

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD
DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROPECUARIA**



TESIS

**EFEECTO DEL TIEMPO Y MEDIO DE REFRIGERACIÓN EN EMBRIONES DE
ALPACA (*Vicugna pacos*) SOBRE LA TASA DE PREÑEZ POST TRANSFERENCIA
INTERESPECIE**

Presentado por:

Bach. EDWIN ACHINQUIPA CHACO

Para optar al título profesional de INGENIERO
AGROPECUARIO

ASESORES:

Mg.Sc. Hernán Carlos Cucho Dolmos

Dr. Teodosio Huanca Mamani (†)

Dr. Lucio Enrique Ampuero Casquino

MVZ. Jhuniór Ccopa Ccallata

CUSCO-PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: EFEECTO DEL TIEMPO Y MEDIO DE REFRIGERACIÓN EN EMBRIONES DE ALPACA (Vicugna pacos) SOBRE LA TASA DE PREÑEZ POST TRANSFERENCIA INTERESPECIE

presentado por: EDWIN ACHINGUIPA CHACO con DNI Nro.: 74751103 presentado por: con DNI Nro.: para optar el título profesional/grado académico de INGENIERO AGROPECUARIO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 6%.

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 se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica 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** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 13 de JUNIO de 2024

Firma

Post firma HERNAN CARLOS CUCHO DOLMOS

Nro. de DNI 23952222

ORCID del Asesor http://orcid.org/0000-0001-7170-9795

ORCID 3^{er} Asesor: 0001-6159-7451

ORCID: 23962676

ORCID 4^{to} Asesor: 0002-1581-0394

ORCID: 70201757

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.

2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:360891724

NOMBRE DEL TRABAJO

Efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca (Vicugna pacos) sobre la tasa de p

AUTOR

Edwin Achinquipa

RECUENTO DE PALABRAS

27452 Words

RECUENTO DE CARACTERES

140385 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

102 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

4.2MB

FECHA DE ENTREGA

Jun 12, 2024 7:45 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jun 12, 2024 7:46 PM GMT-5

● 6% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 6% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Base de datos de trabajos entregados
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)
- Material bibliográfico
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente

DEDICATORIA

A nuestros seres divinos que nos cuidan y protegen.

A mi adorada mamá:

Brígida, por darme la vida y brindarme todo tu cariño infinito los cuales supe conllevar en mi formación personal y profesional, hoy somos reflejo tuyo.

A mi querido padre:

Julián, por ser el pilar de toda la familia que formaste y que hoy cosechas todas las recompensas de las cosas que sembraste.

A mis amados hermanos:

Flor de maría, José Édison, Sonia y Nélica quienes son el orgullo de mamá; siempre estaremos unidos para afrontar todas las dificultades que se nos presente.

A mi niña bonita:

Yobana Idalia por mostrarme toda la ternura del amor

A mi hermano de elección:

Jhon Franklin, con quien nos esforzamos cada mañana para seguir adquiriendo experiencias y conocimiento impartido por nuestros maestros.

A mi amada familia:

Por su incondicional apoyo en momentos imprescindibles y darme las reflexiones oportunas durante mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Escuela Profesional de Ingeniería Agropecuaria.

Al Centro de Investigación y Producción (CIP) Quimsachata de la Estación Experimental Illpa-Puno del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA).

Al Mg.Sc. Hernán Carlos Cucho Dolmos por su exigencia y buena dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación, así como su culminación

Al Dr. Teodosio Huanca Mamani (+) por su apoyo constante, facilitarme los equipos, materiales, logística, semovientes y certero asesoramiento.

Al Dr. Lucio Enrique Ampuero Casquino, por todos sus conocimientos compartidos en el proceso del presente trabajo de investigación.

Al MVZ. Jhunion Ccopa Ccallata, por su gran profesionalismo, experiencia y su correcto asesoramiento en el periodo de desarrollo de la presente investigación; y por su manera de impartir valores.

Al Tec. Leónidas Hanco Gardenia, por mostrarme el camino a seguir, sus exigencias, sus consejos para la vida.

A todo el equipo técnico que labora en el CIP Quimsachata; Sra. Gladys, Sr. Porfirio, Sr. Marino, Sr. Ancalla, Sr. Primitivo; por darme las condiciones necesarias para ejecutar el presente trabajo.

Al Ing. Nils Flores Huarco, por encaminarme a la senda de los camélidos sudamericanos.

A los integrantes del jurado, por sus correctas observaciones y aportes en la revisión que fueron de gran ayuda para la culminación de este trabajo.

A mis amigos Kelvin, Dina, Mercy, Yossel, Margoth, Carlos por bellos momentos compartidos, su amistad y apoyo brindado.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	x
RESUMEN	xi
SUMMARY	xii
INTRODUCCIÓN	1
I. PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO	3
1.1. Identificación del problema objeto de investigación.....	3
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.2.1. Problema General.....	4
1.2.2. Problema Específico	4
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	6
2.1. Objetivos	6
2.1.1. Objetivo general.....	6
2.1.2. Objetivos específicos	6
2.2. Justificación.....	7
III. HIPÓTESIS	9
3.1. Hipótesis.....	9
3.1.1. Hipótesis general.....	9
3.1.2. Hipótesis Específicas	9

IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
4.1. Antecedentes de la investigación	10
4.1.1. Antecedentes internacionales.....	10
4.1.2. Antecedentes Nacionales	12
4.2. Bases teóricas	14
4.2.1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra.....	14
4.2.2. Fisiología reproductiva de la hembra.....	15
4.2.3. Dinámica folicular	16
4.2.4. Desarrollo embrionario	20
4.2.5. Migración embrionaria.....	21
4.2.6. Reconocimiento maternal de la preñez	21
4.2.7. Diagnóstico de gestación	22
4.2.8. Ecografía de ultrasonido	23
4.2.9. Palpación rectal.....	24
4.2.10. Uso del macho para la prueba de rechazo.....	24
4.2.11. Factores que afectan la aptitud reproductiva	25
4.2.12. Técnicas de criopreservación.....	26
4.2.13. Transferencia de Embriones.....	32
4.2.14. Hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH)	34
V. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN	35
5.1. Lugar de estudio	35
5.2. Materiales y Metodología.....	36
5.2.1. Materiales de oficina y de campo	36
5.2.2. Materiales de experimentación	36
5.2.3. Instrumentos para la colecta y empajillado de embriones	36
5.2.4. Equipos	37
5.3. Metodología	38
5.3.1. Material biológico.....	38

5.3.2.	Recuperación de los embriones	39
5.3.3.	Profilaxis del área de evaluación	39
5.3.4.	Procedimiento de conservación de embriones	40
5.4.	VARIABLES DE ESTUDIO.....	47
5.5.	Diseño experimental.....	47
5.6.	Descripción de las muestras	47
5.7.	Análisis estadístico.....	48
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
6.1.	Tasa de preñez y natalidad del medio refrigeración Holding + Galactosa en tres distintos tiempos	50
6.2.	Tasa de preñez y natalidad del medio refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina en tres distintos tiempos.	51
6.3.	Tiempo y medio de refrigeración en embriones.....	54
VII.	CONCLUSIONES.....	56
VIII.	RECOMENDACIONES.....	57
	REFERENCIAS.....	58
	ANEXOS	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes del medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.....	43
Tabla 2 Diseño experimental	47
Tabla 3. Calidad y diámetro de embriones refrigerados transferidos	48
Tabla 4. Ubicación del cuerno transferido y tamaño del cuerpo lúteo.....	48
Tabla 5 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez en el medio de refrigeración Holding + Galactosa.	50
Tabla 6 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez y natalidad post transferencia Interespecie en el medio Holding + Galactosa.....	51
Tabla 7 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez en el medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.....	52
Tabla 8 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez y natalidad post transferencia Interespecie en el medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.....	53
Tabla 9 Tasa de preñez según tiempo y medio de refrigeración	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de ubicación del anexo Quimsachata (INIA)-Puno (Elaboración propia)	35
Figura 2 Protocolo de sincronización (colectas repetidas)	38
Figura 3 Embrión excelente de 7 a 8 días (Elaboración propia).....	41
Figura 4 Embrión bueno de 7 a 8 días (Elaboración propia)	41
Figura 5 Embrión regular de 7 a 8 días (Elaboración propia).....	41
Figura 6 Embrión malo de 7 a 8 días (Elaboración propia).....	42
Figura 7 Cargado de pajillas	43
Figura 8 Esquema del diseño experimental	46
Figura 9 Análisis factorial de correspondencia medio, tiempo y preñez.	55

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Registro de donadoras de embriones.....	69
Anexo 2 Registro de colecta de embriones.....	70
Anexo 3 Registro de sincronización de receptoras.....	73
Anexo 4 Registro de transferencia de embriones	74
Anexo 5 Programa de embriones refrigerados.....	75
Anexo 6 Registro de transferencia de embriones en receptoras (llamas).....	82

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- GnRH : Hormona Liberadora de Gonadotrofinas
- PGF2a : Prostaglandina
- SFB : Suero Fetal Bovino
- PBS : Buffer Fosfato Salino
- TCM : Medio de Cultivo para Tejidos
- BSA : Suero Albumina Bovina
- CIP : Centro de Investigación y Producción
- INIA : Instituto Nacional de Innovación Agraria
- CL : Cuerpo Lúteo
- MHz : Mega Hertz
- IETS : Sociedad Internacional de Tecnología de Embriones

RESUMEN

La siguiente investigación tuvo como propósito esencial determinar el efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca sobre la tasa de preñez, para ello, se evaluaron tres periodos de tiempo (12, 18 y 24 horas) utilizando medios de refrigeración como Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina a 5°C de temperatura. La investigación se efectuó en el CIP (Centro de Investigación y Producción) Quimsachata, del INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria) ubicada en el departamento de Puno. Se emplearon 41 alpacas adultas que fueron divididas en 3 grupos, los cuales, fueron donadoras de embriones por ovulación simple a través de colectas sucesivas. De 54 embriones recuperados por un procedimiento no quirúrgico, 6 embriones de calidad excelente y buena se empajillaron en pajuelas de 0.25 ml para cada tiempo de refrigeración (12,18 y 24h) con el medio Holding + Galactosa; 6 embriones de calidad excelente y buena se empajillaron en pajuelas de 0.25 ml para cada tiempo de refrigeración (12,18 y 24h) con el medio TCM-199+HEPES+SFB (suero fetal bovino) +Gentamicina. Se descendió la temperatura hasta 5°C (-0.5°C en 1' con 10 ml de agua a 2°C); para ello, se utilizó 36 llamas adultas como receptoras de embriones, sincronizadas para ser transferidas a las 12, 18 y 24 horas, los embriones fueron transferidos ipsilateral al ovario que presentaba el cuerpo lúteo. A partir de esto, se obtuvo una natalidad del 50% de las dos llamas diagnosticadas como preñadas (1/2) a las 12 h de refrigeración con el medio Holding + Galactosa, y en un 100% (3/3) a las 24 h, mientras, que por el medio TCM-199+HEPES+10% SFB (suero fetal bovino) +Gentamicina, no se obtuvieron crías nacidas. Por tanto, se concluye que la tasa de preñez no se ve influenciada por el tiempo y el medio de refrigeración de embriones, (sig.= 0.3116) ya que solo alcanza el 33% de preñez post transferencia interespecie en el medio Holding + Galactosa de 12; 18 h y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina a las 18 h. En el resto de casos la tasa de preñez es de 50% enmarcando que el uso a las 24 horas es el más recomendado.

