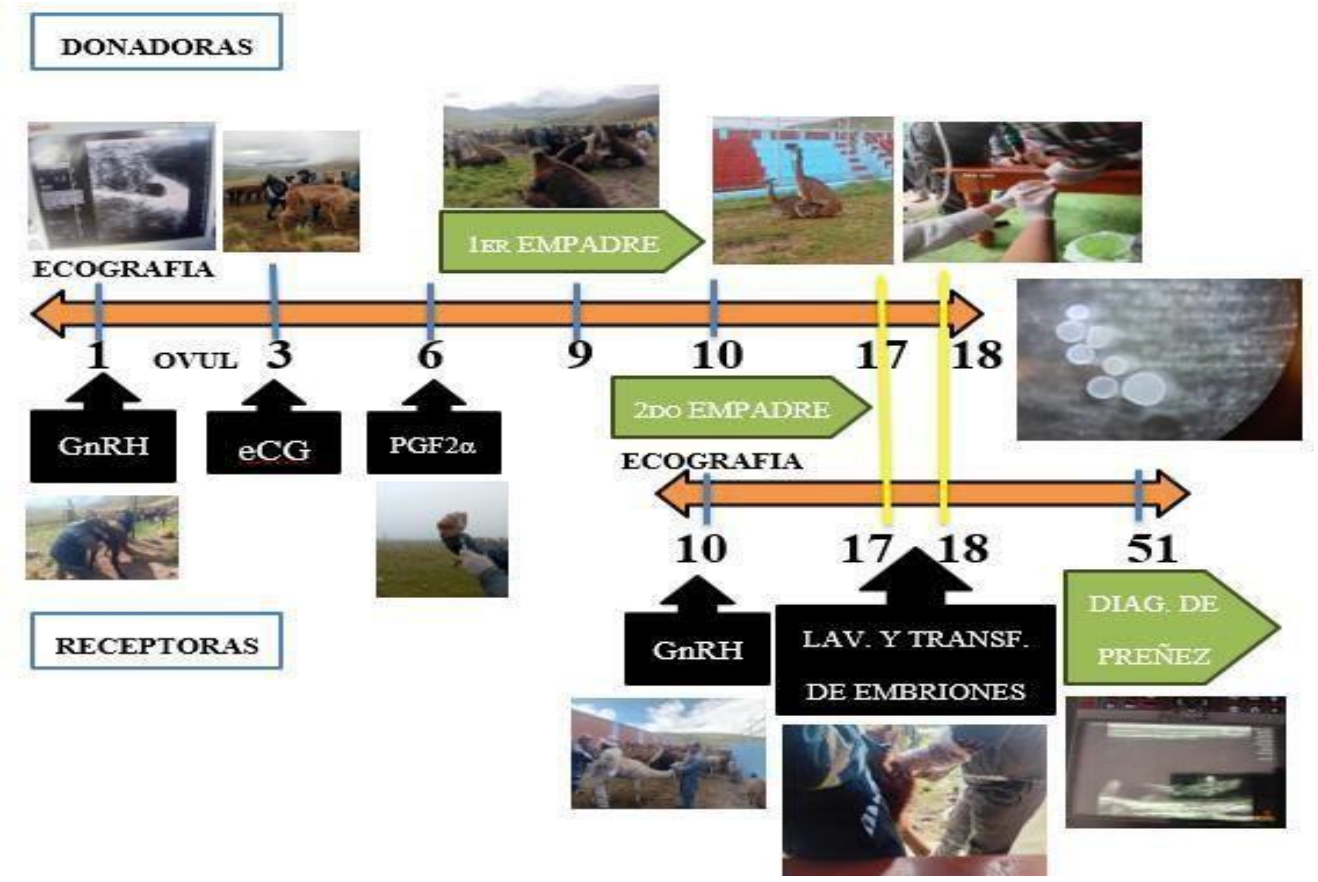


FIGURA 4. Protocolo de superovulación de donadoras y sincronización de receptoras

4.3.4. Recuperación de Embriones día 7 y 8

Para la recuperación de embriones de las donadoras se llevó a cabo no quirúrgicamente los días 7 y 8 post monta donde se inicia colocando la hembra en una mesa de manejo donde efectuamos la sujeción en posición cúbito - esternal con los miembros debajo del abdomen amarrados con sogas pequeñas; colocamos gel en el recto y con el ecógrafo DRAMINSKI en la pantalla precisamos la cantidad de cuerpos lúteos presentes en el ovario para tener una idea de cuantos embriones se puede colectar de la donadora.

Para la colecta se limpia y desinfecta la zona del periné y vulva con jabón diluido, luego se seca con papel toalla, lubricamos el guante obstétrico con jabón diluido y procedemos a evacuar todo

el contenido rectal se utiliza la sonda FOLEY de doble vía (N°16 o N°18 situacionalmente al animal) introduciéndole un mandril a la sonda se le sujeta con una pinza de agarre que servirá para darle rigidez a la sonda y no regrese durante el proceso de pasado de cérvix mediante la recto palpación, pasando el cérvix mediante la recto palpación llegando a los cuernos uterinos una vez dentro se retira el mandril y se insufla el balón de la sonda con 13 - 15 ml de aire con una jeringa sin embolo de látex de 20 ml para fijar el balón en el tercio superior de la cérvix. Luego se procede con el lavado introduciendo el medio de lavado una solución a base de PBS+BSA mantenido a 37°C en un baño maría, la aplicación del medio de lavado se realizó utilizando un sistema cerrado o también llamado tubería en "Y", el cual se conecta a la sonda Foley para acceder al interior del útero. Se utilizó 450 ml de medio de lavado por animal, donde se realizó 3 lavados por animal, utilizando 150 ml por cada lavado; abrimos la llave que va permitir el paso del medio al filtro EM CON, cerramos la llave, el medio que queda en el filtro se enjuaga con un medio de lavado para asegurar que el embrión no se pierda en el filtro y es vaciado a una placa Petri para la búsqueda de embriones con la ayuda de un estereoscopio, y una vez ubicado el embrión se transfiere con una pipeta de aspiración (STERIPETTE) a una placa multi-pocillos que contiene medio de mantenimiento Holding, todo ello mantenido a 37 °C encima de una platina térmica donde se mantiene la calidad de los embriones para la transferencia hacia las receptoras, todo ello fue registrado de acuerdo a la donadora lavada, forma del embrión obtenido y total de embriones colectados.

4.3.5. Evaluación morfométrica embrionaria

La morfología de los embriones de llama es variable, debido a ciertos factores como el día de colecta, la cantidad de embriones colectados, el grado de desarrollo que presenta cada embrión

individualmente. Donde actualmente no existe una forma de evaluación definida, es por este motivo que se planteó una nueva forma de evaluación y clasificación de los embriones:

1. De acuerdo a la morfología, los embriones recuperados al séptimo y octavo día post monta fueron clasificados en cuatro grupos según su forma: A: Esféricos (redondos), B: Irregulares (perdida de esfericidad), C: Alargados (elongados) e D: Invaginados (pérdida de esfericidad avanzada y elongación alta, colapso).



Figura 5. Clasificación de los embriones según su morfología en cuatro grados

2. Por la morfometría se describió los embriones por las medidas como: diámetro promedio (diámetro 1 x diámetro 2, descritas en µm), área (área bidimensional, descrita en µm²). Para lo cual, se fotografió los embriones mediante una cámara fotográfica estereoscópica digital en formato TIF, que fue previamente calibrada con una regla milimétrica que acompañó cada fotografía, de manera que se realizó la medición de la morfometría posteriormente con el software j – image®.

   Para el análisis de la relación entre el tamaño promedio de los embriones con la preñez con fines prácticos se utilizó de referencia el diámetro interno de la pipeta de aspiración que es

de 1000 micras de manera estándar y se dividió en dos grupos a los embriones (> < 1000 micras), también para el caso de embriones de mayor tamaño y en el intento de no dañarlos con el uso de pipetas de solo 1000 micras, se utilizó una pajilla de 0.25 que presenta un diámetro interno de 1500 micras.

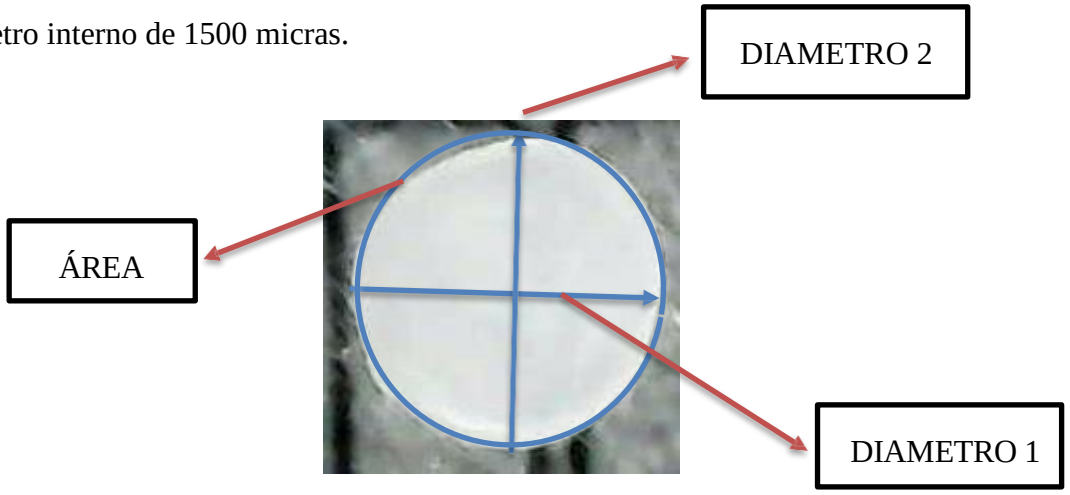


Figura 6. Mediciones morfométricas realizada a los embriones

El software J-Image®, de acceso gratuito y ampliamente validado, fue utilizado para las mediciones morfométricas de los embriones. Para determinar el diámetro, se cargó las imágenes en el programa y se procedió a calibrar individualmente cada imagen utilizando como referencia la distancia conocida entre dos líneas milimétricas consecutivas de una regla milimétrica incorporada en el fondo de cada fotografía (equivalente a 1000 µm). Las mediciones se realizaron empleando la herramienta **"líneas a mano alzada"** para los diámetros 1 y 2. De forma similar, el área embrionaria fue determinada mediante la herramienta **"selecciones a mano alzada"**, siguiendo el mismo procedimiento de calibración, rodeando la silueta completa de cada embrión, el resultado se obtuvo en mm^2.

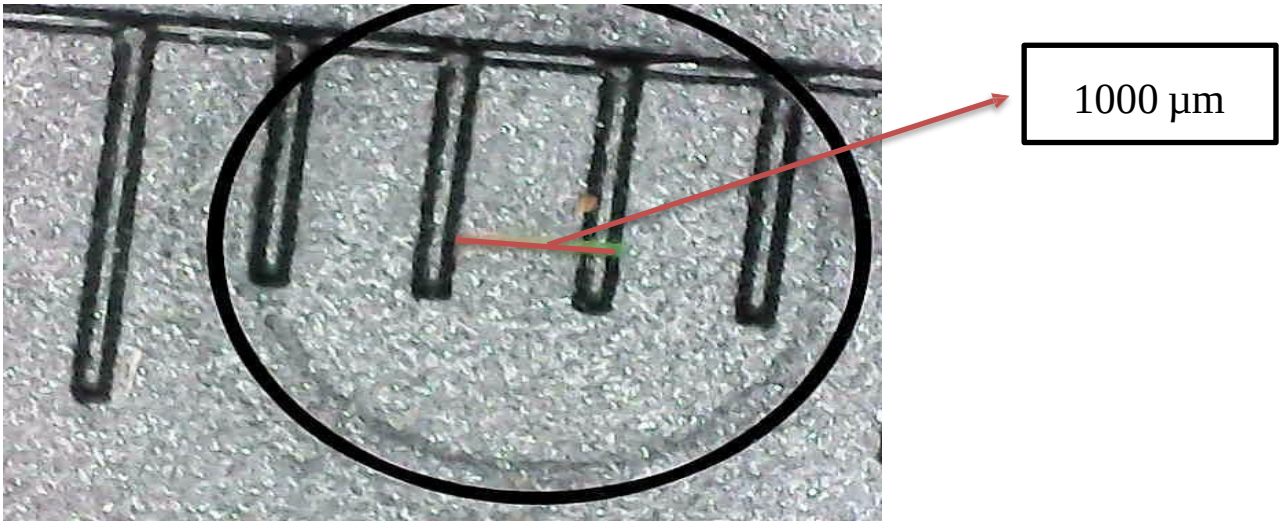


Figura 7. Regla milimétrica utilizada de trasfondo con una distancia de 1000 µm entre dos líneas consecutivas

4.3.6. Preparación de receptoras

Las receptoras fueron sincronizadas para la transferencia de embriones 7 y 8 días antes del día del lavado respectivamente según el grupo que le correspondía. Para la elección de las receptoras se evaluó mediante una ecografía y determinación de la presencia de un folículo preovulatorio >7mm, luego se le suministró una dosis de 1.5 ml de GnRH.

Una vez finalizada la colecta a la hembra donadora, a las receptoras se las realizó la ecografía para observar la presencia de un cuerpo lúteo en el ovario, en tanto se confirma la presencia de un cuerpo lúteo se considera apto a la receptora y se le transfiere un embrión (se utilizó un embrión por receptora y se registró la forma del embrión transferida). Las receptoras que no tuvieron presencia de un cuerpo lúteo no fueron utilizadas como receptoras y se les retiro del grupo.

Todas las hembras receptoras fueron sincronizadas para recibir al embrión el día 7 post inducción de ovulación, de manera que los embriones colectados el día 7, se transfirieron en receptoras también de día 7, mientras que los embriones colectados el día 8, fueron transferidos en receptoras

con 7 días de sincronización; esta asincronía para los embriones del día 8 se realizó siguiendo la recomendación de Trasorras et al., (2012), quienes indican que es más conveniente transferir diferidamente los embriones de día 8 en receptoras de día 7, lo cual amplia en 24 horas el tiempo disponible para que ocurra el proceso de reconocimiento embrio-maternal antes de que se dispare el mecanismo de luteólisis, el cual ocurre generalmente el día 9 post inducción de ovulación.

4.3.7. Transferencia de embriones

- **Empajillado de embriones**

Para el empajillado el embrión que se encuentra en el medio de mantenimiento; se colocó en una pajilla de 0.25 mL, con una pipeta de aspiración de embriones, donde primero se carga el medio, aire, medio más embrión, aire y medio.

- **Cargado del aplicador de transferencia de embriones**

La pajilla cargada con embrión se introduce en el aplicador de embriones, luego se coloca la funda TRANSFIT fijándolo en la punta metálica rompiendo la parte inferior del transfit contra el aplicador y finalmente se coloca la camiseta sanitaria manteniéndose en temperatura con una funda térmica a 37 °C.

- **Transferencia de embriones viables a las hembras receptoras**

A las hembras receptoras sincronizadas 7 y 8 días antes del día del lavado según el grupo de lavado, se les transfirió el embrión recuperado considerado apto, registrándose la forma y tamaño.

El aplicador de embriones cargado con el embrión en una pajilla de 0.25 mL se deposita en el primer tercio anterior del cuerno uterino izquierdo pasando el cérvix, guiado por el tacto mediante

la recto palpación, finalmente se presiona el embolo del aplicador para depositar el embrión, terminando la transferencia, la hembra fue identificada mediante una cinta de identificación en la oreja de color naranja para el diagnóstico de preñez.

4.3.8. Diagnóstico de gestación post transferencia

El diagnóstico de gestación se realizó a los 30 días pos-transferencia usando un ecógrafo portátil con un transductor lineal de 7 MHz donde se observó la presencia de una vesícula embrionaria para confirmar la gestación respectiva y en caso de no existir una vesícula embrionaria se consideró como vacía.

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó medidas de tendencia central (promedio, desviación estándar) para la morfometría embrionaria.

Para la evaluación de los resultados de la fertilidad se usó una prueba de chi - cuadrado χ^2, mediante el software estadístico SPSS-25.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Donde:

- $\boldsymbol{\chi^2}$ = estadístico chi cuadrado
- $\mathbf{O_i}$ = frecuencia observada en cada celda
- $\mathbf{E_i}$ = frecuencia esperada en cada celda
- La sumatoria se realiza sobre todas las celdas de la tabla de contingencia.

Para el análisis comparativo de las medias del diámetro y del área de los embriones colectados en los días séptimo y octavo post-monta, se aplicó la prueba **t** de Student para muestras independientes, dado que esta herramienta estadística permite contrastar diferencias entre dos grupos o condiciones experimentales, evaluando si las variaciones observadas son estadísticamente significativas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación de la respuesta fisiológica en donadoras y receptoras en el programa de transferencia embrionaria

Un total de 46 llamas fueron sometidas a un protocolo de superovulación y distribuidas en dos grupos para la colecta embrionaria: 20 hembras fueron colectadas al séptimo día post monta y 26 al octavo día. Del total, 28 animales (60.86 %) respondieron favorablemente al tratamiento superovulatorio. Este porcentaje es comparable a lo descrito por Bourke et al. (1995), Bravo et al. (1995) y Olaguivel (2022). No obstante, supera ligeramente el valor reportado por Ratto et al. (2005) (58 %) bajo protocolos similares, lo cual podría atribuirse a un mejor manejo pretratamiento y selección sanitaria de las donadoras. Las diferencias individuales, como edad y estado fisiológico, han sido señaladas como factores determinantes en esta variabilidad (Bourke et al., 1995). Lográndose la recuperación de embriones en 11 hembras (55%) del grupo del día 7 y en 17 hembras (65.38%) del grupo del día 8, valores comparables a los descritos por Vaughan et al. (2004) (57 % y 63 %, respectivamente) y por Tibary y Anouassi (1997) (60–66 %). La ligera ventaja observada en este trabajo para el octavo día respalda la viabilidad de realizar colectas en ambas fechas, aunque su elección debería responder a los fines del programa reproductivo.

Asimismo, 7 llamas (15.21%) presentaron una respuesta fisiológica parcial, evidenciando estructuras luteales de baja funcionalidad (CL cavitarios o escaso número de CL), Endometritis o condiciones similares que impidieron la recuperación embrionaria, pese a que se realizó el lavado correspondiente (3 y 4 animales para los días 7 y 8, respectivamente), coincide con lo indicado por Fernández-Baca (1993). Por otro lado, 11 hembras (23.91%) fueron descartadas por ausencia de respuesta al tratamiento, caracterizada por la presencia de folículos preovulatorios <7 mm al momento de la monta, escaso comportamiento de receptividad y, posteriormente, durante el

lavado, presencia predominante de folículos inmaduros o un solo cuerpo lúteo funcional también algunos presentaron obliteración del canal cervical, lo cual no permitió la recuperación de embriones, puesto que esta condición hace imposible el acceso al útero vía canal cervical. Estas condiciones reproductivas también indicaron falla en la ovulación y fueron motivo de exclusión. (6 y 5 animales para los días 7 y 8, respectivamente), similar al 25 % informado por Ratto et al. (2005), probablemente asociado a fallas hormonales o asincronías foliculares.

En cuanto a las llamas receptoras, se sincronizaron 128 llamas utilizando GnRH, distribuidas en 30 y 98 animales para los grupos de transferencia del séptimo y octavo día, respectivamente. De ellas, 74 (57.81%) presentaron un cuerpo lúteo funcional al momento de la transferencia, determinado ecográficamente, y fueron aptas para recibir embriones: 20 receptoras (66.66%) para el día 7 y 54 (55.10%) para el día 8, cifra cercana al 60 % reportado por Zampini et al. (2019).

Las restantes 54 llamas (42.18%) fueron descartadas para la transferencia, 10 (33.33%) del grupo del séptimo día y 44 (44.89%) del octavo. La principal causa de descarte fue la ausencia de cuerpo lúteo, indicativo de que no hubo ovulación efectiva. En menor medida, también se identificaron casos de endometritis, quistes foliculares, obliteración del canal cervical y presencia de folículos preovulatorios, fueron ligeramente mayores que los del 35 % descrito por Trasorras et al. (2009), lo que refuerza la importancia de la ecografía como herramienta diagnóstica para optimizar la eficiencia reproductiva.

Tabla 1 *Resultados de la respuesta superovulatoria y sincronización de receptoras según el día de colecta embrionaria*

Categoría	Total (n)	colecta al 7 día	colecta al 8 día	Observaciones
Hembras superovuladas	46	20	26	-
Donadoras con recuperación de embriones	28 (60.86%)	11 (55%)	17 (65.38%)	-
DL sin recuperar embriones	7 (15.21%)	3 (15%)	4 (15.38%)	CLC, EM
Donadoras rechazadas	11 (23.91%)	6 (30%)	5 (19.23%)	OCC, FPO, CLC
Receptoras asignadas	128	30	98	-
Receptoras transferidas	74 (57.81%)	20 (66.66%)	54 (55.10%)	-
Receptoras rechazadas	54 (42.18%)	10 (33.33%)	44 (44.89%)	EM, OCC, QF, AO

FPO: folículo preovulatorio; **QF:** quiste folicular; **CLC**: cuerpo lúteo cavitario; **EM**: Endometritis; **OCC**: Obliteración del canal cervical**; AO:** Anovulación

5.2. Evaluación de la morfometría embrionaria de embriones colectados en el séptimo y octavo día para el objetivo N° 1.

5.2.1. Evaluación según la morfología de los embriones clasificados en cuatros grupos del séptimo y octavo día.

Respecto al análisis de la morfología embrionaria donde esta evaluación aún no está bien definida por lo que se plantea una nueva forma de evaluación, donde algunos autores como Sumar(2013) y Pacheco (2016) utilizan la clasificación de embriones bovinos de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS), pero considero que la clasificación de dromedario es más

adecuada debido a la similitud de los blastocistos y la mayor cercanía filogenética con los camélidos sudamericanos, lo cual fue descrito por Tibary y Anouassi (1997).

Según los resultados presentados en la Tabla 2, se obtuvieron 35 y 58 embriones tras el lavado uterino realizado al séptimo y octavo día post monta, respectivamente. En el grupo del séptimo día, el 82.85% (n=29) de los embriones presentaron morfología esférica, porcentaje superior al 40 % informado por Trasorras et al. (2017) en un total de 20 embriones colectados. Este incremento podría deberse a una mejor sincronización donadora–receptora o a un protocolo superovulatorio más estable. Mientras que no se registraron embriones alargados; un 8.57 % (n=3) fueron clasificados como irregulares y otro 8.57 % (n=3) como invaginados. En contraste, en el grupo del octavo día, solo el 29.31 % (n=17) fueron esféricos, el 5.17 % (n=3) alargados, el 51.72 % (n=30) irregulares en línea con los hallazgos de Tibary y Anouassi (1997) en dromedarios, lo que refuerza la hipótesis de que la irregularidad morfológica en estadios avanzados no implica necesariamente menor viabilidad (Landeo et al., 2022) y el 13.79 % (n=8) invaginados.

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas ($p < 0.05$) en la distribución morfológica de los embriones entre ambos grupos, con predominancia de la forma esférica en el séptimo día y de la forma irregular en el octavo día. Estos resultados sugieren que, conforme avanza el desarrollo embrionario, tiende a perderse la esfericidad inicial, dando lugar a formas más irregulares o invaginadas, lo cual estaría asociado a que los embriones están en proceso de elongación. La variabilidad morfológica observada indica que el día de colecta influye significativamente en la forma embrionaria, siendo más homogénea y conservada en etapas tempranas.

Tabla 2 *Resultados de la clasificación morfológica de los embriones colectados al séptimo y octavo día.*

Categorización	Colecta al 7 día		Colecta al 8 día		P-valué
	N	%	N	%	
Esférico	29	82.85%	17	29.31%	p < 0.001
Alargado	0	0	3	5.17%	
Irregular	3	8.57%	30	51.72%	
Invaginado	3	8.57%	8	13.79%	
TOTAL	**35**		**58**		

5.2.2. Evaluación según el promedio del diámetro del embrión del séptimo y octavo día.

El análisis del diámetro embrionario reveló diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días de colecta. Los embriones recuperados al séptimo día presentaron un diámetro promedio de 663.19 µm (n=35), mientras que los del octavo día alcanzaron una media de 1533.13 µm (n=58), evidenciando un incremento sustancial en tamaño según el día de colecta, reflejando el crecimiento esperado y concordando con Vaughan et al. (2013) y Sumar (2013). Picha et al. (2013) reportaron diámetros de 0.6–0.67 mm en el día 7 y 8.0–8.8 mm en el día 8, en alpacas, lo cual es considerablemente igual para el séptimo día y mayor para el octavo día en este trabajo, posiblemente por diferencias en el método de medición o el momento exacto postovulación o especie. Del Campo et al. (2002) indicaron diámetros medios de 527.1 ± 168.0 µm en llamas y 534 ± 151.4 µm en alpacas al séptimo día, similar a los obtenidos aquí, lo que podría estar asociado

a un mejor desarrollo embrionario o a un efecto del protocolo hormonal empleado. Vásquez et al. (2007) los embriones obtenidos 7.5 días después del empadre, miden típicamente entre 0.5 y 1.0 mm similar a lo reportado en esta investigación de 0.4 – 0.1 mm. La variación en el diámetro embrionario en cualquier día de recolección puede atribuirse a la variación en el tiempo de ovulación y, por lo tanto, en el tiempo de desarrollo embrionario también, tasas de crecimiento bajo distintos protocolos superovulatorios (Trasorras et al., 2017) o factores intrínsecos a la hembra (Del Campo et al., 2002). En este sentido, el diámetro se confirma como un parámetro clave en la evaluación de la calidad embrionaria y en la toma de decisiones para transferencia.