Palabras clave: Camélidos, refrigeración de embriones, transferencia embrionaria, tasa de preñez.

SUMMARY

The following research had as its essential purpose to determine the effect of the time and medium of refrigeration in alpaca embryos on the pregnancy rate, for this three periods of 12, 18 and 24 hours were evaluated using Holding + Galactose and TCM - 199 + HEPES + 10% FBS (Fetal Bovine Serum) + Gentamicin At 5°C temperature. The research was carried out at the CIP (Centro de Investigación y Producción) Quimsachata, of the INIA (Insituto Nacional de Innovación Agraria) located in Puno. 41 adult alpacas were used and divided into 3 groups, which were embryo donors by simple ovulation through successive collections. Of 54 embryos recovered by a non-surgical procedure, 6 embryos of excellent and good quality were strawed in 0.25 ml straws for each refrigeration time (12, 18 and 24h) with the Holding + Galactose medium; 6 embryos of excellent and good quality were strawed in 0.25 ml straws for each refrigeration time (12, 18 and 24 hours) with the TCM – 199 + HEPES + FBS (fetal bovine serum) + Gentamicin medium. It was cooled until it dropped to 5°C (-0.5°C in 1' with 10 ml of water at 2°C); Likewise, 36 adult llamas were used as embryo recipients, synchronized to be transferred at 12, 18 and 24 hours. The embryos were transferred to the corpus luteum through an ipsilateral horn. From this, a calf born from the two llamas diagnosed as pregnant (1/2) was obtained after 12 hours of embryo conservation in a Holding + Galactose medium, and 100% (3/3) at 24 h, while no pups were obtained using the TCM – 199 + HEPES + 10% FBS + Gentamicin medium. Therefore, it is concluded that the pregnancy rate is not influenced by the time and medium of embryo cooling (sig.= 0.3116), since the pregnancy rate was 33% (2/6) after transfer of interspecies embryos using the Holding + Galactose medium and 50% (3/6) with TCM-199 + HEPES + 10% FBS + Gentamicin.

Keywords: Camelids, embryo cooling, embryo transfer, pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

Se considera la existencia de cuatro especies de camélidos sudamericanos (CSA), la alpaca (*Vicugna pacos*) que fue domesticada de la vicuña (*Vicugna vicugna*) y la llama (*Lama glama*) domesticada del guanaco (*Lama guanicoe*) (Ayala, 2018). El territorio peruano tiene la mayor población de alpacas, estos animales son fundamentales y afectan en el desarrollo socioeconómico en las regiones andinas, ya que en estas regiones es primordial la dinámica ganadera, sector por el cual la población genera ingresos (Cáceres , 2016). Además, las regiones peruanas con mayor número de alpacas son: Puno (1 427 816), Cusco (517 965), Apurímac (302 609) y Ayacucho (193 408) (INEI, 2012).

En el caso del desarrollo de un programa para seleccionar a través de las particularidades deseadas de un rebaño de alpacas mediante la crianza tradicional, es una práctica dificultosa y lenta, a razón del prolongado tiempo de preñez, con una duración de casi un año, de lo que se infiere la posibilidad de una cría anual, entonces, en el transcurso de la vida de las hembras sólo es posible la obtención de un promedio de 6 crías (Cassa, 2018). Por tanto, para hacer frente a lo anteriormente descrito, se hace necesario el uso de los avances biotecnológicos para la reproducción de estos animales por medio de transferencia embrionaria de tipo fresca (Gandarillas & Torres, 2021). Asimismo, La transferencia embrionaria es una biotecnología alternativa para el mejoramiento genético utilizando individuos superiores, que viene siendo estudiada para su adecuación a las características fisiológicas reproductivas particulares de los camélidos sudamericanos (Huanca, 2005).

No obstante, los niveles de desarrollo alcanzados a través de este método en alpacas aún son incipientes, dado que gran parte de las investigaciones son referentes de las características fisiológicas, pero en cuanto a la reproducción son escasos, entonces el acervo teórico es aún débil para esta especie (Huanca & Ccopa , 2019). En función a éste panorama, es necesaria la aplicación de la biotecnología reproductiva, que pueda acelerar la mejora genética de forma eficaz y a un intervalo de tiempo más corto frente al proceso convencional.

En la actualidad, la refrigeración de embriones de camélidos domésticos facilita el comercio nacional de embriones dentro del país a las comunidades más lejanas, permitiendo el

intercambio genético que puede ser muy beneficioso ya que accede una mayor diversidad genética dentro de un grupo y para el control de rasgos genéticos, asimismo, los embriones de llama se pueden refrigerar a 5°C y mantenerse en almacenamiento hasta 24 h sin pérdidas significativas de viabilidad. (Aller et al., 2015)

Se considera que la producción de alpacas en las poblaciones alto andinas representa uno de los aspectos mayoritarios en relación a los ingresos económicos, ya que en la actualidad es una de las actividades de gran relevancia; por tanto, para obtener un mejor rendimiento productivo es necesario emplear biotecnologías reproductivas, siendo una de ellas la transferencia de embriones que ayuda al aumento de la productividad de los ejemplares. Por ello, la aplicación de la refrigeración de embriones es una de las metodologías que se utilizan en la reproducción de camélidos, pero que aún se vienen experimentando ensayos que permitan desarrollar protocolos apropiados de congelación de embriones.

El siguiente estudio se efectuó con el fin de determinar el efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie, con la finalidad de prolongar el tiempo de viabilidad de los embriones y permitir su transporte mediante la refrigeración durante un día post colecta, a fin de utilizarlo a manera de una técnica para mejorar la genética de estos camélidos sudamericanos domésticos y generar animales de buena calidad genética.

I. PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO

1.1. Identificación del problema objeto de investigación

La aplicación de avances biotecnológicos reproductivos en alpacas ha sido irregular y descoordinada a lo largo del tiempo. En lugar de seguir un plan estratégico y continuo, varios investigadores han empleado estas técnicas de forma aislada, basándose en los resultados de sus propios estudios. Sin embargo, estos investigadores reconocen que la técnica tiene una baja eficiencia, lo que dificulta su uso adecuado y representa un gran desafío. La biotecnología tiene en cuenta la anatomía y la fisiología reproductiva de estos animales, así como el empleo de la ultrasonografía. Esto indica que se están haciendo esfuerzos para comprender mejor la reproducción de las alpacas y buscar soluciones más efectivas en el futuro (Huanca et al., 2013).

La criopreservación embrionaria no se ha desarrollado con éxito en los camélidos sudamericanos, solo unas pocas investigaciones se han llevado a cabo en la criopreservación de embriones de llamas; los embriones de camélidos sudamericanos son comúnmente transferidos inmediatamente después de la recuperación de las donadoras, porque la crioconservación de embriones de camélidos es complicada debido a su estado de desarrollo (blastocisto eclosionado) y su tamaño relativamente grande, sin embargo, se obtuvieron 3 crías nacidas de llama (21.5%), donde se realizó la transferencia de embriones a 14 receptoras con embriones refrigerados durante 24 horas (Aller et al., 2015).

El desarrollo de biotecnologías reproductivas en camélidos ha sido restringido por distintos factores, es por ello, que estas experiencias fueron desarrolladas en menor medida en la región del Cusco. A partir de este problema surge el interés de determinar los efectos de la refrigeración de embriones en la tasa de preñez, ya que es imprescindible diseñar protocolos eficientes para la refrigeración de embriones que son recolectados por ovulación simple en las alpacas donadoras de embriones y que éstas se encuentren con una adecuada condición corporal.

La transferencia de embriones en vacunos cuenta con amplia evidencia científica, pero en camélidos domésticos los resultados son menos consistentes debido a la variabilidad de la respuesta ovárica a los protocolos de ovulación simple; múltiple y a la baja eficiencia de la recuperación de los embriones. Además, el éxito de esta biotecnología depende de la calidad de

los embriones obtenidos in vivo, el tamaño de los embriones y la adecuada sincronización del embrión producido con el estado reproductivo de la hembra receptora para aumentar las probabilidades de preñez con la transferencia de embriones.

No obstante, la refrigeración de los embriones de los camélidos domésticos podría ser tomada como una alternativa que permita extender la viabilidad de los embriones; y ser aplicable para planes de mejora genética. La biotecnología de la transferencia en camélidos domésticos con embriones refrigerados de calidad genética comprobada permitiría llegar a los lugares más recónditos y que esté disponible para su implementación por los camelicultores en sus hatos ganaderos.

Es por ello, que el presente trabajo titulado: “Efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa en preñez post transferencia Inter especie” se realizó para evaluar la eficacia de mantener embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) metabólicamente inhibida pero viable a 5°C durante 12, 18 y 24 horas utilizando dos medios de refrigeración Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.

1.2. Planteamiento del problema

1.2.1. Problema General

¿Cuál será el efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie?

1.2.2. Problema Especifico

¿Cuál es el efecto de los tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie en medio de refrigeración Holding?

¿Cuál es el efecto de los tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie en medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina?

¿Cuál es el efecto del tiempo (12, 18 y 24 horas) y medio (Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina) de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo general

Determinar el efecto del tiempo y medio de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Quimsachata, del Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA –Puno.

2.1.2. Objetivos específicos

- Comparar la tasa de preñez en tres distintos tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) en el medio de refrigeración Holding + Galactosa.
- Comparar la tasa de preñez en tres distintos tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) en el medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.
- Comparar la tasa de preñez según tiempo (12, 18 y 24 horas) y medio (Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina) de refrigeración en embriones de alpaca (*Vicugna pacos*).

2.2. Justificación

Los camélidos sudamericanos presentan bajos índices reproductivos (tasa de retorno a la onda folicular, tasa de natalidad y tasa de preñez); sin embargo, empleando biotecnologías reproductivas como la transferencia de embriones, se pueden mejorar estos índices reproductivos (Perez et al., 2019).