El coeficiente de variación (CV) fue del 22.5 % para el séptimo día y del 39.9 % para el octavo día, lo que indica una mayor homogeneidad en el tamaño embrionario en etapas tempranas y una mayor dispersión en embriones más avanzados. Estos resultados confirman que el diámetro embrionario aumenta significativamente con el tiempo post-ovulación, siendo un indicador confiable del estadio de desarrollo.

Tabla 3 *Resultados del promedio del diámetro de los embriones del séptimo y octavo día*

	Dia de lavado	N	Media	Desviación Estándar	CV	P-valué
DIÁMETRO	7	35	663.19	149.269	22.5	p < 0.001
	8	58	1533.13	612.687	39.9	

5.2.3. Evaluación según el área del embrión del séptimo y octavo día.

El análisis del área embrionaria evidenció diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los días de lavado. Los embriones obtenidos al séptimo día presentaron un área promedio de 348.66 µm² (n=35), mientras que los del octavo día alcanzaron un promedio significativamente mayor de 2139.92 µm² (n=58), lo cual refleja una expansión sustancial conforme avanza el

desarrollo embrionario. El análisis del área embrionaria en camélidos sudamericanos ha sido escasamente documentado, aunque existen reportes en especies afines como dromedarios, vacunos y ovinos. En este estudio se observó un aumento significativo entre el día 7 (348,666 µm²) y el día 8 (2139.92 µm²), lo que concuerda con la expansión trofoectodérmica descrita en llamas por Vaughan et al. (2003) y en dromedarios por Skidmore et al. (2005). Este incremento refleja un avance en el desarrollo embrionario que podría influir directamente en su viabilidad (Tibary y Anouassi, 1997). Investigaciones que midieron el volumen de blastocistos en dromedarios reportan un patrón de expansión similar al descrito aquí (Skidmore et al., 2005). Asimismo, trabajos en bovinos utilizando técnicas tridimensionales han evaluado el volumen del embrión como parámetro morfométrico relevante (Masuda et al., 2021). Estos hallazgos de distintas especies de mamíferos rumiantes refuerzan la importancia del análisis del área embrionaria como herramienta de evaluación de la calidad y viabilidad embrionaria. (Skidmore et al., 1996).

El coeficiente de variación fue de 43.6 % para el séptimo día y de 74.0 % para el octavo día, indicando una mayor dispersión en el tamaño de los embriones en etapas más avanzadas. Estos resultados confirman que el área embrionaria se incrementa de manera significativa en función del día de colecta, siendo más homogénea en estadios tempranos y más variable en fases posteriores del desarrollo.

Tabla 4 *Promedio según el área de los embriones del séptimo y octavo día*

	Dia de lavado	**N**	**Media**	**Desviación Estándar**	**CV**	**P-valué**
ÁREA	7	35	348.66	1.52313	43.6	p < 0.001
	8	58	2139.92	1.58355	74.0	

5.3. Evaluación de la tasa de preñez de embriones colectados en el séptimo y octavo día, para el objetivo N° 2.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en la tasa de preñez en función del día de recuperación embrionaria. Se colectaron embriones en un total de 28 hembras donadoras (11 al séptimo día y 17 al octavo día), obteniéndose 35 embriones en el primer grupo (318.18 % de eficiencia por hembra colectada) y 58 embriones en el segundo grupo (341.17 %), lo que refleja una alta eficiencia de recuperación embrionaria en ambos tratamientos.

Del total de 128 receptoras sincronizadas, expuesto en la Tabla 1, se transfirieron 74 embriones viables: 20 (57.14 % del total recuperado) correspondientes al grupo del séptimo día y 54 (93.10 %) al grupo del octavo día. En cuanto a la tasa de gestación confirmada, el grupo del séptimo día presentó una preñez del 40 % (8/20), mientras que el grupo del octavo día alcanzó una tasa significativamente superior de 61.11 % (33/54). Resultados semejantes han sido reportados en alpacas por Carretero et al. (2010), quienes identificaron los días 7 y 8 como los más adecuados para la recolección y transferencia, alcanzando tasas de preñez superiores al promedio del sector. Asimismo, Vaughan et al. (2003) en llamas observaron que embriones transferidos en estadios avanzados presentan mayor potencial de implantación. En dromedarios, Son et al. (2022) compararon embriones en estadio temprano versus blastocistos, encontrando que la tasa de preñez fue ligeramente mayor en embriones más avanzados, lo que respalda la idea de que la selección del estadio embrionario influye de manera significativa en el éxito de implantación.

Estos hallazgos indican una mayor viabilidad de los embriones transferidos al octavo día, atribuible posiblemente a su mayor grado de madurez morfológica, mayor tamaño y mejor calidad estructural (mayor diámetro y área), características que podrían favorecer una mayor capacidad de

implantación. En contraste, los embriones recuperados al séptimo día, si bien mantenían una forma mayormente esférica, presentaban menor desarrollo, lo cual podría comprometer su competencia para lograr una gestación exitosa.

Tabla 5 *Numero de lavados, embriones recuperados, embriones transferidos y llamas preñadas según el día de colecta*

Variables	Colecta al 7 día		Colecta al 8 día		Total		P-valué
	N	%	N	%	N	%	p<0.001
Lavados uterinos (n)	11		17		28		
Recuperación de embriones	35	318.18	58	341.17	93	332.14	
Embriones transferidos	20	57.14	54	93.10	74	79.56	
Preñadas	8	40	33	61.11	41	55.40	

5.3.1. Relación entre la morfología embrionaria y la tasa de preñez según el día de colecta.

Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la morfología embrionaria y la tasa de preñez para ambos días de colecta. En el grupo del séptimo día, se transfirieron 20 embriones, de los cuales 18 presentaron morfología esférica, generando 7 preñeces (87.5 %), mientras que los 2 embriones restantes, de forma irregular, originaron 1 preñez (12.5 %). No se obtuvieron preñeces con embriones invaginados ni alargados. Superior al 75 % reportado por Del Campo et al. (1994) y Vaughan et al. (2003), lo que refuerza su asociación que la esfericidad temprana con un desarrollo embrionario óptimo. Estos datos sugieren que la esfericidad del embrión al séptimo día se asocia a una mayor viabilidad embrionaria y potencial gestacional, posiblemente debido a su integridad estructural y grado óptimo de desarrollo.

En contraste, para el octavo día, también se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$). De los 54 embriones transferidos, 28 fueron de morfología irregular, de los cuales 18 (54.5 %) resultaron en preñeces. A estos les siguieron los embriones esféricos (n = 16), con 10 preñeces (30.3 %), mientras que los embriones invaginados (n = 7) generaron 3 preñeces (9.1 %), y los alargados (n = 3) solo lograron 2 preñeces (6.1 %). Similar al 52 % informado por Sumar (2013), lo que confirma que ciertas irregularidades son fisiológicas en estadios avanzados. La baja tasa en embriones alargados podría deberse a asincronía con el útero (Trasorras et al., 2017) y a un desarrollo más avanzado del blastocisto en elongación, producto de las primeras ovulaciones en los individuos superovulados (Picha et al., 2013).

A pesar de que los embriones esféricos presentaron la mayor tasa de éxito al séptimo día, al octavo día la morfología irregular mostró un desempeño superior. Este hallazgo podría explicarse por el mayor grado de elongación y pérdida de esfericidad natural que ocurre en los embriones conforme avanzan en desarrollo post-ovulatorio, lo cual no necesariamente compromete su viabilidad si están bien sincronizados con el ambiente uterino de la receptora. No obstante, la forma embrionaria continúa siendo un parámetro relevante a considerar al momento de seleccionar embriones para transferencia, especialmente en etapas tempranas (7 días), donde la esfericidad se relaciona directamente con su calidad y potencial de implantación.

Tabla 6 *Resultados de preñez en llamas en función de la morfología embrionaria (colectas día 7 y 8).*

Categorización	Colecta al 7 día	P-valor	Colecta al 8 día	P-valué
	Preñadas	p<0.005	Preñadas	P<0.001
Esférico	7 (87.5%)		10 (30.3%)	
Alargado	0		2 (6.1%)	
Irregular	1 (12.5%)		18 (54.5%)	
Invaginado	0		3 (9.1%)	
TOTAL	**8**		**33**	

5.3.2. Relación entre el tamaño embrionario y la tasa de preñez según el día de lavado.

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 7, se evaluó la influencia del tamaño embrionario sobre la tasa de preñez utilizando como punto de referencia el diámetro de la punta de la pipeta de aspiración (1000 µm) donde para el caso de embriones de mayor tamaño y en el intento de no dañarlos con el uso de pipetas de solo 1000 micras, se utilizó una pajilla de 0.25 que presenta un diámetro interno de 1500 micras. En el grupo de embriones colectados al séptimo día, se transfirieron 20 embriones: 2 mayores a 1000 µm y 18 menores. Solo uno de los embriones >1000 µm resultó en preñez (12.5 %), mientras que los embriones <1000 µm generaron 7 preñeces (87.5 %), diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Valor ligeramente superior al 85 % reportado por Del Campo et al. (1994) y cercano al observado por Sumar (2013). Esta coincidencia

respalda la hipótesis de que tamaños más reducidos en esta etapa reflejan una mejor sincronía con el endometrio receptor. En cambio, los embriones >1000 µm en el mismo día podrían evidenciar una expansión prematura, asociada a asincronía entre el desarrollo embrionario y el estado uterino (Ashraf et al. (2022), lo que explicaría su menor rendimiento reproductivo.

En contraste, al octavo día, de los 54 embriones transferidos se obtuvieron 33 preñeces, de las cuales 23 (69.7 %) correspondieron a embriones >1000 µm y 10 (30.3 %) a embriones <1000 µm, también con diferencias significativas ($p < 0.05$). Estos resultados evidencian una tendencia opuesta en relación al día de colecta: a mayor edad embrionaria, mayor tamaño y mayor probabilidad de éxito reproductivo, cifra muy próxima al 68 % documentado por Picha et al. (2013) y consistente con la elongación fisiológica descrita por Vaughan et al. (2013).

En conjunto, se observa que tanto la morfología como el tamaño embrionario influyen de manera significativa en la tasa de preñez en llamas. Para colectas tempranos (día 7), embriones menores a 1000 µm y con morfología esférica presentan mayores tasas de éxito gestacional, mientras que para colectas tardíos (día 8), los embriones de mayor tamaño (>1000 µm) muestran una superior eficiencia reproductiva. Por tanto, estos parámetros deben considerarse criterios clave en la selección embrionaria dentro de los programas de transferencia de embriones en camélidos sudamericanos.

Tabla 7 *Resultado de la categorización del tamaño del embrión (> <1000 µm) y la tasa de preñez, de embriones colectados al séptimo y octavo día*

Categorización	Colecta al 7 día	P-valor	Colecta al 8 día	P-valué
	Preñadas	p<0.005	Preñadas	p<0.001
>1000 µm	1 (12.5%		23 (69.7%)	
<1000 µm	7 (87.5%)		10 (30.3%)	
TOTAL	**8**		**33**	

5.2.3. Relación entre el área embrionaria promedio y la tasa de preñez en función del día de la colecta

De acuerdo con los resultados expuestos en la Tabla 8, se clasificaron los embriones transferidos según su área en dos categorías utilizando como punto de corte el promedio general (365.017 µm²) para el séptimo día y 2184.29 µm² para el octavo día. En el grupo del séptimo día, se transfirieron 20 embriones, de los cuales 12 fueron clasificados como grandes (>365.017 µm²) y 8 como pequeños (<365.017 µm²). Se observó que el 75 % (n = 6) de las preñeces correspondieron a embriones grandes, mientras que los embriones pequeños solo lograron una tasa de preñez del 25 % (n = 2), mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Coincidiendo con lo descrito por Del Campo et al. (1994) y Vaughan et al. (2003), quienes asociaron mayor superficie embrionaria con mayor madurez estructural y capacidad de señalización materna.

En contraste, para el octavo día, el promedio de área embrionaria fue considerablemente mayor (2184.29 µm²). De los 54 embriones transferidos, 30 fueron menores y 24 mayores a este valor. El

grupo de embriones <2184.29 μm² presentó una tasa de preñez del 60.6 % (n = 20), mientras que los embriones >2184.29 μm² alcanzaron un 39.4 % (n = 13), diferencias también significativas ($p < 0.05$). A diferencia del séptimo día, estos datos sugieren que, en etapas embrionarias más avanzadas, tamaños excesivos podrían no correlacionar positivamente con mayor viabilidad, posiblemente debido a fenómenos de mayor elongación. Patrón que coincide con las observaciones de Trasorras et al. (2009) y Ashraf et al. (2022) quienes advierten que una elongación excesiva podría reducir la capacidad de adaptación al endometrio y comprometer la viabilidad.

En conjunto, estos hallazgos reafirman que el área embrionaria constituye un criterio morfométrico relevante para predecir el éxito reproductivo post transferencia, aunque su interpretación debe considerar el día de colecta y el estado fisiológico del embrión. La selección de embriones con tamaño intermedio y morfología esférica representa una estrategia recomendable en programas de transferencia embrionaria en camélidos sudamericanos.

Tabla 8 *Preñeces obtenidas en llamas en función de la categoría del área embrionaria en colectas de los días 7 y 8 post-monta.*

Categorización	**Colecta al 7 día**	**P-valor**	**Categorización**	**Colecta al 8 día**	**P-valué**
	Preñadas	p<0.005		Preñadas	p<0.001
>365.017	6 (75%)		>2184.29	13 (39.4%)	
<365.017	2 (25%)		<2184.29	20 (60.6%)	
TOTAL	**8**			**33**	

VI. CONCLUCIONES

A partir de los resultados del presente estudio, se concluye lo siguiente:

Para el objetivo 1:

- Las características morfométricas embrionarias variaron según el día de lavado.
- Los embriones del día 7 fueron más pequeñas, uniformes y esféricos.
- Los embriones del 8 día presentaron mayor tamaño y morfología más irregular.
- La morfometría fue un indicador confiable del desarrollo embrionario en llamas.

Para el objetivo 2:

- La fertilidad post transferencia varió según el día de colecta y la morfometría embrionaria.
- La morfología influyó en la gestación: embriones esféricos (día 7) y embriones irregulars (día 8) mostraron mejores resultados.
- El tamaño embrionario afectó la tasa de preñez, siendo mas favorables los embriones de menor tamaño/>área (día 7) y mayor tamaño/<área (día 8).
- El día 8 resultó el mas favorable para obtener mayores tasas de gestación post transferencia.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda priorizar la colecta y transferencia de embriones al octavo día post monta, ya que presentan un desarrollo más avanzado y mayores probabilidades de implantación, lo que incrementa la eficiencia reproductiva en los programas de transferencia.

- Se sugiere incorporar la morfometría embrionaria como criterio rutinario de selección, considerando el diámetro, el área y la forma, dado que estos parámetros demostraron influir de manera significativa en las tasas de preñez obtenidas.

- Se recomienda evitar transferir embriones excesivamente grandes o elongados, especialmente al séptimo día, ya que su sobredesarrollo reduce la sincronía uterina y la probabilidad de gestación; por ello, deben preferirse embriones de dimensiones moderadas y morfología acorde a su estadio.

- Se recomienda incluir el lavado al noveno día para futuras investigaciones.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abalos, M., Acuña, F., Cancino, A., & Aller, J. (2022). Relación del sexo de la cría originada de la ovulación de los ovarios izquierdo y derecho en llamas (*Lama glama*). *Revista argentina de producción animal*, *41*(Supl. 1), 52. https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20 500.12123/13937

Adams, G., & Ratto, M. (2001). Reproductive biotechnology in South American Camelids. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, Suppl. 1*, 134–141.

Ascencio, J., Huanca, W., Turín, J., Mamani, C., Cordero, A., & Hilari, F. (2019). Efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular sobre la respuesta ovárica y tasa de recuperación y calidad de embriones en alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *30*(2), 745–752. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16066

Ashraf, R., Hussain, M., Akhtar, M., & Khan, M. A. (2022). Early embryonic death in equines and camelids. *Open Veterinary Journal*, *12*(2), 41–49. https://www.researchgate.net/publication/366569552_Early_embryonic_death_in_equines_and_camelids

Barraza, D. (2019). *Estudio de Genes Involucrados en el Reconocimiento Materno de la Preñez en Camélidos Sudamericanos* [Universidad Nacional de Tucumán]. http://hdl.handle.net/11336/93490

Bianchi, C., Cavilla, M., Jorgensen, E., Benavente, M., & Aba, M. (2012). Development of corpus luteum susceptibility to an analog of prostaglandin F2α, throughout the luteal phase in llamas (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*, *131*, 199–203. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.03.007

Bourke, D. A., Kyle, C. E., McEvoy, T. G., Young, P., & Adam, C. L. (1995). Recipient synchronisation and embryo transfer in South American camelids. *Theriogenology*, *43*(1), 2–5. https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)00195-3

Bravo P. W., Fowler M. E., Stabenfeldt G. H., Lasley B. L. 1990a. Ovarian follicular dynamics in the llama. Biology of Reproduction. 43: 579-585.

Bravo, P. (2002). The reproductive process in Sudamerican Camelids. Seagull Print, Salt Lake City. USA

Bravo, W.; T. Tsutsui and L. Lasley. 1995. Dose response to equine gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. Small ruminant Research 18:157-163.

Brown, B. (2000). A review on reproduction in South American camelids. *Animal Reproduction Science*, *58*, 169–195. https://doi.org/10.1016/s0378-4320(99)00081-0

Bustinza, V. (2001). *La Alpaca conocimiento del gran potencial andino* (Oficina de Recursos del Aprendizaje (ed.)). Universidad Nacional Del Altiplano Puno.

Campbell, A., Ciccarelli, M., & Tibary, A. (2017). Early Embryonic development and maternal recognition of pregnancy in camelids: A review. *Spermova*, *7*(2), 67–76. https://doi.org/10.18548/aspe/0005.13

Cancino, A., Aller, J., Rebuffi, G., & Alberio, R. (2011). Control de la dinámica folicular ovárica en llamas (Llamas lama) en postparto temprano. *Archivos de zootecnia*, *60*(32), 1009–1020. https://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922011000400017

Carnero, S., Huanca, W., Cordero, A., Vásquez, M., & Huanca, T. (2011). Transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a la posición del cuerpo lúteo y supervivencia

embrionaria en llamas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *22*(2), 114–120. https://doi.org/10.15381/rivep.v22i2.278

Carretero MI, Miragaya M, Chaves MG, Gambarotta MC, Agüero A. Embryo production in superstimulated llamas pre-treated to inhibit follicular growth. Small Ruminant Res doi:10.1016/j.smallrumres.2009.11.006

Cervantes, M., Huanca, W., Gonzales, M., Palomino, M., & Leyva, V. (2011). Relación entre el día de colección y la recuperación de embriones en alpacas superovuladas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *22*(2), 125–132. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000200007

Cervantes, M., Huanca, W., Huanca, T. (2007). Efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y supervivencia embrionaria en alpacas. Rev Invest Vet, Perú 18(2): 122–128.

Chaves, M., Aba, M., Agüero, A., Egey, J., Berestin, V., & Rutter, B. (2002). Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Science*, *69*, 37–46. https://doi.org/10.1016/s0378-4320(01)00173-7

Coronel, M. (2021). *Aplicación de GnRH en inducción de la ovulación para inseminación artificial de alpacas* [Universidad Técnica de Cotopaxi]. https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7999

Del Campo M. R., Toro F., Von Baer A., Montecinos S., DonosoX. y Von Baer L. 2002. Morphology and physiology of llama (Lama glama) and alpaca (Lama paco) embryos.

Theriogenology. 57, 581.

Del Campo MR, Del Campo CH, Adams GP, Mapletoft RJ. The application of new reproductive technologies to South American Camelids. Theriogenology (1995) 43:21–30. doi:10.1016/0093-691X(94)00007-H

Del Campo, M. R., Del Campo, C. H., Donoso, M. X., Rojo, R., Barros, C., Parrish, J. J., & Mapletoft, R. J. (1994). In vitro fertilization and development of llama (Lama glama) oocytes using epididymal spermatozoa and oviductal cell co-culture. *Theriogenology, 41*(6), 1219–1229. https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90479-3

Delver, J. (2011). Capítulo 1. Consideraciones prácticas y éticas para la transferencia de embriones en el siglo XXI. En *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones* (4ta Ed, pp. 9–14). International Embryo Transfer Society.

Elguera, L. (2015). *Evaluación de Tres Protocolos de Superovulación en Alpacas para la Obtención de Embriones, Distrito de Sibayo, Provincia de Caylloma, Arequipa, 2015* [Universidad Católica de Santa María]. https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/3097

Fernández-Baca, S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. Anim. Reprod. Sci. 33, 307–323

Fernández-Baca, S., Madden, D. and Novoa, C. (1970). Effect of different mating stimuli on induction ovulation in the alpaca. J. Reprod. Fert. 22: 3-20. Fernandez-Baca, S., Novoa, C, Sumar, J., 1972a. Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separation del macho. Mem. ALPA7, 7-18.

Fernandez-Baca, S., Sumar, J., Novoa, C, 1972b. Comportamiento sexual de la alpaca macho

frente a la renovation de las hembras. Rev. Invest. Pecuarias 1, 115-128.

Fowler, M., & Bravo, W. (2010). *Medicina y cirugía de camélidos* (3era Ed.). Wiley-Blackwell.

Galina, C., & Valencia, J. (2008). *Reproductores de animales domésticos* (3era Ed.). Limusa.

Gallelli, F., Bianchi, C., Trasorras, V., Zampini, E., Aba, M., & Miragaya, M. (2019). Synchronization of time of development of ovarian follicular waves in South American Camelids. *Animal Reproduction Science*, *208*, 106105. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.017

Gallelli, M., Bianchi, C., Zampini, E., Trasorras, V., Gambarotta, M., & Miragaya, M. (2020). Corpus luteum vascularization during the maternal recognition of pregnancy in llamas (*Lama glama*). *Reproduction in domestic animals*, *55*(1), 74–80. https://doi.org/10.1111/rda.13588

Garcia, K. (2022). *Efecto del estímulo de inducción de ovulación sobre la tasa de preñez en alpacas receptoras* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://hdl.handle.net/20 500.12672/18562

García, L. (2019). *Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos* [Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. https://hdl.handle.net/20.500.12893/8704

Gerken, M. (2006). *Llamas and alpacas – behavior, breeding and management*. In: H. Zerboni (Ed.), Proceedings of the European Association for Animal Production (EAAP) Satellite Symposium on South American Camelids (pp. 29–37). Wageningen Academic Publishers.

Hafez, E., & Hafez, B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales* (7ma Ed). Mc Graw Hill Interamericana.

Huamán, L. (2022). *Evaluación de dos dosis de eCG en llamas para la obtención de embriones, Ayacucho - 2018* [Universidad Nacional De San Cristobal de Huamanga]. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/5315

Huanca, W. (2005). Aplicación de biotecnologías reproductivas en especies domésticas y silvestres de camélidos sudamericanos. *Agrociencia*, *4*(1–2), 5050–5509.

Huanca, W. 2007; Palomino A; Sumar 2000. Camelidos sudamericanos del Perú. Resumen de Camélidos.

Huanca, W., Ratto, M., Cordero, A., Santiani, A., Huanca, T., Cárdenas, O., & Adams, G. (2006). Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. *Resumen del V Congreso Mundial de Camélidos*.

Huanca, W., Ratto, M., Santiani, A., Cordero, A., & Huanca, T. (2004). Transferencia embrionaria en camélidos: estudio de un tratamiento superovulatorio confiable en llamas. *Investigación sobre camélidos sudamericanos: Actas del 4º Simposio europeo sobre camélidos sudamericanos y Seminario europeo DECAMA*, 1. https://doi.org/https://doi.org/10.3920/978-90-8686-576-5

Hyttel, P., Sinowatz, F., & Vejlsted, M. (2010). *Essentials of Domestic Animal Embryology* (1era Ed). Saunders Ltd.

Landeo, L., Mendoza, J., Manrique, L., Taipe, E., Molina, R., Contreras, J., ... & Contreras, J. (2022). *Evaluación de la morfología embrionaria en alpacas y llamas*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Recuperado de

https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/8210

Larico, H. (2019). Obtenido de LA ALPACA: Recurso genético del Perú, su importancia científica, crianza y potencial mundial de su fibra como emblema de Puno.: https://sicreesinnovas.com/la-alpaca-recurso-genetico-del-peru-su importancia-cientifica-crianza-y-potencial-mundial-de-su-fibra-como-emblema-de puno/

Mamani, H. (2022). Recuperación de embriones en hembras de alpacas y llamas con ovulación única o múltiple. *Revista de investigaciones agropecuarias*, *48*(1), 48–52. https://www.redalyc.org/journal/864/86470768006/html/

Mapletoft, R., Stookey, J., & Bó, G. (2011). Capítulo 4. Procedimientos sanitarios generales y consideraciones sobre el bienestar asociadas con la producción de embriones *in vivo*. En *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones* (4ta Ed, pp. 56–63). International Embryo Transfer Society.

Masuda, Y., Hasebe, R., Kuromi, Y., Kobayashi, M., Iwamoto, M., Hishinuma, M., Ohbayashi, T., & Nishimura, R. (2021). Three-dimensional live imaging of bovine embryos by optical coherence tomography. *Journal of Reproduction and Development*, *67*(2), 149–154. https://doi.org/10.1262/jrd.2020-151

McGeady, T., Quinn, P., Fitzpatrick, E., Ryan, M., & Cahalan, S. (2006). *Veterinary Embryology* (1era Ed). Blackwell Publishing Ltd.