Últimamente, en las transferencias embrionarias no se emplean métodos quirúrgicos, el índice de preñez oscila entre 44 y 50%; este resultado supera en demasía a los resultados de los estudios previos; en función a investigaciones previas, los embriones refrigerados constituyen una buena medida en situaciones donde la congelación no sea viable; se puede usar para el envío de los embriones en el transporte a lugares con ausencia de donantes; es una técnica que se usa también en la conservación embrionaria de la receptora asincrónica hasta que cuenta con la sincronización debida (Mamani et al., 2013).

La refrigeración podría ser un método sencillo y confiable para almacenar y detener el desarrollo de embriones de alpaca, al igual que se ha demostrado con los embriones de llamas; esto sería de gran utilidad para programas de transferencia de embriones y la producción comercial de forma temporal; los resultados obtenidos indican que los embriones de alpaca podrían ser refrigerados a 5°C durante 24 horas, mostrando un comportamiento similar al de los embriones de llamas en este proceso(Aller et al., 2015). Los embriones de alpaca tienen un comportamiento similar a los de las llamas en relación a la refrigeración debido a que ambas especies pertenecen a la misma familia de los camélidos sudamericanos; por lo tanto, comparten similitudes en su fisiología y desarrollo embrionario (Aller et al., 2015). Dado que estas dos especies están estrechamente relacionadas y comparten características biológicas similares, las estrategias y técnicas utilizadas para la mejora genética y la reproducción asistida en llamas pueden ser extrapoladas con éxito a las alpacas, lo que ofrece nuevas oportunidades para la industria ganadera y la conservación genética de ambas especies (Aller et al., 2015).

Para refrigerar el embrión se necesita el transporte del mismo en Solución Buffer Fosfato (PBS) que es envasado en pajuelas de 0.25 ml, después se procede a colocarlo en un artefacto refrigerante, se usa también el hielo con el propósito de controlar la disminución de la temperatura semejante a estabilizar el semen congelado (Ruiz, 2022).

Con la refrigeración de embriones de los camélidos domésticos se pretende difundir el material genético a nivel de comunidades; embriones recuperados a partir de animales élite y que pueda lograrse preñeces efectivas (Estación Experimental Agraria, Illpa - Puno, 2011).

Esta técnica, en la posteridad es una medida a ser considerada para desarrollar estrategias de mejoramiento genético en las alpacas, de esta forma la reproducción de las especies tendrá las características idóneas y en tiempos menores, también, permitirá reducir los intervalos generacionales a través de la utilización de los ejemplares jóvenes (Elguera , 2015).

La mejora de la reproducción en alpacas está directamente relacionada con el aumento de su densidad poblacional; esto impulsa a las entidades municipales, provinciales, regionales y al gobierno central a considerar políticas de mejoramiento genético para fomentar el crecimiento de los criadores; al mejorar la calidad genética de las alpacas, se pueden aumentar las ganancias económicas de las familias dedicadas al sector ganadero; es una estrategia que beneficia tanto a los criadores como a la economía en general (Elguera , 2015).

En este contexto, surge el interés de conocer el efecto de la refrigeración de embriones sobre la tasa de preñez, porque beneficiará de manera directa a los productores alpaqueros. Ellos tienen que enfrentar los factores que limitan la reproducción de sus animales día a día y que requieren de conocer innovadoras alternativas que les permitan mejorar la eficiencia reproductiva en sus animales; esto conlleva porque que gran parte de los descendientes nacidos en el rebaño se obtienen por cruzamientos al azar y algunos no presentan las características fenotípicas apropiadas, razón por la cual es necesario la aplicación de programas para mejorar la genética que incorpore la biotecnología reproductiva que sirva de medio técnico para propagar el paquete genético deseable que contribuya en el incremento del ingreso económico de los productores.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis general

Los tiempos y medios de refrigeración en embriones de Alpaca (*Vicugna pacos*) influyen en la tasa de preñez post transferencia interespecie.

3.1.2. Hipótesis Específicas

Los tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de Alpaca (*Vicugna pacos*) influyen en la tasa de preñez post transferencia interespecie en medio de refrigeración Holding + Galactosa.

Los tiempos de refrigeración (12, 18 y 24 horas) en embriones de Alpaca (*Vicugna pacos*) influyen en la tasa de preñez post transferencia interespecie en medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.

Los tiempos (12, 18 y 24 horas) y medios (Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina) de refrigeración en embriones de Alpaca (*Vicugna pacos*) influyen en la tasa de preñez post transferencia interespecie.

IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Antecedentes de la investigación

4.1.1. Antecedentes internacionales

Marino (2015) determinó el porcentaje de preñez en alpacas primerizas y multíparas, donde el autor utilizó la hormona GnRH (Hormona Liberadora de Gonadotrofinas) como inductor de ovulación para que de esta manera se realice la inseminación y la obtención de embriones, que posteriormente fueron recolectados mediante el método del lavado uterino. Para estimular la formación de cuerpos lúteos, administró una dosis de 8.4 mg de la hormona sintética denominada Acetato de buserelina. A partir de ello, el autor reporta que el porcentaje de preñez fue del 12.5% en alpacas primerizas y del 37.5% en las multíparas. En general, se alcanzó un total del 50% de preñez a los 60 días después de la transferencia.

Lutz et al. (2020) desarrollaron una técnica práctica y eficaz para la crioconservación de embriones preimplantados de alpaca, para lo cual emplearon tres soluciones: la primera estuvo compuesta por glicerol 1.4 molar, el segundo fue glicerol 4.6 M + etilenglicol 3.6 M y el tercero fue glicerol 3.4 M + etilenglicol 4.6 M. Los embriones se recolectaron sin cirugía 7 días posteriores al servicio mediante el lavado uterino, luego fueron cultivados a 37°C durante 20 a 22 horas. De las tres receptoras, sólo se detectó una receptora preñada que recibió el embrión colocado en soluciones atemperadas para luego ser vitrificado, llegando a tener una tasa de supervivencia del embrión del 25%. La cría nació con un peso de 8.1 kg y a los 7.5 meses, no presentó anomalías.

Palomino et al. (2018) evaluaron la viabilidad de utilizar un protocolo de transferencia de embriones en alpacas; se indujo la sincronía ovárica mediante tratamientos con GnRH, FSH (Hormona Foliculoestimulante) y Coprostenol; para determinar la respuesta de superovulación, se realizó el lavado del útero para recuperar los embriones; hubo sospecha que cuatro de cada seis receptoras se encontraron preñadas, sólo se confirmó que una alpaca estaba preñada mediante un examen de ultrasonido 2 meses después de la transferencia.

Karen y Mansur (2020) estimaron la incidencia de mortalidad embrionaria tardía y fetal temprana (LEM/EFM) luego de la transferencia de embriones (ET) e investigar los factores que afectan las proporciones de LEM/EFM en la especie *Camelus dromedarius*, de donde se obtuvo que las tasas de preñez en los días 19 y 60 y las proporciones de LEM/EFM fueron 54.5%, 34.1 %

y 37.5 %, respectivamente. Usando el análisis de regresión logística para las evaluaciones, la forma de los embriones tuvo un efecto (sig. <0.05) en las tasas de preñez en el día 19 y 60.

Sumar (2013) presentó un informe actualizado sobre la transferencia de embriones en camélidos sudamericanos domésticos, con dos casos exitosos de gestación interespecífica. En el primer caso, una llama receptora parió una cría de alpaca donante, y en el segundo caso, una alpaca receptora parió a una cría de guanaco donante. Los embriones se obtuvieron y se conservaron en suero de ternera fetal o en medio comercial de mantenimiento. De las siete llamas receptoras con embriones de alpaca, cuatro (57%) quedaron preñadas y se confirmó la gestación a los 15, 25 y 35 días después del apareamiento con el donante. Sin embargo, una de ellas abortó a los seis meses; las tres crías de alpaca nacidas de llamas fueron sanas y tuvieron un peso corporal promedio de 10.5 kg, lo que supera en 3.5 kg al peso promedio de las crías de alpaca nacidas de alpacas (7.0 kg). De las seis alpacas receptoras con embriones de llama, tres (50%) quedaron preñadas y se confirmó la gestación a los 15, 30 y 45 días después del empadre. No obstante, una de ellas abortó a los 4.5 meses. Las dos crías de llama nacidas de alpacas fueron sanas y tuvieron un peso corporal aproximado de 8.0 kg.

Aller et al. (2015) evaluaron la eficacia del mantenimiento de embriones de llamas metabólicamente inhibidos. Los embriones de llama se enfriaron a 5 °C y se mantuvieron en almacenamiento hasta 24 h sin pérdidas significativas de viabilidad; logrando obtener tres hembras preñadas de 14 receptoras (21.5%) que fueron diagnosticadas y parieron tres crías machos sanos normales en término (358.365 y 366 días de gestación).

Abd-Elfattah et al. (2020) evaluaron el efecto del enfriamiento de embriones de camellos dromedarios sobre tasa de preñez, el enfriamiento de embriones resultó en tasas de preñez significativamente más altas en días 30 (45.6% vs 17.0%, respectivamente, $P < 0.005$) y 60 (42.1 vs 9.4%, respectivamente, $P < 0.005$) y una tasa de pérdida de preñez significativamente más baja (11.1 % frente a 66.6 %, respectivamente, $P < 0.005$) en comparación a los resultantes del enfriamiento de embriones plegados; ni el tamaño del embrión ni el día del lavado tuvo un efecto significativo en las tasas de preñez posterior a las transferencias embrionarias; en conclusión, la preñez podría obtenerse después de la transferencia de embrión de camello refrigerado por 5 días.

4.1.2. Antecedentes Nacionales

Quispe (2020) evaluó cómo la posición de la transferencia embrionaria influye en el desplazamiento y la localización del embrión, así como en la probabilidad de gestación en alpacas. Para ello, empleó 120 alpacas receptoras y 25 alpacas que aportaron los embriones; según los datos obtenidos, el porcentaje de hembras que quedaron preñadas al realizar la transferencia ipsilateral fue del 53.33% (G1) y 66.67% (G3) cuando tenían el cuerpo lúteo en el ovario derecho e izquierdo, respectivamente; en cambio, para las transferencias contralaterales derechas e izquierdas, las tasas de preñez fueron del 36.67% (G2) y 30% (G4), respectivamente; el grupo G3 mostró una variación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en comparación con los grupos G2 y G4; se concluyó que el diámetro de los embriones tiene un efecto significativo en la tasa de preñez en alpacas, siendo el porcentaje más alto de preñez (57.14%) observado en embriones con un tamaño mayor a 3 mm (milímetros).

Cassa (2018), en un estudio realizado en alpacas, reporta que consiguió la superovulación de embriones de alpaca (*Vicugna pacos*) mediante la aplicación de hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) y utilizó la técnica de vitrificación para su preservación. Para ello, se utilizaron los crioprotectores sucrosa, xilosa y polietilenglicol, y se almacenaron en pajillas a una temperatura de -196°C durante un minuto. Al comparar el tamaño de los embriones desvitrificados, se obtuvo una tasa de preñez del 60% (3/5).

Ruiz (2018) realizó una evaluación del cultivo de embriones en diferentes atmósferas, encontró que las concentraciones de gases utilizadas en el oviducto de algunas mamíferas (5% O_2 , 90% N_2 y 5% CO_2) son adecuadas para el desarrollo *in vitro* de embriones de alpaca. Para lograr el mayor potencial de formación de embriones *in vitro*, los ovocitos de alpaca requieren más de 38 horas de maduración; se han explorado diferentes medios de cultivo para mejorar las tasas de desarrollo embrionario, y los medios SOF-IVC (Fluido Oviductal Sintético-Cultivo *in Vitro*) y KSOM han demostrado ser adecuados para el cultivo de embriones de alpaca; el uso del suero fetal de alpaca en diferentes concentraciones ha demostrado incrementar las tasas de ovocitos en la etapa de Metafase II después de la maduración *in vitro*.

Huanca (2022) al realizar una evaluación sobre la recuperación de embriones de alpacas y llamas, de la ovulación simple y superestimulación mediante la aplicación de 1000 UI de

tratamiento con eCG, se logró obtener embriones transferibles (de calidad excelente y buena) en un porcentaje que osciló entre el 60% y el 76% de los embriones recuperados de llamas y alpacas; todo ello, según la escala de la Sociedad Internacional de Tecnología de Embriones (IETS); estos hallazgos sugieren que la transferencia embrionaria podría ser una técnica prometedora para mejorar la reproducción asistida en camélidos sudamericanos.

Pérez et al. (2019) realizaron la evaluación de los aspectos que afectan los procesos de transferencia embrionaria que se obtienen por ovulación simple; de acuerdo a lo obtenido, Según el autor, de 93 lavados consecutivos realizados, se recuperaron el 88.68% de los embriones en las alpacas Huacaya y el 80% en las alpacas Suri. Además, las tasas de preñez fueron del 67.57% en las alpacas y del 66.67% en las llamas, no hubo contrastes de significancia. La preñez depende de varios factores, como el grado del embrión (excelente o bueno), el tipo de donadora (Huacaya) y el estado físico de las receptoras (2 o 3 en una escala de 5).

Quispe (2021) determinó los efectos de la viabilidad y calidad de embriones en llamas, para ello usó una solución crioprotectora de 1.51M de EG (Vigro - Ethylene – Gycol ®, Bioniche – Animal - Health, Pullman, USA) para congelarlos mediante un método específico, durante cinco minutos, con una temperatura ambiente. Dando como resultado (19/24) 79.16% de embriones sobrevivientes a la congelación. Una de las consecuencias de este procedimiento es en cuanto a la viabilidad y calidad de los embriones posteriores a la congelación, se aminora en 20.84%.

Vivanco et al. (2018) compararon la efectividad de la crioconservación de embriones de alpaca producidos *in vivo* a través de la congelación lenta versus vitrificación. Los embriones se lavaron y mantuvieron en medio de mantenimiento (1 L de PBS + 1 g de Glucosa + 136 mg de piruvato de sodio + 0,4 % de BSA + 50 mg de monosulfato de kanamicina) a 23 °C durante hasta 1 h y se distribuyeron en 2 grupos para congelación lenta para transferencia directa (n = 14 embriones) o vitrificación (n = 10 embriones); la tasa para preñez en cada grupo de congelación lenta y vitrificación, respectivamente, fueron 2/7 (29%) y 0/5 (0%); la diferencia no fue significativa ($P > 0.05$) según la prueba exacta de Fisher. No se detectaron hembras con doble preñez.

4.2. Bases teóricas

4.2.1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra

Las dimensiones y la morfología ovárica sufren variaciones dependiendo la edad y los contenidos foliculares y luteales, en promedio puede tener longitudes que van entre los 5 a 12 mm con un peso de 1.9 y 2.4 g; en el caso de que la hembra ya haya parido en más de una ocasión el ovario se dispone morfológicamente de forma ovalada y aplanada en la parte lateral, la caracterización superficial es irregular debido a la cantidad folicular con diámetros de 3-5 mm; los ovarios tienen aspectos lobulados ya que cuentan con contenidos foliculares y cuerpo lúteo, cada una de estas estructuras se encuentra revestido por pliegues extensos de mesosalpinx cuya morfología es cónica Bursa ovárica, la parte apical de esta conforma un orificio circular para la comunicación con la fimbria del oviducto (Rodríguez & Moresco, 2019).

El oviducto es un conducto que se caracteriza por ser delgado y accidentado, se dispone en una cantidad de 2 para cada cuerpo reproductor, cuenta con una medida longitudinal de 15 y 20 cm (centímetros), este elemento conductual comunica las superficies ováricas con el útero; esta unión se produce por medio de una abertura cuya morfología es de papila protuberante; la parte mencionada se denomina istmo, la misma que funciona como un esfínter con el propósito de prevenir el movimiento retrógrado de fluidos contenidos en la cavidad uterina; es multifuncional, una función importante es la captación de los ovocitos que provienen del medio ovárico, así como transportar y almacenar el fujo de esperma que se deposita en el medio uterino; también predispone el medio para la fecundación además del comienzo para que el embrión pueda desarrollarse (Pezo et al., 2014)

Acorde a Aguilar et al. (2014) la cavidad uterina de las alpacas es bicorne, su disposición morfológica es a manera de una “Y” y presenta cuernos uterinos con una medida longitudinal promedio de 7.5 cm, el cuerpo es en demasía corto, en el caso de que la hembra no se encuentre en periodo de gestación, el útero se ubica en la porción interna pélvica. Los genitales se encuentran suspendidos en la parte abdominal y pélvica por ligamentos de amplitud considerable; el cuerno izquierdo del útero tiene mayor dimensión que el derecho desde la etapa fetal hasta la pubertad, este contraste es más notorio en aquellas hembras que parieron en más de una ocasión, considerando que la mayoría de las gestaciones se efectúan en el cuerno izquierdo en 98% de los casos (Tibary, 2015). El útero tiene una mucosa que se compone de epitelio cilíndrico, en el caso

de la submucosa el componente es tisular fibroso con presencia de glándulas uterinas chicas, en las fases foliculares hay un aumento del tono y edema uterino, por otra parte, en las fases lúteas este órgano se relaja y es homogéneo (Gandarillas & Torres, 2021).

El cérvix de las alpacas guarda una similitud considerable con el de las vacas, estas tienen pliegues anulares en una cantidad de 2 a 3, cuentan con una medida longitudinal promedio de 2 a 5 cm. Su apertura o cierre depende del funcionamiento endocrino, es así que se da la dilatación para el momento de la cópula, al momento de la gestación se contrae para que la cavidad uterina no tenga contaminación alguna durante las etapas embrionarias o fetales (Gutiérrez, 2017).

Se denomina vagina al conducto que conecta con el cérvix hasta la región de la vulva, posee una medida longitudinal de 7 a 12 cm, y 1 a 2.5 cm de diámetro, los pliegues longitudinales son los que conforman su mucosa, la parte del fórnix vaginal cuenta con una profundidad de 0.5 a 1 cm, esta se encuentra dispuesta desde la vagina hasta el útero; la porción del himen o sus derivados representan la división existente entre la vagina y la vulva, esta última mide 3cm, donde la parte del clítoris es de tamaño menor (Tibary, 2015).

4.2.2. Fisiología reproductiva de la hembra

A. Pubertad

Una caracterización puntual del periodo de la pubertad en las alpacas no es fácil de realizar, ya que estos animales no cuentan con un ciclo estral; aunque una gran parte de las alpacas hembra son receptivas sexualmente cuando se encuentran entre los 12 a 14 meses de edad, pese a que se comprobó la dinámica de los ovarios, donde el folículo tiene una dimensión que excede los 5mm cuando se produce la ovulación inducida; la presencia de la pubertad es dependiente a factores como el medio en el que se desarrolla el animal, en especial el estado nutricional de estos, de esa forma esta etapa surge una vez los animales cuentan con un 60% de su peso adulto, esto significa 33 a 36 kg; los índices de concepción y el sostenimiento de la preñez dependen de los pesos de las hembras al momento del empadre; lo anterior mencionado se posibilita cuando las hembras cuentan con un estado nutricional óptimo, donde el peso corporal promedio es de 33 kg (UNAM, 2020).

En el territorio peruano, existen praderas pobres, en estos la hembra tiene una maduración lenta razón por la cual su reproducción se da a partir de los dos años; para las alpacas hembras, las prácticas reproductivas generalmente se dan a los 2 años (Castellaro, 2015).

B. Foliculogénesis

Las reservas foliculares principales, se forman en el desarrollo del feto o en el periodo posterior al nacimiento, en ocasiones estos no cesan su crecimiento a lo largo de la vida del animal o hasta agotar las reservas, en situaciones en las que los folículos surgen de las reservas, continúan su crecimiento hasta el momento en el que el animal ovula o hasta la degeneración folicular, los folículos de dimensiones considerables son los encargados de secretar estrógenos al medio ovárico en la fase de estro, esto se reduce rápidamente cuando llega el pico hormonal luteinizante. Para que los folículos pueden crecer adecuadamente deben darse procesos con el fin de proliferar y diferenciar los componentes celulares de las tecas y de la granulosa por medio del flujo hormonal, esto genera que los elementos foliculares tengan mayor capacidad en la producción de estradiol, además reaccionan a la gonadotropina, el estradiol es un determinante para el folículo que recibirá la LH requeridos en la ovulación y luteinización; los cambios o variaciones que se suscitan en las respuestas que dan la granulosa y la teca en los signos gonadotrópicos suspenden el desarrollo de los folículos y comienzan el estado de atresia (Vásquez et al., 2020).

El origen folicular de la alpaca se considera en relación al décimo mes de edad, aunque la hembra joven en su mayoría no recibe al macho hasta el décimo segundo mes o el décimo cuarto mes de edad (Rodríguez & Moresco, 2019).

4.2.3. Dinámica folicular

La alpaca hembra que no se expone a los machos, tienden a desarrollar una onda folicular dispuesta en tres etapas para su desarrollo, a efecto de ello se recluta a un conjunto folicular a partir del cual se realiza la selección de un folículo para que este crezca, se diferencie y pueda alcanzar dimensiones ovulatorias adecuadas que sean menores o iguales a 7mm; los otros elementos foliculares se atresia; los periodos que se presentan se relacionan a los momentos en los que el folículo crece, madura y su regresión; al momento en el que el elemento folicular dominante impide que los demás elementos foliculares puedan desarrollarse; donde la dimensión del

compuesto folicular dominante y de los elementos foliculares menores es una correspondencia inversa (Pérez et al., 2021).