Mendoza, A. (2015). *Crianza y manejo genético de llamas en las provincias de Pasco y Daniel Alcides Carrión en la Región Pasco* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. https://hdl.handle.net/20.500.12996/1166

Mendoza, R. (2012). *Producción y evaluación de embriones por superovulación mediante la*

utilización de la eCG y FSH, en alpacas Huacaya (Vicugna pacos) a 2730 m.s.n.m. [Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga]. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2969

Miragaya, M., Chaves, M., & Agüero, A. (2006). Reproductive biotechnology in South American Camelids Reproductive biotechnology in South American camelids. *Small Ruminant Research*, *61*(2–3), 299–310. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.017

Montalvo, A. (2020). *Estado actual de la investigación en camélidos sudamericanos y propuestas de futuros estudios en el Perú* [Universidad Nacional San Luis Gonzaga]. https://repositorio.unica.edu.pe/500

Neira, E., Velásquez, J., Cardozo, J., Velásquez, J., Gutiérrez, S., & Herrera, R. (2023). Morfometría de ovarios, folículos y su relación con la calidad oocitaria en bovinos. *Agronomía Mesoamericana*, *34*(1), 50156. https://doi.org/10.15517/am.v34i1.50156

Noden, D., & De Lahunta, A. (1990). *Embriología de los animales domésticos mecanismos de desarrollo y malformaciones*. Acribia.

Novoa, C. 1991. Fisiología de la reproducción de la hembra. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Fernández-Baca (Ed). FAO, Santiago, Chile, pp 91-109.

Olaguivel, C. (2022). *Respuesta superovulatoria de dos dosis de Ecg para la obtención de embriones en llamas, Ayacucho - 2020* [Universidad Nacional de Huancavelica]. http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/4406

Olivera, L. D. Zago, R. Leiser, C. Jones and E. Bevilacqua. 2003. Develpmental changes at

the materno-embryonic interfase in early pregnancy of the alpaca, Lama pacos. Anat. Embryol. 207, 317–331.

Ormachea, E., Jahuira, F., Calsin, B., & Olarte, U. (2022). Estudio Morfométrico y Ecuaciones de Predicción del Peso Corporal en Llamas (*Lama glama*) Ch'aku y Q'ara. *International Journal of Morphology*, *40*(5), 1247–1252. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022022000501247

Oyuela, L., & Jiménez, C. (2010). Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, *57*(3), 191–200. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639225005

Pacheco J, Vélez V, Pezo D. Evaluación de la eficiencia de la transferencia de embriones interespecie entre alpacas y llamas obtenidos por ovulación sim ple. Rev Invest Vet Perú (2016) 27(1):64–9. doi:10.15381/rivep.v27i1.11464

Pacheco, J., Vélez, V., & García, W. (2020). Evaluación de un nuevo protocolo de superovulación en llamas: respuesta ovárica, recuperación embrionaria y alteraciones pos-tratamiento. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *31*(3), e18731. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18731

Pacheco, J., Vélez, V., Angulo, J., & García, W. (2021). Transferencia embrionaria de llamas superovuladas y de ovulación simple en dos épocas del año y bajo condiciones de campo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *32*(1), e19511. https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19511

Palma, G. (2008). Evaluación de la calidad de los embriones. *Biotecnología de la Reproduccíon*, 237–250. https://www.researchgate.net/publication/267705521%0D

Palomino, H. (2000). *Biotecnología del trasplante y micromanipulación de embriones de bovinos y camélidos de los Andes* (1era Ed). A.F.A. S.A.

Palomino, W., Contreras, M., & Olaguivel, C. (2020). Efecto de la suplementación de dos agentes capacitantes en medio de fecundación para la producción *in vitro* de embriones en Alpacas (Vicugna pacos). *Spermova*, *10*(1), 32–37. https://doi.org/10.18548/aspe/0008.05

Perez, U., Gonzáles, E., Huayta, R., Apaza, M., Quispe, Y., & Pérez, M. (2019). Factores que afectan la transferencia de embriones de alpacas (*Vicugna pacos*) a llamas (*Lama glama*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *30*(4), 1645–1652. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v20i4.17276

Picha Y., A.Tibary, M. Memon, R.Kasimanickan, and J. Sumar. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. Theriogenology 79: 702-708. Picha, Y., Tibary, A., Memon, M., Kasimanickam, R., & Sumar, J. (2013). Theriogenology Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology*, *79*(4), 702–708. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.027

Picha, Y., Sumar, J., Arellano, P., Torres, R., Rodriguez, C., & Tibary, A. (2010). Effect of corpus luteum on pregnancy rate and location following embryo transfer in alpacas. *Clinical Theriogenology*, *2*, 365.

Quina, E. (2015). *Diagnóstico de la crianza y caracterización fenotípica de las llamas K'ara (Lama Glama) en marcapomacocha, Región Junín* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. https://hdl.handle.net/20.500.12996/1859

Quispe, N. (2021). *Efecto de la congelación sobre la viabilidad de embriones en llamas, Ayacucho - 2018* [Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4587

Ratto M, Huanca W, Singh J y Adams G P. 2005: Comparison of the effect of natural mating, LH and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. Animal. Reproduction Science. 91 (3-4), 299-306.

Ratto, M., Silva, M., Huanca, T., & Cordero, A. (2015). Inducción de superovulación en camelidos. *Spermova*, *5*(2), 253–257. https://doi.org/10.18548/aspe/0002.45

Ratto, M., y Adams, G. (2007). Embryo technologies in South American Camelids, In W. Youngquist, R. y Threlfall (Ed.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2da Ed., pp. 900–905). Saunders Ltd.

Robertson, I., & Nelson, R. (2010). Certification and identification of the embryo. In D. K. Gardner & A. Van Soom (Eds.), *Manual of the International Embryo Transfer Society* (4th ed., pp. 103–134). International Embryo Transfer Society.

Rodríguez, A., Gutiérrez, G., & Wurzinger, M. (2021). Caracterización de la crianza de llamas (*Lama glama*) en la región Pasco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, *32*(3), 1–15. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i3.18030

Rossetto, L., Gallelli, M., Bianchi, C., Franco, G., & Miragaya, Y. (2022). Efecto de 1000 UI de eCG recombinante para la superestimulación folicular y la recuperación de embriones en llamas. *Revista Académica de Investigación, Docencia y Extensión de las Ciencias Veterinarias*, *3*(3), 51–52. https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/Vetec/article/view/7194

Ruiz, J. (2022). *Biotecnologías Reproductivas en Camélidos Sudamericanos* (Colegio de Ingenieros del Perú (ed.); Primera ed). https://www.cip.org.pe/publicaciones/2022/noviembre/portal/biotecnologias-reproductivas-en-camelidos-sudamericanos-sello-de-agua.pdf

Sadler, T. (2019). *Langman. Embriología Médica Ed.14* (14ava Ed). Wolters Kluwe.

Silva, M., Paiva, L., & Ratto, M. H. (2020). *Ovulation mechanism in South American camelids: The active role of β-NGF as the chemical signal eliciting ovulation in llamas and alpacas*. Theriogenology, 150, 280–287.

Silva, M., Ulloa, C., Norambuena, C., Fernández, A., Adams, G., & Ratto, M. (2014). Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) from seminal plasma origin enhances Corpus Luteum function in llamas regardless the preovulatory follicle diameter. *Animal Reproduction Science*, *148*(3–4), 221–227. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.05.012

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. 2005. Reproduction in dromedary camels: an update. Anim. Reprod. 2(3): 161-171. Jul/ Sept.

Skidmore, L. (2000). Embryo Transfer in the Dromedary Camel (Camelus dromedarius). *Recent Advances in Camelid Reproduction*. https://www.ivis.org/library/recent-advances-camelid-reproduction/embryo-transfer-dromedary-camel-camelus-dromedarius

Son, Y.-B., Yu, X., Jeong, Y.-I., Hossein, M. S., Olsson, P. O., Jeong, Y.-W., Choi, E. J.,

Tinson, A. H., Singh, K. K., Rajesh, S., Noura, A. S., & Hwang, W.-S. (2022). Comparison of pregnancy rate in dromedary camel between early-stage embryos and blastocyst transfer produced by somatic cell nuclear transfer using in vitro-matured oocytes. *Zygote*, *30*(4), 522–527. https://doi.org/10.1017/S096719942100099X

Sumar J. Embryo transfer in domestic South American Camelids. Anim Reprod Sci (2013) 136(3):170–7. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.029

Sumar, J. (2007). Realidades y mitos en los camélidos sudamericanos. *XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal-Asociación Peruana de Producción Animal*, *15*(Supl. 1), 211–214.

Sumar, J. (2008). Alpacas finas obtenidas en vientres de llama por transferencia de embriones. *Agro Noticias*, *338*, 132–134.

Sumar, J., Picha, Y., Arellano, P., Montenegro, V., Londoñe, P., Rodriguez, C., Sanchez, D., & Tibary, A. (2010). Effect of recipient lactation status on pregnancy rate following embryo transfer in alpacas. *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, *2*, 399. https://cdn.ymaws.com/www.therio.org/resource/collection/387D6E53 2083-40C4-B2E4-67BC4A76EF0F/2010_097.pdf

Taylor, S., Taylor, P., James, A., & Godke, R. (2000). Successful commercial embryo transfer in the llama (*Lama Glama*). *Theriogenology*, *53*, 544. https://www.researchgate.net/publication/285724070_Successful_commercial_embryo_transfer_in_the_llama_Lama_glama

Tibary A, Anouassi A. Theriogenology in camelidae. Anatomy, physiology, pathology and

artificial breeding. Reproductive Physiology in Female Camelidae. United Arab Emirates: Actes Éditions, Institut Agronomique et Vetérinaire Hassan II (Maroc), Abu Dhabi Printing and Publishing Company (1997). p. 169–241.

Tibary, A. (2001a). Approach to diagnosis of infertility in camelids. *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, 407–416.

Tibary, A. (2001b). Fertilization, embryo and fetal development in camelids. *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, 12-15 Setiembre.

Tibary, A., & Anouassi, A. (2010). Effect of side of embryo transfer in relationship to location of the corpus luteum on pregnancy rate in camels (Camelus dromedarius). *Clinical Theriogenology*, *2*, 391. https://cdn.ymaws.com/www.therio.org/resource/collection/387D6E53 2083-40C4-B2E4-67BC4A76EF0F/2010_089.pdf

Tibary, A., Anouassi, A., Sghiri, A., & Khatir, H. (2007). Current knowledge and future challenges in camelid reproduction. *Society of Reproduction and Fertility supplement*, *64*, 297–313. https://doi.org/10.5661/RDR-VI-297

Tibary, A., Pearson, L., & Campbell, A. (2015). Transferencia de embriones en camélidos. *Spermova*, *5*(2), 234–252. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.44

Trasorras, V., Carretero, M., Neild, D., Chaves, M., Giuliano, S., & Miragaya, M. (2017). Production, Preservation, and Transfer of South American Camelid embryos. *Frontiers in Veterinary Science*, *4*, 190. https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00190

Trasorras, V., Chaves, M., Miragaya, M., Pinto, M., Rutter, B., Flores, M., & Agüero, A. (2009). Effect of eCG Superstimulation and Buserelin on Cumulus – Oocyte Complexes

Recovery and Maturation in Llamas (*Lama glama*). *Reproduction in domestic animals*, *44*(3), 359–364. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00972.x

Trasorras, V., Graciela, M., Neild, D., Gambarotta, M., Aba, M., & Agüero, A. (2010). Embryo transfer technique: Factors affecting the viability of the corpus luteum in llamas. *Animal Reproduction Science*, *121*, 279–285. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.06.004

Valadez, M., & Miranda, G. (2020). Implicaciones, tendencias y perspectivas del transporte de larga distancia en el ganado bovino. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, *11*(2), 517–538. https://doi.org/https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i2.4767

Van, A., Nauwynck, H., & Wrathal, A. (2011). Capítulo 2. Fundamentos científicos para la seguridad epidemiológica de la transferencia de embriones. En *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones* (4ta Ed, pp. 15–45). International Embryo Transfer Society.

Vásquez, M., Cervantes, M., Cordero, A., Cárdenas, O., & Huanca, W. (2007). Vitrificación de embriones de alpacas: estudio preliminar. *APPA - ALPA*, *2*, 1–8. https://hdl.handle.net/20.500.12955/2299

Vaughan, J. (2004). Artificial breeding in alpacas. En A. Gerken, M., Renieri, C., Gauly, M. y Riek (Ed.), *4 th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar* (p. 9). https://bibliotecadigital.fia.cl/server/api/core/bitstreams/14d7115a-11c4-4298-ae99-f7702f1efb88/content

Vaughan, J. (2007). Ovarian Synchronization and Induction of Ovulation in Llamas and

Alpacas. En W. Jovenquist, R., Threlfall (Ed.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2da Ed., pp. 884–889). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-072169323-1.50123-9

Vaughan, J. (2011). Ovarian function in South American camelids alpacas, llamas, vicunas, guanacos). *Animal Reproduction Science*, *124*, 237–243. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.031

Vaughan, J. (2012). Embryo transfer in alpacas. Satellite Meeting on Camelid Reproduction. *Vancouver*, 91–99.

Vaughan, J., D'Occhio, M., & Macmillan, K. (2013). Ovarian follicular interwave intervals in alpacas. *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reprod*.

Vaughan, J., Macmillan, K., & Anderson, G. (2003). Effects of mating behaviour and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Australian veterinary journal*, *81*(1–2), 86–90. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb11442.x

Vivanco, H., Huaman, E., Leon, S., Nuñez, T., Gregoire, A., Ponce, D., Alvarado, E., & Asparrin, M. (2010). Comparison Between Equine Chorionic Gonadotropin and Porcine Follicle Stimulating Hormone for *in vivo* Production of Embryos in Alpacas (Vicugna Pacos) Showing Natural Luteal Phase After Induction of Ovulation. *Reproduction, Fertility and Development*, *23*(1), 182. https://doi.org/https://doi.org/10.1071/RDv23n1Ab159

Vivanco, W., Bravo, W., & Alarcón, V. (2003). Superovulación y recuperación de embriones por el método no quirúrgico en alpacas (Lama pacos). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 14*(2), 145–151. https://doi.org/10.15381/rivep.v14i2.1511

Winblad, A. (2015). *Inter-species embryo transfer in South American Camelids*. https://stud.epsilon.slu.se/7975/7/winblad_v_walter_a_150601.pdf

Wright, J. M. (2010). Photographic illustrations of embryo developmental stages and quality codes. In D. K. Gardner & A. Van Soom (Eds.), *Manual of the International Embryo Transfer Society* (4th ed., pp. 155–158). International Embryo Transfer Society.

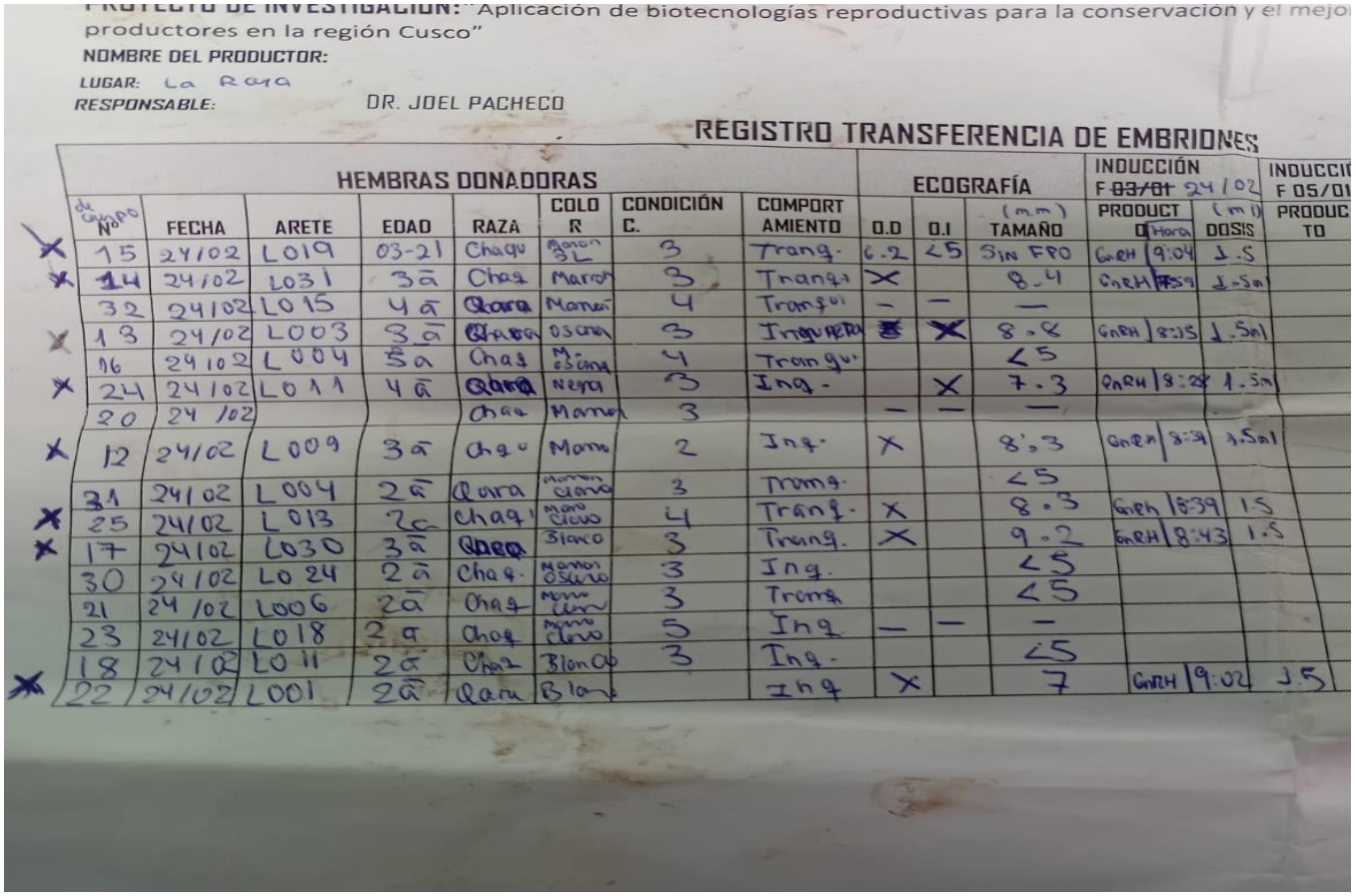
Zampini, E., Gallelli, F., Miragaya, M., & Trasorras, V. (2019). Sincronización de llamas donantes de embriones con un análogo sintético de la GnRH. *Universidad Nacional de Cuyo*. Recuperado de https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/13076/17-cientecinno-zampini-enzo-uba.pdf

Zampini, E., Gallelli, M., Chaves, M., Neild, D., & Kelley, D. (2020). Uterine and Corpus Luteum Blood Flow Evaluation Prior to Uterine Flushing in Llama Embryo Donors. *Frontiers in Veterinary Scienc*, *7*, 597960. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.597960

Zampini, E., Veiga, M., Fumuso, F., Cabido, L., Miragaya, M., & Trasorras, V. (2021). Mejoramiento genético de llamas en la puna jujeña. *Taurus*, *22*(88), 36–38. http://hdl.handle.net/11336/128388

ANEXOS

ANEXO 1 Registro de hembras llamas donadoras de embriones

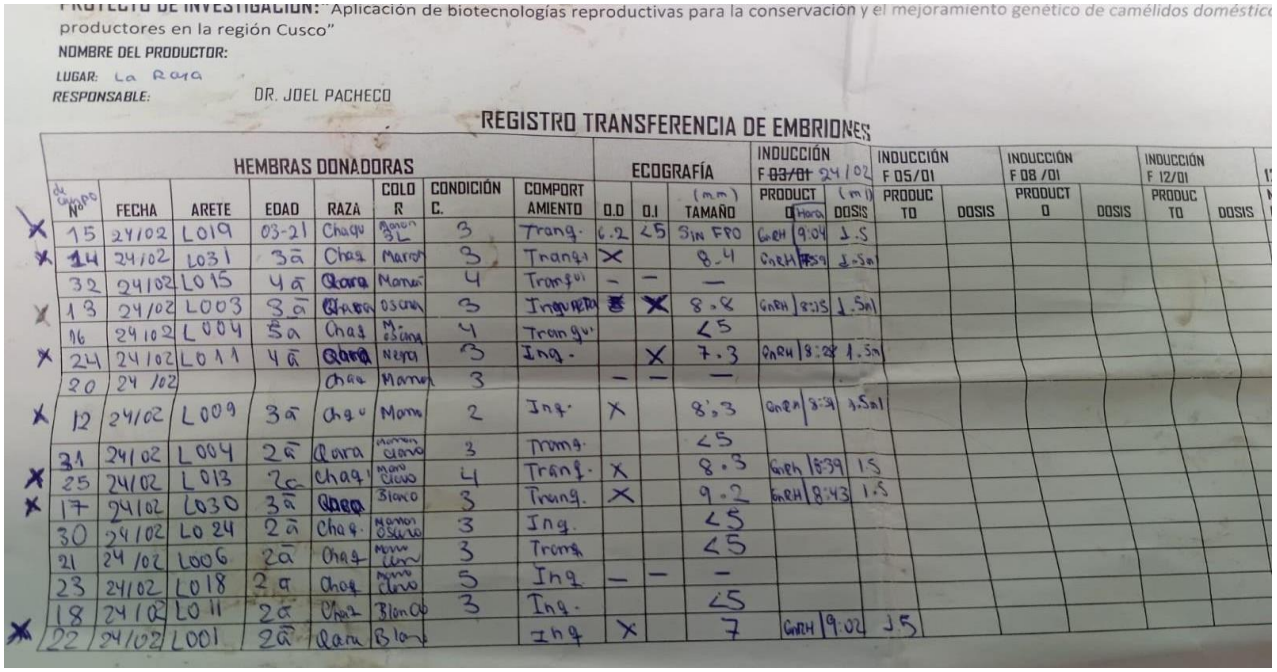


PROYECTO DE INVESTIGACION: "Aplicación de biotecnologías reproductivas para la conservación y el mejo
productores en la región Cusco"
NOMBRE DEL PRODUCTOR:
LUGAR: La Raya
RESPONSABLE: DR. JOEL PACHECO

REGISTRO TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

HEMBRAS DONADORAS								ECOGRAFÍA			INDUCCIÓN F ~~03/01~~ 24/02		INDUCCIÓN F 05/01
N° de Grupo	FECHA	ARETE	EDAD	RAZA	COLOR	CONDICIÓN C.	COMPORTAMIENTO	O.D	O.I	TAMAÑO (mm)	PRODUCTO / Hora	DOSIS (ml)	PRODUCTO
15	24/02	L019	03-21	Chaqu	Blanco SL	3	Trang.	6.2	<5	SIN FPO	GnRH 9:04	1.5	
14	24/02	L031	3ā	Chaq	Marron	3	Trang.	X		8.4	GnRH ~~8:59~~	1.5ml	
32	24/02	L015	4ā	Qara	Manch	4	Trang.	—	—	—			
13	24/02	L003	3ā	Qara	Oscuro	3	Ing. Pre	X	X	8.8	GnRH 8:15	1.5ml	
16	24/02	L004	5a	Chaq	M. oscuro	4	Trang.			<5			
24	24/02	L011	4ā	Qara	Negra	3	Ing.		X	7.3	GnRH 8:2~~8~~	1.5ml	
20	24/02			Chaq	Manch	3		—	—	—			
12	24/02	L009	3ā	Chaq	Manch	2	Ing.	X		8'.3	GnRH 8:39	1.5ml	
31	24/02	L004	2ā	Qara	Manch Claro	3	Trang.			<5			
25	24/02	L013	2c	Chaq	Manch Claro	4	Trang.	X		8.3	GnRH 8:39	1.5	
17	24/02	L030	3ā	Qara	Blanco	3	Trang.	X		9.2	GnRH 8:43	1.5	
30	24/02	L024	2ā	Chaq	Manch Oscuro	3	Ing.			<5			
21	24/02	L006	2ā	Chaq	Manch Claro	3	Trang.			<5			
23	24/02	L018	2ā	Chaq	Manch Claro	5	Ing.	—	—	—			
18	24/02	L011	2ā	Chaq	Blanco	3	Ing.			<5			
22	24/02	L001	2ā	Qara	Blanco		Ing.	X		7	GnRH 9:02	1.5	