De acuerdo a Hanco et al. (2015) las ondas foliculares duran 13.8 días aproximadamente, en el periodo de crecimiento la duración es de 4.8 ± 1.5 días; para la fase de maduración se emplean 5 ± 1.6 días y regresión 4.0 ± 1.1 días; 20 a 25 días; 22.6 ± 2.5 días; donde la etapa de crecimiento dura una media de 9.2 ± 2.8 días; para las fases de maduración la duración es de 5.2 ± 1.4 días y regresión 8.2 ± 2.2 días; los contrastes establecidos son una consecuencia de los estados de lactación de los animales estudiados.

Los intervalos entre una onda folicular existente y una emergente del elemento folicular dominante, este tiempo puede variar a causa de las dimensiones foliculares de los elementos dominantes, para la alpaca es de 15.8 ± 0.6 días y en llamas de 18 ± 2.6 días (Zampini et al., 2017).

A. Estro

A diferencia de otras especies domésticas, las alpacas poseen ciclos irregulares en su reproducción, es así que la hembra que no se encuentra en estado de preñez suele tener una dinámica folicular extensa, esta puede llegar a exceder los 36 días una vez pasada la monta; los ciclos en los que las alpacas son receptivas se ven interrumpidos por etapas cortas de anestro, estas etapas no exceden los dos días; las intensidades de los periodos estrales se determinan en función al tiempo que son expuestas al macho y la continuidad de la época; aparentemente la alpaca es un animal que no cuenta con una dinámica folicular establecida, se vincula a periodos donde se aumentan las actividades de estradiol, así como sucede con las ovulaciones constantes de la oveja o vaca y también en animales con ovulaciones inducidas como son las conejas; en las alpacas como en otros camélidos se reemplazan los cuerpos foliculares de forma rápida por un periodo prolongado que otorga al animal un índice constante de estrógenos, esto asegura una receptividad constante frente al macho (Aguilar et al., 2014).

Las investigaciones acerca de la dinámica endocrina en momentos de cópula, en este momento los niveles de estradiol se incrementan ($10-20$ pg ml⁻¹) semejantes al pico producido en relación al desarrollo folicular dominante; de esa forma se posibilitan niveles de estradiol suficientes para sostener una continuidad para que las actividades neurales puedan controlar las dinámicas sexuales de los animales, esto podía ocurrir cuando la duración entre pico y pico no

contemplan niveles considerables (quizás 1-2 días); el periodo corto de anestro en la hembra que no se encuentra en estado de gestación a razón de las asincronías ocasionales que existe entre ondas continuas del desarrollo de los folículos, es así que una nueva onda se vincula a la producción de estradiol, esta última se retrasa y da paso a la desensibilización del centro neural (Gandarillas & Torres, 2021).

B. Ovulación

Esta es una etapa fundamental para los procesos reproductivos de los animales, de la misma forma para aquellos que ovulan espontáneamente o de forma inducida; varios investigadores se enfocaron de la manipulación de las actividades reproductivas, la alpaca es parte del grupo de animales con necesidad de una ovulación inducida, es decir son necesarios los estímulos externos que permitan la liberación de los óvulos (Mamani et al., 2013)

Un folículo previo a la ovulación presenta una triada de variaciones en el transcurso de la ovulación, en la primera, los citoplasmas de los montículos del ovario maduran (entre las células de la etapa de la capa granulosa, el adelgazamiento y rotura de la pared folicular externa); un método alternativo para inducir las ovulaciones consiste en administrar un inyectable con 1 mg de hormona luteinizante (NHI-LH-SIIOVINE) o una dosis de 4-8 g de hormona de liberación gonadotrópica (GnRH: Buserelin Hoechst). Estas sustancias estimulan la producción de óvulos de forma eficaz. (Mamani et al., 2013; Quina, 2017).

C. Actividad lútea

Numerosos estudiosos se encargaron de la dinámica lútea; las disparidades en relación al tiempo de las funciones lúteas aparentemente se vinculan con el tiempo existente entre el momento de la cópula y la ovulación, existe evidencia que sugiere una regresión del cuerpo lúteo es más rápida en el ovario derecho vinculada a la dinámica lútea de los cuernos uterinos derechos (Quina, 2017).

Una de las mayores dimensiones en relación de los cuerpos lúteos que se haya registrado, tiene una dimensión de 10 y 15 mm, lo anterior descrito para el caso de la alpaca, en este mismo lineamiento, las dimensiones del cuerpo lúteo de la llama se alcanza en periodos posteriores al

empadre con un tiempo de siete a nueve días, en este momento la progesterona es producida en su máximo nivel; posterior a los cuatro días de la ovulación, es posible la observación de los cuerpos lúteos por medio de la ultrasonografía transrectal; generalmente, el cuerpo lúteo tiene ecogenicidad media, donde la parte más visible es la parte central, aunque en ocasiones las alpacas presentan esta parte central que no es posible visualizar debido a que se encuentran llenas de fluidos a partir de los 3 a 8 mm; la producción de la progesterona se da en cantidades menores en el medio lúteo a partir del noveno o décimo primer día posterior al empadre, la dimensión disminuye al 50% al doceavo día del empadre; el ciclo vital de los cuerpos lúteos oscila entre los ocho a nueve días, la hembra puede ser receptiva sexual al décimo segundo o décimo cuarto día posterior al empadre en caso la hembra no logre concebir; al igual que varias especies, existe una correspondencia entre las características de los elementos lúteos y los niveles de progesterona en la alpaca (Mamani et al., 2016; Ruiz, 2022)

La cantidad de progesterona sanguínea y pregnanediol de la glucosa en orina comprende un aspecto sencillo para examinar la dinámica de las secesiones que hay en el medio lúteo, el descenso de los niveles de progesterona sanguínea es perceptible de uno a tres días previos, en este momento morfológicamente los cuerpos lúteos disminuyen; cuando la progesterona excede de a 2 ng/ml (6.4 nmol/L) indica la madurez y funcionalidad del medio lúteo, algunos autores demarcaron el intervalo de del ciclo lúteo, en situaciones en las que la progesterona excede el 1nmol/L (0.32 ng/ml); esta hormona se encuentra en su pico más alto al tercer día posterior del empadre; para el caso de la alpaca, en días después, al décimo o décimo primer día una vez ocurra la unión en los casos donde las hembras no lograron concebir (Ruiz, 2022).

Investigadores realizaron estudios sobre la fase luteal corta, Sumar (2013) en un trabajo que estudió doce ejemplares, dos de estos tuvieron fases luteales de solamente cuatro días, a partir de los exámenes de imagenología demostraron que el folículo dominante, con una dimensión que oscila entre los 7 a 10 mm, tuvieron una falla en la ovulación, pese a que se liberó la LH en magnitudes normales que respondieron a la cópula. Según Ruiz (2022) los elementos foliculares referidos desarrollan compuestos tisulares propios de su medio, estos poseen una cavidad central de dimensiones considerables, su ciclo vital tiene una media de cinco días; la célula de tipo granulosa en los folículos dominantes llega a contar con capacidades luteinizante, aunque no

cuentan con los medios para realizar la secreción de las hormonas que corresponden al medio folicular; este proceso en los elementos foliculares fue observado por medios laparoscópicos para casos en los que las hembras estaban o no empadradas.

4.2.4. Desarrollo embrionario

Cuando las células reproductivas logran fecundar, empieza la división del cigoto, este recorre las cavidades de los oviductos con dirección a la cavidad uterina en consecuencia del accionar del esteroide; el cigoto se divide por primera vez a la décima séptima o decima novena hora posterior a la ovulación, este tiempo se considera en promedio, cuando el embrión se divide en dos, la duración de ello oscila entre las seis a ocho horas en comparación a cuando el cigoto está dividido en cuatro componentes celulares donde hay una extensión hasta de veinte horas a un día, es en este momento y debido a la duración que este represente el embrión ingresa a la cavidad uterina (Mendoza et al., 2013).

Inmediatamente cumplido el quinto o sexto día de los embriones, esto puede variar de acuerdo a las especies, el blastómero conforma espacios reducidos entre sus semejantes, el cual da como resultado una morfología a manera de círculo lobulado llamada mórula, una vez esta culmine su formación, se da la separación de los blastómeros en dos conjuntos celulares internos y externos; los primeros cuentan con convergencias gap, uno de sus lados hace posible que las células se mantengan comunicadas, y la otra porción lateral mantienen la unión de los elementos celulares que los componen; por otro lado, los elementos celulares externos desarrollan convergencias angostas, las mismas que son producidas a efectos de la variación de las particularidades permeables del medio celular, posterior a la conformación de estas convergencias angostas, en la parte interna de los embriones el fluido se acumula; el momento en el que los embriones están en medio de zona pelúcida (ZP), se denomina blastocisto, a partir de ello se generan dos grupos celulares, el primero es interno y se encarga de originar a los embriones, el segundo se dispone en la porción periférica y desarrolla trofoblasto, el mismo que interviene en la selección del consumo de los nutrientes (Gandarillas & Torres, 2021).

En este transcurso, se genera la división correspondiente sin que esta signifique el incremento de las masas celulares, en contraste con la mitosis celular somática; la mórula, que se

componen de ocho a dieciséis elementos celulares, en este momento hay unos escasos organelos citoplasmáticos, estas se encuentran dispuestas en las partes nucleares, los compuestos de vitelo son periféricas en función al citoplasma; la elongación mitocondrial tiene lugar durante la mórula, esto supone el aumento de la dinámica del metabolismo; es posible observar el nucleolo cuando el cigoto está dispuesto en ocho elementos celulares, se relaciona al aumento de ribosomas (Landeo et al., 2016).

De acuerdo a los registros referentes a las alpacas, los embriones inician su desarrollo un día posterior a la ovulación, donde a partir del primer día hasta el quinto posteriores al periodo ovulatorio, el embrión se encuentra ubicado en el oviducto, el día uno el embrión se encuentra en su estadio celular, después se bifurca y empieza a multiplicarse potencialmente; es hasta el sexto día en el que los embriones se encuentran en la cavidad uterina, en el séptimo, octavo y noveno día, llega al estadio de blastocisto temprano, colapsada y elongada respectivamente. al sexto día los embriones cuentan con una dimensión de 480 um, al octavo día la dimensión embrionaria es de a 880 um (Picha, et al., 2013).

4.2.5. Migración embrionaria

Hace referencia al transporte que tienen el embrión desde el cuerno derecho al izquierdo, cuando la unidad embrionaria tuvo su origen en la porción derecha, esta acción se efectúa cuando los embriones se ubican en el estadio de blastocisto entre el octavo y noveno día posterior al momento de la monta (Picha et al., 2013).