ANEXO 2 Registro de sincronización de llamas hembras receptoras

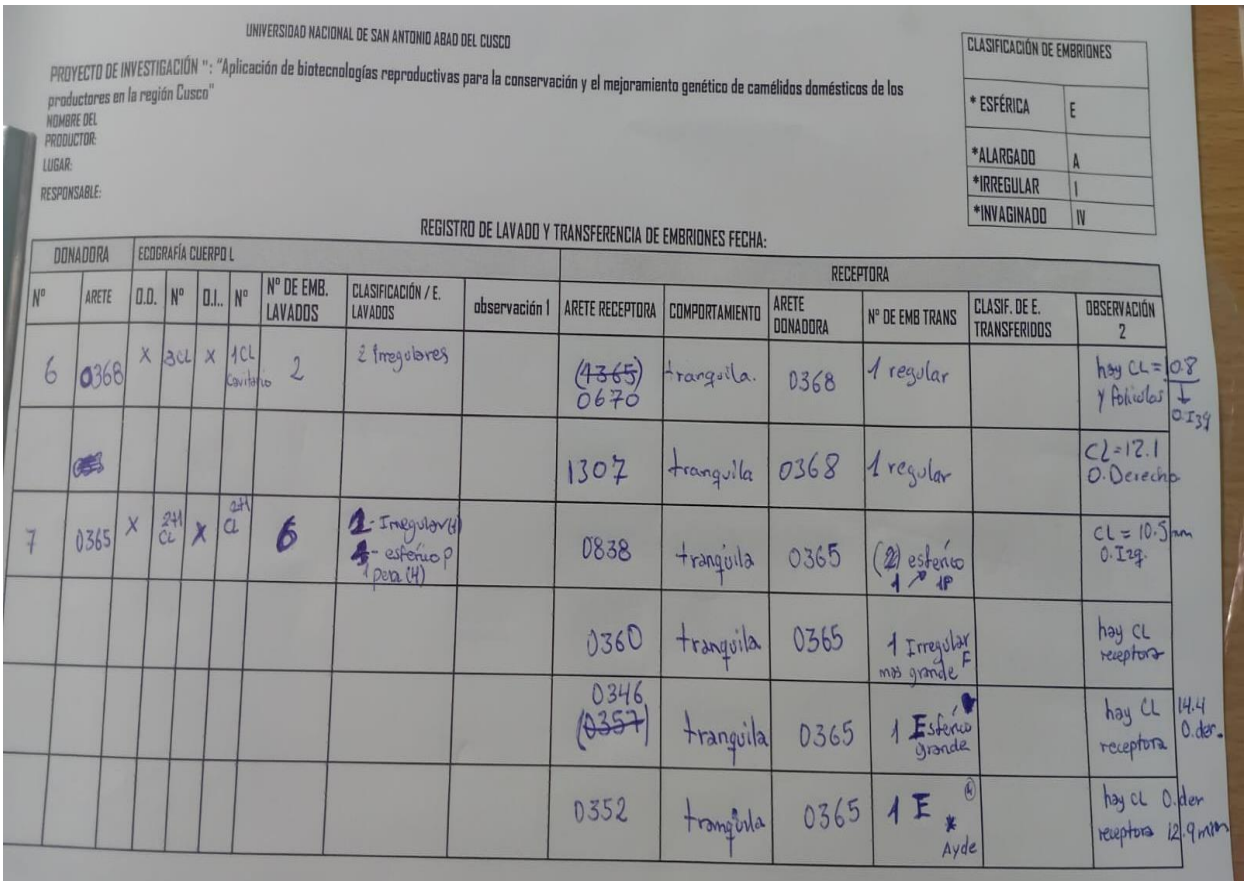


PROYECTO DE INVESTIGACION: "Aplicación de biotecnologías reproductivas para la conservación y el mejoramiento genético de camélidos domésticos
productores en la región Cusco"
NOMBRE DEL PRODUCTOR:
LUGAR: La Raya
RESPONSABLE: DR. JOEL PACHECO

REGISTRO TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

HEMBRAS DONADORAS								ECOGRAFÍA			INDUCCIÓN F ~~03/01~~ 24/02		INDUCCIÓN F 05/01		INDUCCIÓN F 08/01		INDUCCIÓN F 12/01	
N° de Grupo	FECHA	ARETE	EDAD	RAZA	COLOR	CONDICIÓN C.	COMPORTAMIENTO	O.D	O.I	TAMAÑO (mm)	PRODUCTO / Hora	DOSIS (ml)	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS	PRODUCTO	DOSIS
15	24/02	L019	03-21	Chaqu	Blanco SL	3	Trang.	6.2	<5	SIN FPO	GnRH 9:04	1.5						
14	24/02	L031	3ā	Chaq	Marron	3	Trang.	X		8.4	GnRH ~~8:59~~	1.5ml						
32	24/02	L015	4ā	Qara	Manch	4	Trang.	—	—	—								
13	24/02	L003	3ā	Qara	Oscuro	3	Ing. Pre	X	X	8.8	GnRH 8:15	1.5ml						
16	24/02	L004	5a	Chaq	M. oscuro	4	Trang.			<5								
24	24/02	L011	4ā	Qara	Negra	3	Ing.		X	7.3	GnRH 8:2~~8~~	1.5ml						
20	24/02			Chaq	Manch	3		—	—	—								
12	24/02	L009	3ā	Chaq	Manch	2	Ing.	X		8'.3	GnRH 8:39	1.5ml						
31	24/02	L004	2ā	Qara	Manch Claro	3	Trang.			<5								
25	24/02	L013	2c	Chaq	Manch Claro	4	Trang.	X		8.3	GnRH 8:39	1.5						
17	24/02	L030	3ā	Qara	Blanco	3	Trang.	X		9.2	GnRH 8:43	1.5						
30	24/02	L024	2ā	Chaq	Manch Oscuro	3	Ing.			<5								
21	24/02	L006	2ā	Chaq	Manch Claro	3	Trang.			<5								
23	24/02	L018	2ā	Chaq	Manch Claro	5	Ing.	—	—	—								
18	24/02	L011	2ā	Chaq	Blanco	3	Ing.			<5								
22	24/02	L001	2ā	Qara	Blanco		Ing.	X		7	GnRH 9:02	1.5						

ANEXO 3 Registro de colecta y transferencia de embriones



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ": "Aplicación de biotecnologías reproductivas para la conservación y el mejoramiento genético de camélidos domésticos de los productores en la región Cusco"

NOMBRE DEL PRODUCTOR:

LUGAR:

RESPONSABLE:

CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES	
* ESFÉRICA	E
*ALARGADO	A
*IRREGULAR	I
*INVAGINADO	IV

REGISTRO DE LAVADO Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES FECHA:

DONADORA		ECOGRAFÍA CUERPO L							RECEPTORA					
Nº	ARETE	O.D.	Nº	O.I..	Nº	Nº DE EMB. LAVADOS	CLASIFICACIÓN / E. LAVADOS	observación 1	ARETE RECEPTORA	COMPORTAMIENTO	ARETE DONADORA	Nº DE EMB TRANS	CLASIF. DE E. TRANSFERIDOS	OBSERVACIÓN 2
6	0368	X	3CL	X	1CL Cavitario	2	2 Irregulares		(~~1365~~) 0670	tranquila.	0368	1 regular		hay CL = 0.8 y folículos 0.I39
									1307	tranquila	0368	1 regular		CL=12.1 O.Derecho
7	0365	X	2+1 CL	X	2+1 CL	6	1- Irregular (1) 4- esférico P 1 pera (4)		0838	tranquila	0365	(2) esférico 1 1P		CL = 10.5 mm O.Izq.
									0360	tranquila	0365	1 Irregular mas grande F		hay CL receptora
									0346 (~~0357~~)	tranquila	0365	1 Esférico grande		hay CL receptora 14.4 O.der.
									0352	tranquila	0365	1 E * Ayde (4)		hay CL receptora O.der 12.9 mm

ANEXO 4 Resultados del análisis estadístico mediante el software estadístico SPSS-25.

Tabla cruzada DIA DEL LAVADO *FORMA DEL EMBRIÓN LAVADO

Recuento

		FORMA DEL EMBRIÓN LAVADO				
		Alargado	Esférico	Invaginado	Irregular	Total
DIA DEL LAVADO	7	0	29	3	3	35
	8	3	17	8	30	58
Total		3	46	11	33	93

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	26,422[a]	3	,000
Razón de verosimilitud	29,578	3	,000
N de casos válidos	93		

a. 3 casillas (37.5%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1.13.

Resultados de la diferencia en las formas encontradas en el séptimo y octavo día

Estadísticas de grupo

	DIA 7 Y 8	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
PROMEDIO DE DIAMETRO DIA 7 Y 8	7	35	663193,14	149269,627	25231,172
	8	58	1533125,26	612687,219	80449,773

Resultado del promedio del diámetro embrionario del séptimo y octavo día

Estadísticas de grupo

	DIA DE LAVADO DE EMBRIONES	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
AREA	7	35	348666,40	152313,053	25745,605
	8	58	2139926,78	1583546,685	207929,866

Resultado del promedio del área embrionario del séptimo y octavo día

Tabla cruzada PREÑADAS *DIA DE LAVADO Y TRANSFERENCIA

Recuento

		DIA DE LAVADO Y TRANSFERENCIA		
		7	8	Total
PREÑADAS	PREÑADA	8	0	8
	PREÑADA	0	33	33
Total		8	33	41

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	41,000[a]	1	,000		
Corrección de continuidad[b]	34,880	1	,000		
Razón de verosimilitud	40,472	1	,000		
Prueba exacta de Fisher				,000	,000
Asociación lineal por lineal	40,000	1	,000		
N de casos válidos	41				

a.1 casillas (25.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1.56.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Diferencia del total de llamas preñadas en el séptimo y octavo día

Tabla cruzada FORMA DEL EMBRIÓN*PREÑADAS

Recuento

	PREÑADAS		
	Preñada E	Preñada I	Total
Esférico	7	0	7

FORMA DEL EMBRIÓN	Irregular	0	1	1
Total		7	1	8

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,000[a]	1	,005		
Corrección de continuidad[b]	1,469	1	,225		
Razón de verosimilitud	6,028	1	,014		
Prueba exacta de Fisher				,125	,125
Asociación lineal por lineal	7,000	1	,008		
N de casos válidos	8				

a. 3 casillas (75.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es .13.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla cruzada FORMA DEL EMBRIÓN*PREÑADAS

Recuento

		PREÑADAS				
		Preñada E	Preñada A	Preñada I	Preñada IV	Total
FORMA DEL EMBRIÓN	Esférico	10	0	0	0	10
	Alargado	0	2	0	0	2
	Irregular	0	0	18	0	18
	Invaginado	0	0	0	3	3
Total		10	2	18	3	33

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)

Chi-cuadrado de Pearson	99,000[a]	9	,000
Razón de verosimilitud	71,300	9	,000
Asociación lineal por lineal	32,000	1	,000
N de casos válidos	33		

a. 13 casillas (81.3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es .12.

Relación entre la tasa de preñez y la morfología embrionaria del séptimo y octavo día

Tabla cruzada DIÁGNOSTICO DE PREÑEZ*PROMEDIO DE DIÁMETRO DE EMBRIÓN

Recuento

		PROMEDIO DE DIÁMETRO DE EMBRIÓN		
		<1000	>1000	Total
DIÁGNOSTICO DE PREÑEZ	PREÑADA	0	1	1
	PREÑADA	7	0	7
Total		7	1	8

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,000[a]	1	,005		
Corrección de continuidad[b]	1,469	1	,225		
Razón de verosimilitud	6,028	1	,014		
Prueba exacta de Fisher				,125	,125
N de casos válidos	8				

a. 3 casillas (75,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla cruzada DIÁGNOSTICO DE PREÑEZ*PROMEDIO DE DIÁMETRO DE EMBRIÓN

Recuento

		PROMEDIO DE DIÁMETRO DE EMBRIÓN		
		<1000	>1000	Total
DIÁGNOSTICO DE PREÑEZ	PREÑADA	0	23	23
	PREÑADA	10	0	10
Total		10	23	33

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	33,000[a]	1	,000		
Corrección de continuidad[b]	28,435	1	,000		
Razón de verosimilitud	40,485	1	,000		
Prueba exacta de Fisher				,000	,000
N de casos válidos	33				

a. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,03.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Relación entre la tasa de preñez y la morfometría embrionaria del séptimo y octavo día

Tabla cruzada PROMEDIO DEL AREA DEL EMBRIÓN 7*PREÑADAS

Recuento

		PREÑADAS		
		PREÑADA	PREÑADA	Total
PROMEDIO DEL AREA DEL EMBRIÓN 7	<365.017	0	2	2
	>365.017	6	0	6
Total		6	2	8

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,000[a]	1	,005		
Corrección de continuidad[b]	3,556	1	,059		
Razón de verosimilitud	8,997	1	,003		
Prueba exacta de Fisher				,036	,036
N de casos válidos	8				

a. 4 casillas (100.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es .50.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla cruzada PREÑADAS*PROMEDIO DEL AREA DEL EMBRIÓN 8

Recuento

		PROMEDIO DEL AREA DEL EMBRIÓN 8		
		<2.184.292	>2.184.292	Total
PREÑADAS	PREÑADA	0	13	13
	PREÑADA	20	0	20
Total		20	13	33

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	33,000[a]	1	,000		
Corrección de continuidad[b]	28,944	1	,000		
Razón de verosimilitud	44,252	1	,000		
Prueba exacta de Fisher				,000	,000

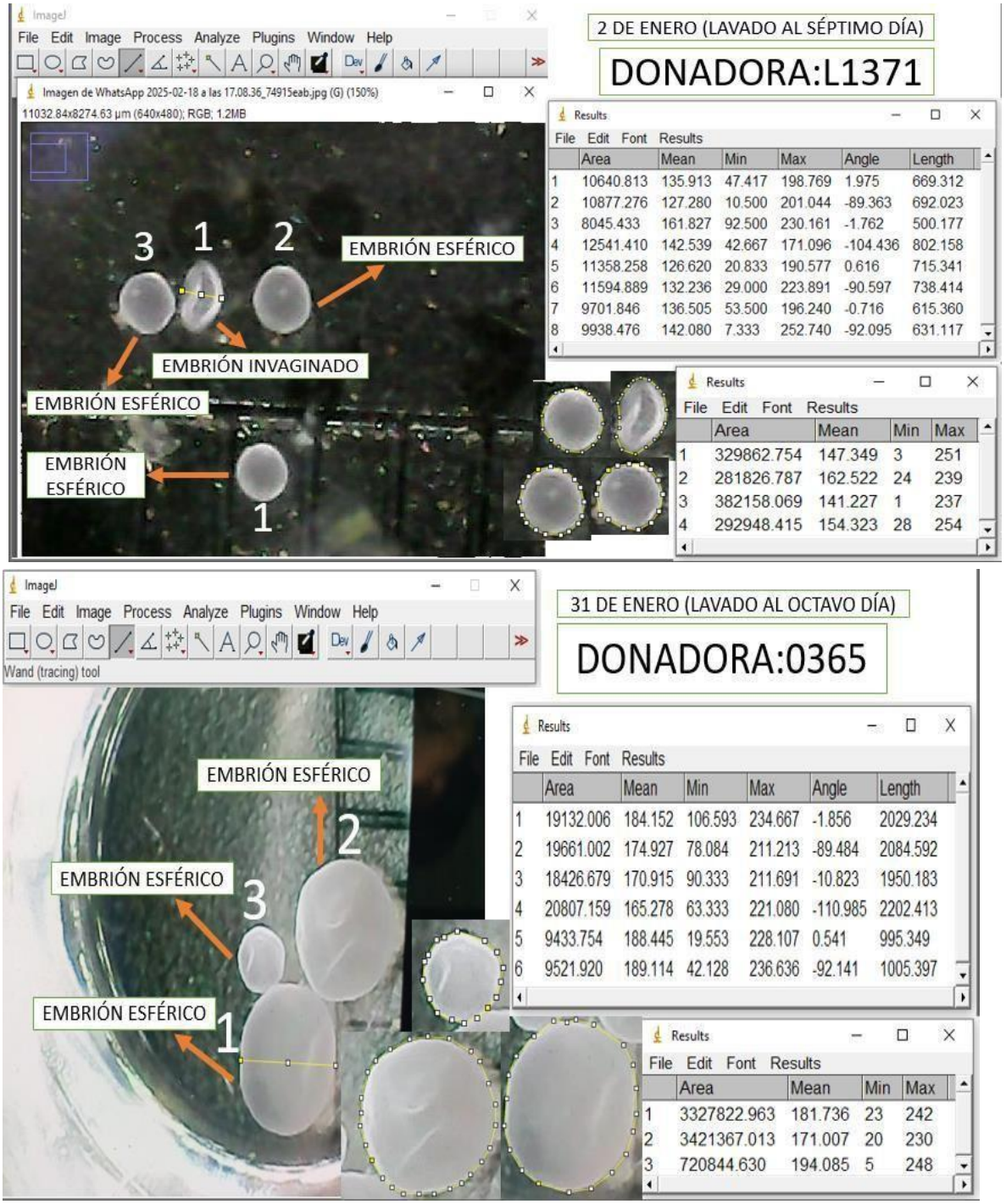
N de casos válidos	33				

a. 0 casillas (.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 5.12.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Relación entre la tasa de preñez y el área embrionaria del séptimo y octavo día

ANEXO 5 Programa de medición de embriones (diámetro y área) con el software j – image®.



ANEXO 6 Registro fotográfico

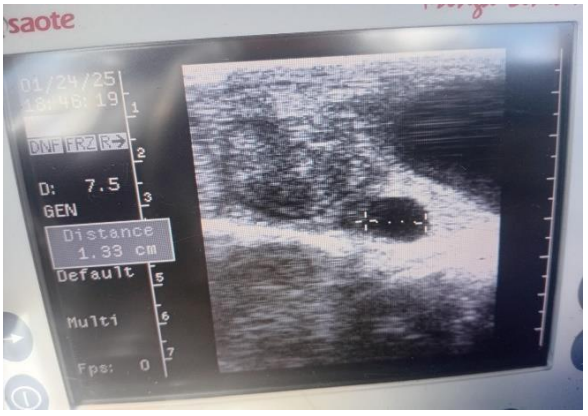




Fotografía 1. Selección y aplicación de la hormona GnRH a las llamas donadoras; **Fotografía 2**. Aplicación de la hormona eCG en las llamas donadoras; **Fotografía 3.** Aplicación de la hormona PGF2α en llamas donadoras



Fotografía 4. Materiales de campo para el protocolo de superovulación

Fotografía 5. Selección de llamas receptoras; **Fotografía 6.** Folículo preovulatorio >7mm en llamas receptoras



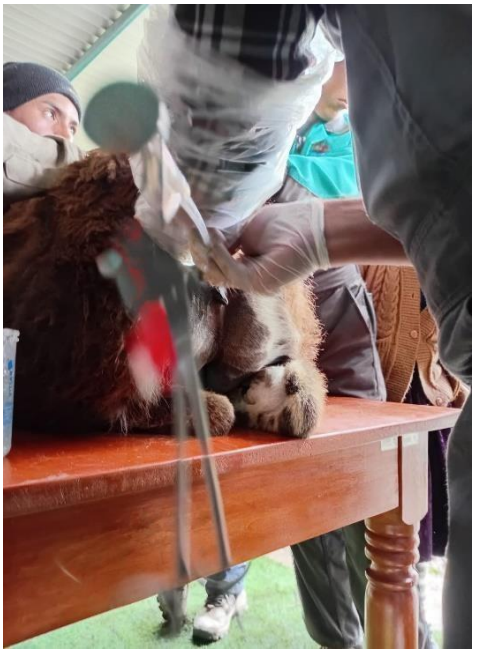

Fotografía 7. Empadre de llamas donadoras grupo del séptimo día; **Fotografía 8**. Empadre de llamas donadoras grupo del octavo día.



Fotografía 9. Ecógrafo portátil DRAMISKI con transductor lineal de 7 MHz.




Fotografía 10. Ecografía de la donadora para ver presencia de cuerpos lúteos; **Fotografía 11.** Presencia de 5 cuerpos lúteos en la donadora


Fotografía 12. Evacuación del contenido rectal y desinfección de la región perianal; **Fotografía 13.** Fijación del catéter Foley y lavado del cuerno uterino.

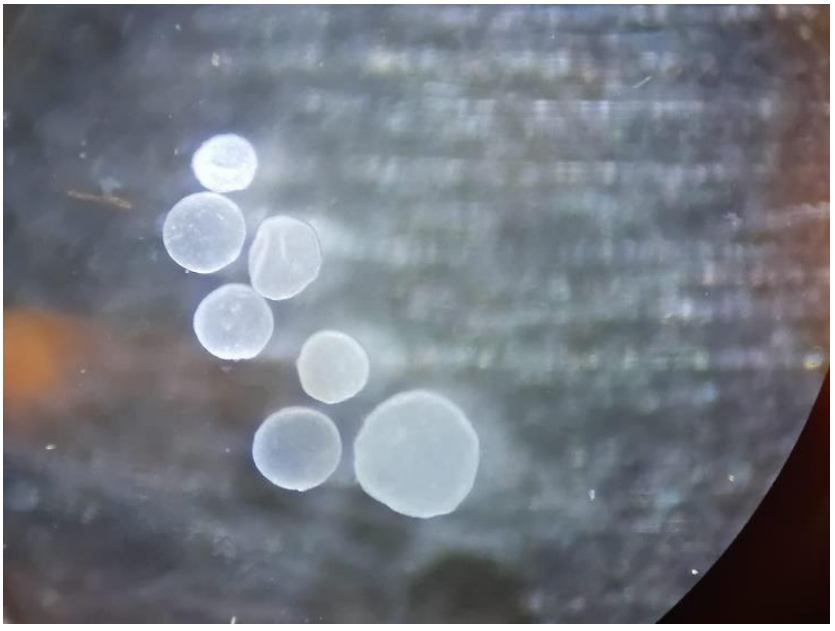



Fotografía 14. Aplicación del Anestésico (Lidocaína 1 ml) para el lavado uterino; **Figura 15**. Aplicación del tranquilizante (Xilasina 1.2 ml) para el lavado uterino.





Fotografía 16. Armado del flujo continuo de doble vía.; **Fotografía 17.** Recuperación de embriones



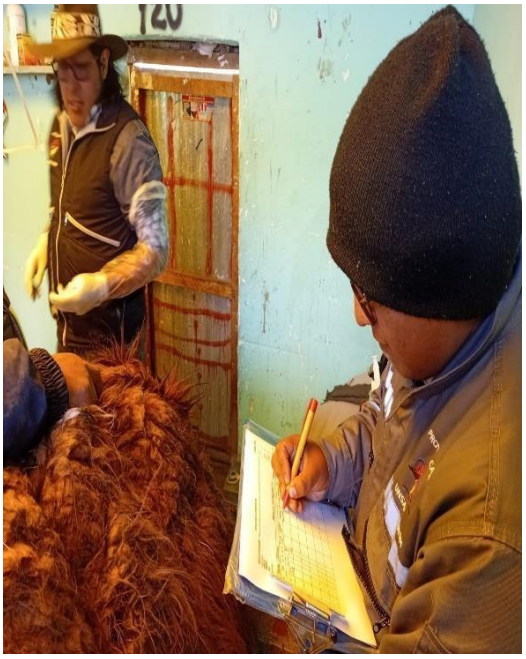
Fotografía 18. Embriones colectados



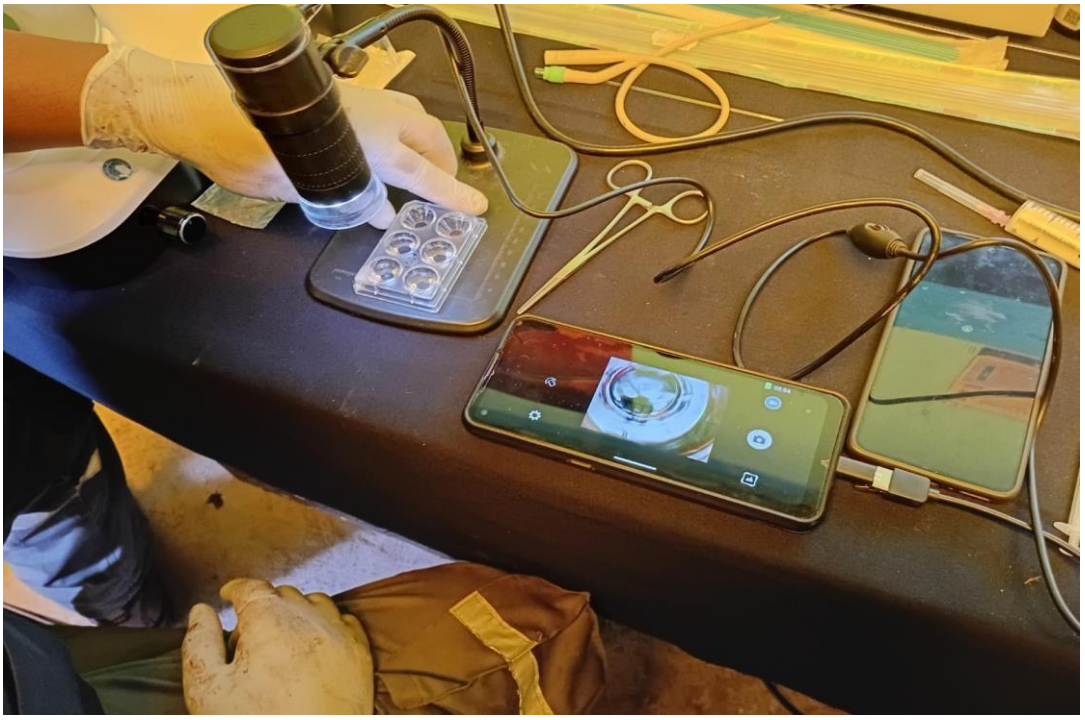
Fotografía 19. Equipo de trabajo de recuperación de embriones.







Fotografía 20. Búsqueda de embriones con el estereoscopio en la placa petri; **Fotografía 21.** Clasificación de los embriones según su morfología; **Fotografía 22.** Registro de la clasificación y total de embriones colectados



Fotografía 23. Fotografiado de los embriones colectados para el análisis morfométrico.



Fotografía 24. Materiales y equipos utilizados en el lavado uterino







Fotografía 25. Rotulado de los datos en la pajilla de 0.25 ml; **Fotografía 26**. Transferencia de embriones a las llamas receptoras; **Fotografía 27.** Presencia de Cuerpo lúteo en las llamas receptoras.





Fotografía 28. Llamas diagnosticadas como preñadas 30 días post transferencia confirmado mediante ecografía; **Fotografía 29.** Presencia de vesícula embrionaria confirmando gestación



Fotografía 30. Equipo de diagnóstico de preñez