4.2.6. Reconocimiento maternal de la preñez

Este proceso debe ser posterior al décimo día del apareamiento, para prevenir que se libere la $PGF2\alpha$ (Prostaglandina) del medio endometrial contribuye a mantener un correcto funcionamiento del CL (Cuerpo Lúteo), que es esencial para el desarrollo embrionario en la alpaca. El desarrollo vesicular embrionario y de los embriones se produce entre los días siete y cuarenta y cinco después de la copulación, tanto en las hembras que no parieron como en las que tuvieron varios partos. El blastocisto se recupera en la cavidad uterina izquierda de las alpacas el séptimo día después de la copulación. En general, las vesículas embrionarias se pueden observar al duodécimo día, y el 50% de los CL se localiza en la cavidad ovárica contralateral. El noveno día

después del periodo ovulatorio, los embriones se alargan y coinciden con el desplazamiento embrionario hacia la parte izquierda de la cavidad uterina. (Barraza, 2019).

Este proceso ocurre en base a las particularidades fisiológicas que produce la presencia del embrión, como la producción de interferón tau (IFN-t), con el propósito de que los mecanismos luteolíticos no sean desencadenados debido a la presencia de la prostaglandina, de esa forma se puede asegurar los niveles adecuados de la progesterona para sostener el estadio de preñez; hay situaciones intervinientes de dicho proceso, en el que se encuentran los órganos, tales como los medio ováricos, uterinos y embrionarios; asimismo, se consideran también presentes las hormonas como el estrógeno, progesterona y prostaglandina, que existen en la implantación (Ramos et al., 2020).

Este reconocimiento temprano se puede observar a partir del octavo día hasta el décimo día, una vez ocurrida la monta, este proceso puede ocurrir hasta en el décimo sexto día, como lo es para el caso de las vacas, lo anterior demuestra que en el caso de las alpacas el reconocimiento es anterior, las extensiones de alantoides ocurre posterior a la migración para su posterior expansión en la porción izquierda uterina y por el cuerpo la porción derecha (Picha et al., 2013).

4.2.7. Diagnóstico de gestación

Como señala Palomino (2012), el perneo es la única técnica de diagnóstico de gestación en alpacas, que consiste en la palpación externa del vientre de la hembra. Esta técnica solo se puede aplicar en los últimos meses de preñez, cuando el feto ya ha crecido lo suficiente para ser percibido. Esto implica que las hembras con problemas reproductivos no son identificadas a tiempo y permanecen en ese estado por varios años, sin recibir el tratamiento adecuado. Este factor limita la producción y genera pérdidas económicas significativas. Los pasos para realizar el perneo en alpacas son los siguientes:

1. Con cuidado, la ayudante sujeta a la alpaca hembra mientras realiza su labor en el corral. El espacio está cercado y es pequeño para facilitar el manejo de los animales.
2. Para inmovilizar a la alpaca, se sujeta el cuello y la cola. Esto permite el manejo del animal sin dañarlo ni estresarlo.
3. El técnico palpa a la alpaca de pie y sujeta, para examinar sus órganos.

4. Desliza con delicadeza sus manos por los dos lados del vientre, acariciando suavemente.
5. Después, las manos se desplazan hacia el abdomen inferior.
6. El feto se puede detectar y examinar mediante el tacto cuando la hembra está en gestación.
7. Cuando el feto no se puede visualizar con claridad tras varios intentos de examen, se realiza la inspección de la vulva y los pezones, los cuales deben encontrarse desarrollados en hembras preñadas.
8. Si no hay gestación, la vulva y los pezones se ven pálidos.
9. En caso de que persistan las incertidumbres después de considerar estas indicaciones, se procede a tumbar con delicadeza a la hembra para y verificar con detalle.
10. Para saber si la hembra está preñada, se revisa si en el vientre existen vestigios de feto, la vulva y los pezones están hinchados, entonces se puede determinar que se encuentra preñada en sus primeros meses.
11. Para saber si una hembra está o no preñada, se puede observar su apariencia. Si tiene el vientre flácido, la vulva y los pezones pálidos, y no muestra crecimiento, está vacía.
12. Para identificar a las hembras que no están gestantes, se les aplica un colorante en el lomo. De esta manera, se pueden separar del grupo de hembras gestantes que se trasladarán a la zona de parto.

4.2.8. Ecografía de ultrasonido

Uno de los métodos para diagnosticar la preñez, es la ecografía que pueden ser efectivas desde el vigésimo sexto día, aunque tiene mayor efectividad cuando se realiza entre los días 30 y 75 días de gestación; es una buena alternativa para que el diagnóstico sea el más acertado, a partir del reconocimiento del estado se pueden emplear las medidas adecuadas para conseguir los objetivos reproductivos; además del reconocimiento del estado de gestación también es una medida que permite el conocimiento sobre las complicaciones que pueden suscitarse, como la identificación de los fluidos presentes en el ambiente embrionario, permite la observación del sexo del nuevo animal; este procedimiento es costoso, debido a que se requieren equipos especializados y conocimientos precisos razón por la cual es una técnica que no se emplea con frecuencia; entonces, es una técnica empleada para la producción a escala industrial, por ello la técnica que en su mayoría se recurre al procedimiento de la palpación rectal (Massa et al., 2023).

4.2.9. Palpación rectal

Se considera que esta es una de las prácticas más usuales, es un procedimiento especializado, en el cual se examina manualmente por medio del recto; este método implica la utilización de los guantes, donde se aprovecha la disposición del aparato reproductor en paralelo a la zona rectal de la hembra; las palpaciones determinan y permiten identificar las variaciones de la cavidad uterina que ocurren cuando el animal se encuentra en estado de preñez; la praxis de esta técnica poco dificultosa y no representa un costo elevado, los guantes se recomiendan para mantener los cuidados de salubridad, ya que en el medio árido, las heces fecales no obstaculizan la evaluación ultrasonográfica, pues la presencia de restos de excretas podría causar un riesgo de lesiones al ejecutar esta práctica, además de posibles infecciones; un equipamiento correcto se debe componer de guantes industriales, botas de goma, delantales impermeables, recurso hídrico caliente y el lubricante (Perez et al., 2021). Con el efecto de establecer un diagnóstico en etapas tempranas con el empleo de esta técnica, se necesita un examen completo de la totalidad de la extensión uterina; en un primer momento es importante la identificación del cérvix, ya que será el punto de partida para la orientación del examinador; esta técnica permite considerar menores cantidades de inversión, para el procedimiento en alpacas, los examinadores deben tener manos pequeñas debido a las dimensiones de las cavidades de la alpaca, no hay evidencias ni registros acerca de los efectos negativos de esta práctica (Rodríguez & Moresco, 2019).

4.2.10. Uso del macho para la prueba de rechazo

Para determinar el estado de gestación en las alpacas, existen diversos métodos que se aplican según las condiciones y los recursos disponibles. Aguilar et al. (2014) señalan que los más utilizados son: la introducción de machos para provocar la reacción de rechazo de las hembras preñadas, las palpaciones rectales para detectar el tamaño y la forma del útero, el análisis de la concentración sérica para medir los niveles hormonales, y la ultrasonografía para observar el desarrollo fetal.

En este método se observa la dinámica sexual de las hembras, constituye una de las primeras técnicas empleadas para este efecto, en su mayoría las hembras si se encuentran preñadas rechazan a los machos, aunque no es del todo efectiva debido al comportamiento agresivo de algunos ejemplares machos, ya que estos pueden ser agresivos y someter a la hembra, la

empleabilidad de esta técnica es posible a partir del décimo quinto día posterior al servicio (Cárdenas, 2013).

4.2.11. Factores que afectan la aptitud reproductiva

El hecho reproductivo es importante para el ciclo vital de todos los animales, ya que es a partir de este fenómeno que se determina el número de los resultados en relación al número de hembras, este hecho es dependiente de las disposiciones genéticas de los ejemplares empleados, a su vez determina la selección de la especie; para abordar la problemática reproductiva se debe considerar el funcionamiento total de los sistemas, considerando los contrastes entre los aparatos reproductores de las hembras y machos; para los dos sexos se disponen componentes orgánicos primarios y los que regulan estos; para tomar las medidas necesarias en cuanto a la reproducción animal es importante el conocimiento de estos; aunque existen estudios acerca de la reproducción en las alpacas, aún existe la necesidad de investigar el tema, en zonas donde la producción de estos animales es explotada, la misma que es dependiente de la exclusividad alimentaria en base a pasto natural, de menor longitud, con dureza, este se encuentra en zonas muy altas, la particularidad de estas depende de las estaciones, tienen menor concentración proteica, lo que no tiene impacto significativo en los parámetros reproductivos de los CSA, aunque en contraste con las demás especies es menor (Aguilar et al., 2014).

Cuando se exponen a las alpacas a condiciones nutritivas de calidad por medio de la alimentación con alfalfa, hay un contraste significativo en el peso de la hembra y sus crías, este contraste llega a ser de hasta veinte kilos en una edad de 3 años; lo que afirma una buena disposición genética de la alpaca frente a una mejora en la alimentación; las respuestas son semejantes para la producción de la lana, ya que también se incrementan sus dimensiones con un peso adicional de 0.6 kg; los ejemplares alimentados con alfalfa no tuvieron timpanismo, no cuentan con dimorfismo sexual, el manejo de las alpacas se da por medio de la separación de los machos y las hembras, actualmente la dinámica es diferente ya que ambos se encuentran en un espacio común, esto genera una problemática en los procesos reproductivos de estos animales (Pezo et al., 2014).

Este es un aspecto fundamental para la preñez, especialmente en los casos en los que los animales cuentan con un CC (condición corporal) que oscila entre los dos o tres. Esto guarda relación con los periodos de parto, donde hay cambios considerables que afectan a la maduración de los óvulos y folículos, ya que estos se deterioran. También se altera la funcionalidad inmune y el medio uterino es propenso a cambios, lo que puede afectar negativamente la capacidad de concebir y mantener una gestación exitosa; el estado nutricional y la condición corporal son factores cruciales en la reproducción de los animales, incluyendo a las alpacas; un adecuado manejo nutricional y una condición corporal óptima son fundamentales para garantizar la salud reproductiva de los animales y maximizar las tasas de concepción y supervivencia de los embriones (Aller et al., 2015).

Este aspecto se encuentra vinculado al incremento de la preñez, donde existen mejores efectos en el caso de los ejemplares con 2 y 3 de CC; este resultado es posible de vincular a los estadios bovinos de parto para el caso de ejemplares con menos de 2 CC, en esta situación el flujo hormonal se ve afectado y en consecuencia la maduración folicular y ovulación, entonces se deterioran los ovocitos viables y su funcionalidad en cuanto al CL, donde hay una disminución de la progesterona, también ocurre la alteración funcional de los cuerpos celulares inmunes, lo que vuelve a la hembra más susceptible a patologías uterinas, observando que el lugar y la profundidad de la TE no posee influencia sobre la preñez de las llamas y alpacas (Pérez et al., 2019).

4.2.12. Técnicas de criopreservación

A. Congelación lenta

La congelación lenta es un método de criopreservación donde hay homeostasis entre las velocidades tanto al momento de enfriar, deshidratar y formar los núcleos de hielo; razón por la cual es empleado para el control de la velocidad, donde se procura que en función del descenso de las temperaturas el crioprotector entra en acción en la estructura interna de las células, así se produce un medio equilibrado osmótico y se disminuyen las posibilidades de la formación de cristales de hielo en las porciones internas celulares; a efectos de la prevención de la aparición de hielo en el medio interno de la célula y disminuir los posibles efectos dañinos, la totalidad de estos métodos pretenden realizar la deshidratación celular (Cassa, 2018). Para efectos de esta técnica en

particular, se debe aplicar al medio celular el crioprotector con una solución de 10 y un 11% (v/v); una vez culminado este paso la temperatura se reduce y se forma el hielo en la solución, en función al crecimiento de los cristales de hielo, el agua pasa a un estado sólido, además las concentraciones extracelulares aumentan y esto a su vez genera la expulsión del agua celular; a menor temperatura, mayores son las concentraciones acuosas que se convierten en hielo, aunque en este panorama le es más difícil a la célula la expulsión del agua (Cassa, 2018). Entonces para lograr una congelación lenta exitosa es importante considerar una armonía entre las velocidades de expulsión de agua por el medio celular y la solidificación del agua, esta técnica es ventajosa debido al empleo de menores proporciones del crioprotector, razón por la cual las probabilidades de producción tóxica a nivel químico y shock osmótico, aunque las habilidades de prevención de la generación de cristales de hielo se limitan ya que la concentración de los crioprotectores (Ruiz, 2022).

B. Congelación rápida y ultra rápida

Esta técnica tiene acción para la prevención de las formaciones de hielo al interior de la célula deshidratando el elemento celular; este método se caracteriza por exponer a los embriones a cantidades elevadas de solutos permeables (crioprotectores y azúcares), después son sometidas al enfriamiento rápido o ultrarrápido. La acción del soluto en el medio celular es la eliminación rápida del agua, de esa forma es posible que se sumerjan de forma directa en nitrógeno de estado líquido o gaseoso, en el primer caso se trata de una congelación ultrarrápida y para el segundo es rápida), una de las ventajas de la congelación ultrarrápida, es la disminución de los daños por enfriamiento, donde es posible el uso de bajas concentraciones de los crioprotectores, las mismas que son de menor toxicidad, además disminuye los tiempos de exposición de los ovocitos en función a los crioprotectores (Cassa, 2018). Las técnicas de congelación rápida se pueden dar en dos tipos, una es la congelación rápida o ultrarrápida y la vitrificación, esto depende de la existencia o no del hielo en las soluciones en el periodo de congelación; para casos en los que se recurre a la vitrificación no se observa la creación de cristales de hielo en el proceso de congelamiento y descongelamiento en los medios exteriores e interiores de la célula; en contraste, si se da la formación aun sean solamente sesgos del hielo en los distintos procesos, de denominación adecuada es congelación ultrarrápida (Elguera, 2015).

C. Refrigeración de embriones

Cuando un embrión se encuentra expuesto a tiempos prolongados y a la temperatura del ambiente disminuye sus capacidades de desarrollarse; cuando al embrión se le refrigera a temperaturas que oscilen entre los 0 a 4°C en un periodo de un día, los embriones pueden mantenerse en PBS envasados en pajuelas de 0.25 ml, y colocar el embrión en refrigeradores donde se emplea el hielo y el agua con el objetivo de disminuir las temperaturas; esta es una medida atractiva para las situaciones en las que no se pueden congelar los embriones; aunque pese a las buenas respuestas y su procedimiento sencillo, actualmente no hay incidencia de su empleabilidad, ya que las técnicas de la congelación convencional aunque contemplen un mayor costo, los embriones en su mayoría son más viables para su desarrollo en periodos de menor duración y la practicidad de su procedimiento (Huanca et al., 2014).

Según Huanca (2014) esta es una técnica sencilla a través de la cual es posible mantener al elemento embrionario en un medio con temperaturas de 0 y 4 °C al día o hasta tres días; también constituye un procedimiento medio para transferir el embrión en un estado fresco y con la conservación debida a -196°C, este método realiza la colocación de los elementos embrionarios en PBS (Buffer fosfato salino), en pajuelas 0.25 ml y colocadas en un refrigerador, es una técnica ideal en el transporte embrionario en el caso de que la célula receptora se mantenga distante de la célula donante, pese a las respuestas óptimas y la facilidad de sus procedimientos, actualmente no es empleado, ya que el desarrollo de las tecnologías y la eficiencia de la criopreservación supone una mayor inversión, pero con niveles considerables de la viabilidad embrionaria en periodos sin límite establecido hasta el momento.

Los componentes de los medios utilizados para la refrigeración de los embriones son los siguientes:

- **Suero Albúmina Bovina (BSA)**

Generalmente, este se emplea a manera de un concentrado proteico, su acción impacta en el pH del medio, su acción se da para la unión de iones metálicos, está compuesto por elementos para el crecimiento y algunas trazas hormonales para que los elementos celulares se puedan diferenciar y proliferarse (Quina, 2017) .

La estructura de esta proteína consta de tres cavidades diferentes que se relacionan con las conexiones entre iones metálicos, lípidos y nucleótidos; cada cavidad tiene una subdivisión específica: la primera se compone de IA y 2B, la segunda de IIA y IIB, y la tercera de IIIA y IIIB; en las subdivisiones IIA y IIIA, hay más conexiones de ligandos y se les llama sitios I y II, respectivamente; además, en cada cavidad de la proteína hay tazas que juegan un papel importante para permitir que las proteínas se unan al PPP (producto de proteínas y péptidos) (Serratos et al., 2018).

– **Fosfato Buffer Salina**

Esta es una solución de tipo tampón cuyo contenido principal es el cloruro y fosfato de sodio, en ocasiones se compone también de cloruro y fosfato de potasio; la función de este es ayudar en la mantención de los niveles de pH constantes, los niveles de los iones y osmolaridad de las soluciones en general tienen semejanza a las de la fisiología humana (Mamani et al., 2013).

Este buffer es uno de los que más se emplean ya que se caracteriza por ser isotónico y no es tóxico en el medio celular, es empleado en la dilución de las sustancias usadas para los cultivos además del lavado de las superficies con contenido celular, múltiples reacciones químicas que afectan por el medio ácido del medio para su producción, en el caso de la incidencia de las reacciones químicas, donde las mínimas generen tasas adecuadas, el pH de los medios tienen que estar bajo control a través del uso de alguna solución tampón, ya que la acción de estas es el control del pH en niveles determinados; una característica de la reacción química es su sensibilidad al nivel de pH, generalmente los elementos biológicos se componen por conjuntos atómicos neutros o cargados, como efecto de la presencia del pH, esto constituye un impacto significativo de las moléculas; un ejemplo de ello son los contenidos celulares en organismos pluricelulares, a nivel del fluido interno como el externo con el pH es regular (pH fisiológico), los valores referentes la pH se mantienen constantes dependiendo de varios factores en función a los buffers (Urviola, 2015).

– **Holding**

Es una solución compuesta por 3 ml de BSA, 1% de antibiótico, 2 ml de PBS, 5ml de agua de transferencia de embriones (Huanca & Ccopa , 2019).

Las soluciones salinas amortiguadas por fosfatos (PBS) son soluciones amortiguadoras del pH que se emplea generalmente en los procesos del medio bioquímico, la osmolaridad y concentración de iones (Cl^- , Na^+ y K^+) se asemeja al fluido del exterior de la célula para el caso de los mamíferos. La solución es preparada en base a Cloruro de Sodio, Fosfato de Sodio, en ocasiones se usa Fosfato de Potasio, las soluciones que resultan de ello son isotónicas y no-tóxicas para los medios celulares del mamífero; el PBS es un transporte neutro para los elementos celulares, debido a que no se cambian los perfiles para la expresión y para las funciones celulares normales; se usa para realizar el lavado de los agentes celulares por medio de la centrifugación, también es usado como diluyente del método de desecación de biomoléculas, debido a que los compuestos moleculares de agua en el PBS se encuentran adheridos en los alrededores de las biomoléculas, lo que permite la inmovilización de las superficies sólidas; la capa única hídrica puede evitar la desnaturalización de las biomoléculas durante la desecación, el amortiguador en función a los carbonatos, se utilizan en estos procedimientos, sin embargo, el éxito de ello es bajo; el PBS también se utiliza a manera de un referente espectral en procedimientos de elipsometría por absorción proteica, el PBS se llega a complementar con elementos adicionales en algunos procesos específicos, un claro ejemplo de ello es el aumento de solución de ácido etildiaminotetraacético (EDTA), este posibilita la disgregación celular en el caso de la formación de agregados; a agregación de Zinc, no se recomienda debido a que genera precipitación salina (Serratos et al., 2018).

– **TCM - 199 + HEPES**

Una forma distinta de escribir el texto es: Los componentes salinos, el HEPES (4 - (2 - Hidroxiethyl) - 1-piperazinaetansulfónico) y el bicarbonato son los encargados de mantener el pH estable, y se añaden vitaminas, lactato, piruvato, proteínas y purinas (ya sea albumina bovina o suero) como suplementos. El pH apropiado para el desarrollo de los ovocitos como los embriones y la células es de 7.4 (Landeo et al., 2022).

– **Gentamicina**

La gentamicina es un tipo de antibiótico que es parte del grupo de los aminoglucósidos-aminociclitolos; se utiliza principalmente para curar infecciones causadas por bacterias

gramnegativas aeróbicas (Walker, 2017). De tal manera, que es utilizado como antibacteriano en los medios de mantenimiento durante la conservación de embriones (Huanca & Ccopa , 2019).

La gentamicina actúa como un bactericida, destruyendo las bacterias; esta interfiere con la síntesis de proteínas en las bacterias y afecta la subunidad 30S de los ribosomas. Esto impide que las bacterias produzcan proteínas necesarias para su crecimiento y supervivencia. Además, también altera la permeabilidad de la membrana bacteriana; cuando se administra por vía intramuscular, la concentración máxima de gentamicina en el cuerpo se alcanza entre 30 y 60 minutos; se distribuye ampliamente en diferentes tejidos, como el hígado, los pulmones, el endometrio y el tejido mamario, pero no atraviesa la barrera del sistema nervioso central ni llega a la cámara ocular; puede cruzar la barrera placentaria durante la gestación; la gentamicina tiene afinidad por el tejido renal y se acumula especialmente en la zona cortical, con concentraciones hasta cincuenta veces mayores que en la sangre. Sus concentraciones terapéuticas se mantienen durante 6 a 8 horas y se elimina principalmente a través de la filtración glomerular como compuesto activo (Ministerio de Sanidad, Política e Igualdad, 2017).

Existen una variedad de hormonas que son utilizados para la inducción de la ovulación, de similar manera para la regresión del cuerpo lúteo, los cuales, se describen a continuación:

– **Acetato de buserelina**

La buserelina es un fármaco que imita a una hormona natural conocida como hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que posee una gran actividad biológica; su efecto inicial consiste en provocar la liberación de las hormonas luteinizante (LH) y estimulante del folículo (FSH). La FSH se ocupa de favorecer el crecimiento y la maduración del folículo, mientras que la LH se encarga de la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Mamani et al., 2013).

El acetato de buserelina se utiliza como incitador de la ovulación, desove y espermiación en tratamientos de reproducción; se ha demostrado que la inyección hormonal con acetato de buserelina es efectiva. En un estudio, se observó que el desove ocurrió aproximadamente 4-5 horas después de la segunda dosis en el grupo de tratamiento B (acetato de buserelina a una dosis de 2.6 mcg/kg), mientras que en el grupo de tratamiento D (mg/kg EHC) comenzó alrededor de 6-7 horas después; estos intervalos de respuesta pueden deberse a los mecanismos de acción para la

maduración; los resultados de los tratamientos utilizados mostraron una alta calidad en los óvulos logrados con el acetato de buserelina, con una tasa de fecundación superior al 50% (Quina, 2017).

– **Prostaglandina F2 α**

Es una sustancia hormonal que se libera cuando hay aumentos en los niveles de estrógeno en el ovario. Aún no se conoce con certeza cómo funciona exactamente el proceso de eliminación del cuerpo lúteo (Rodríguez & Moresco, 2019).

D. Vitrificación

La vitrificación es un proceso en el cual un líquido se convierte en un sólido sin formar cristales, esto sucede cuando se enfría rápidamente a una temperatura muy baja, lo cual hace que la viscosidad del líquido aumente tanto que las moléculas quedan inmovilizadas; aunque tenga una estructura molecular similar a la de un líquido muy espeso, se encuentra en estado sólido (llamado estado vítreo); para lograr este incremento extremo de la viscosidad, se necesita un enfriamiento muy rápido (más de 2500 °C por minuto) o la adición de sustancias crioprotectoras en concentraciones altas (entre 5 y 7 M), la vitrificación ofrece varias ventajas, como evitar la formación de hielo y reducir el daño que logra causar el enfriamiento, ya que se da de forma rápida el atravesamiento el rango de temperatura entre 15 y 5 °C, esta técnica posee algunos beneficios, ya que el aplicarlo no trae costos y se da de forma sencilla, porque no necesita el uso de equipos de congelación (Ruiz, 2022).

4.2.13. Transferencia de Embriones

En 1968, se obtuvieron los primeros datos sobre la recolección de embriones en alpacas mediante un método llamado lavado retrógrado del oviducto, unos años después, se logró el nacimiento de la primera cría alpaca a través de la transferencia de embriones, en aquel entonces, los investigadores para la obtención de embriones y la transferencia de ellas hacían uso de los procedimientos quirúrgicos. Con el pasar de los años, se desarrollaron otro tipo de métodos no quirúrgicos para la recolección y transferencia de embriones, y estos métodos se aplicaron inicialmente en llamas, lo que permitió el nacimiento de una cría sana después de 326 días de gestación (Huanca, 2022).

Para aplicar programas de transferencia de embriones, es crucial que los ciclos de la donante y las receptoras estén sincronizados para que los embriones tengan más probabilidades de sobrevivir; gran parte de los experimentos de transferencia, para que la ovulación de las receptoras coincida con la de la donante, se les aplica hCG o un análogo de la GnRH (buserelina). Esto asegura que los embriones sean transferidos en el momento adecuado para incrementar las probabilidades del éxito; no se ha logrado ninguna gestación utilizando un método que combina un implante de progesterona con la administración de buserelina; además, es importante confirmar la ovulación mediante ecografía y luego recolectar los embriones de 6 a 8 posterior de la ovulación (Ascencio et al., 2019).

El método no invasivo que se aplica en los camélidos para obtener los embriones es similar al que se usa en el ganado bovino; consiste en irrigar los cuernos uterinos con PBS de Dulbecco's, recientemente, se han informado los resultados en términos de porcentaje de recuperación basado en el número de cuerpos lúteos en los ovarios (Forshey et al., 2018). Según Ascencio et al. (2019), el porcentaje de recuperación fue de 4.8 ± 0.9 (66,1%) en llamas y de $1.6 \pm 0,3$ (23.6%) en alpacas; algunos estudios han demostrado que también se puede recolectar embriones en hembras sin superovular, logrando una tasa de recuperación del 79%.

La respuesta de las donantes a los protocolos para inducir la ovulación, la calidad y cantidad de los embriones que fueron recuperados varían considerablemente, la mayoría de los embriones recuperados están en la etapa de blastocisto eclosionado y tienen un diámetro promedio de 527.1 ± 168.0 μm en llamas y 534 ± 151.4 μm en alpacas; en las llamas, el 35% de los embriones son pequeños (<450 μm de diámetro), el 40% son de tamaño mediano (451 a 650 μm) y el 24% son grandes (>651 μm), y se observa una distribución parecida en las alpacas (Del Campo et al., 2002). Solo se pueden lograr mórulas si se efectúa el lavado del oviducto tres días posterior de la inseminación (Herrid et al., 2017).

Referido a la tasa de gestación posterior a la transferencia de embriones, los resultados son variables, con más estudios efectuados en llamas que en alpacas; los valores alcanzados fluctúan entre el 0% y el 50%; es importante destacar que todos los embriones se instauran en el cuerno uterino izquierdo, libremente de la zona de transferencia, y no se produjo ninguna gestación gemelar en las receptoras a las que se les transfirieron dos embriones (Mamani et al., 2013).

4.2.14. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La ovulación en los mamíferos ocurre cuando se secreta GnRH desde el hipotálamo hacia los capilares del sistema hipofisiario, lo que provoca la liberación de LH y cambios en el folículo preovulatorio que conducen al rompimiento de su pared y la liberación del óvulo; algunas especies tienen ovulación espontánea, como las vacas y las ovejas, donde los niveles de estradiol superan cierto umbral en presencia de bajas concentraciones de progesterona; otras especies tienen ovulación inducida, como las conejas y las llamas, donde la estimulación mecánica durante la cópula desencadena la liberación de GnRH y la ovulación (Ratto, 2012).

La GnRH es una hormona producida en el hipotálamo que estimula la síntesis y liberación de hormonas gonadotropinas en la hipófisis anterior. Se utilizan agonistas de GnRH sintéticos para tratar quistes foliculares y mejorar la fertilidad; la combinación de estas hormonas sintéticas (Gestar®GnRH + eCG) se utiliza junto con la inseminación artificial en programas de reproducción por su eficacia y bajo costo (Roldan et al., 2022).

V. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Lugar de estudio

La investigación se ejecutó en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Quimsachata, ubicado entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas, pertenecientes a las provincias de Lampa y San Román, en el departamento de Puno. El centro tiene una altitud media de 4 300 m.s.n.m., temperatura promedio anual de 7°C (que fluctúa entre 3°C y 15°C), una humedad relativa del 40% y una precipitación anual que varía entre 400 y 688.33. Su superficie total es de 6 281.5 hectáreas (Ministerio de Agricultura y Riego, 2020).

Según el mapa ecológico del Perú, esta área forma parte de la zona agroecológica de Puna seca. Durante la temporada de lluvias, la composición y cobertura de pastos es buena, aunque disminuye significativamente durante la temporada seca. Existen especies que duran un año y otras que son permanentes, predominando sobre todo las plantas herbáceas y en menor medida las familias de las asteráceas, ciperáceas, juncáceas y rosáceas. La composición de las especies cambia principalmente según la cantidad de agua en el suelo, la orientación y las propiedades del suelo, como su granulometría y contenido de materia orgánica (Ministerio de Comercio Exterior y Turismo, 2018).



Figura 1 Mapa de ubicación del anexo Quimsachata (INIA)-Puno (Elaboración propia)

5.2. Materiales y Metodología

5.2.1. Materiales de oficina y de campo

- Registro
- Tablero
- Plumones
- Sogas
- Bolígrafos
- Cuaderno de campo
- Marcadores (Spray)
- Trenzas de color rosado y celeste
- Collares color amarillo y celeste
- Caja refrigerante
- Gel refrigerante

5.2.2. Materiales de experimentación

- Hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) (gestar)
- Cloprostenol (prostal)
- TCM - 199+HEPES
- Holding.
- Fosfato buffer salina (PBS).

5.2.3. Instrumentos para la colecta y empajillado de embriones

- Catéter Foley doble vía de 18 x 65 cm.
- Para la recolección de embriones, Filtros EM COM
- Mandril
- Tubos Falcón de 10 y 50 ml.
- Vaso precipitado de 700 ml
- Placas Petri de 35 mm de diámetro.
- Placas Petri cuadradas de 100 mm de lado.

- Jeringas desechables de 5, 10, 20 y 60 ml.
- Guantes de palpación
- Gel
- Jabón carbólico
- Papel toalla
- Alcohol al 70%
- Gasas
- Camiseta sanitaria
- Lavador de caucho

5.2.4. Equipos

- Ecógrafo ESAOTE MY LAB ONE con transductor lineal 10 MHz.
- Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz.
- Estereoscopio MEIJI.
- Estufa para esterilización.
- Cámara de flujo laminar
- Platina térmica
- Micropipetas
- Baño maría
- Funda térmica
- Pistola de transferencia
- Refrigeradora
- Termómetro de bolsillo

5.3. Metodología

5.3.1. Material biológico

– Donadoras

Se trabajó con 41 Alpacas donadoras de embriones, de acuerdo a la disponibilidad de animales del CIP Quimsachata, seleccionadas según su cronología dentaria desde los 4D (cuatro dientes) a Bll (boca llena); las hembras seleccionadas para el estudio tenían una condición corporal de 2.5 a 3.5 en una escala de 0 a 5 (Huanca & Ccopa , 2019). y presentaban ondas foliculares regulares, que se evaluaron mediante ultrasonografía. Estas hembras fueron alimentadas con pasto natural de áreas cercanas al centro experimental y recibieron heno de avena como suplemento en las tardes.

– Receptoras

Se seleccionó un total de 36 llamas hembras como receptoras con una edad que oscila entre 4 y 8 años. Hembras lactantes con historial reproductivo comprobado (cría en pie) y un descanso mínimo de descanso postparto de 15 días; que no tengan muy estrecha la pelvis para efectuar la recto palpación.

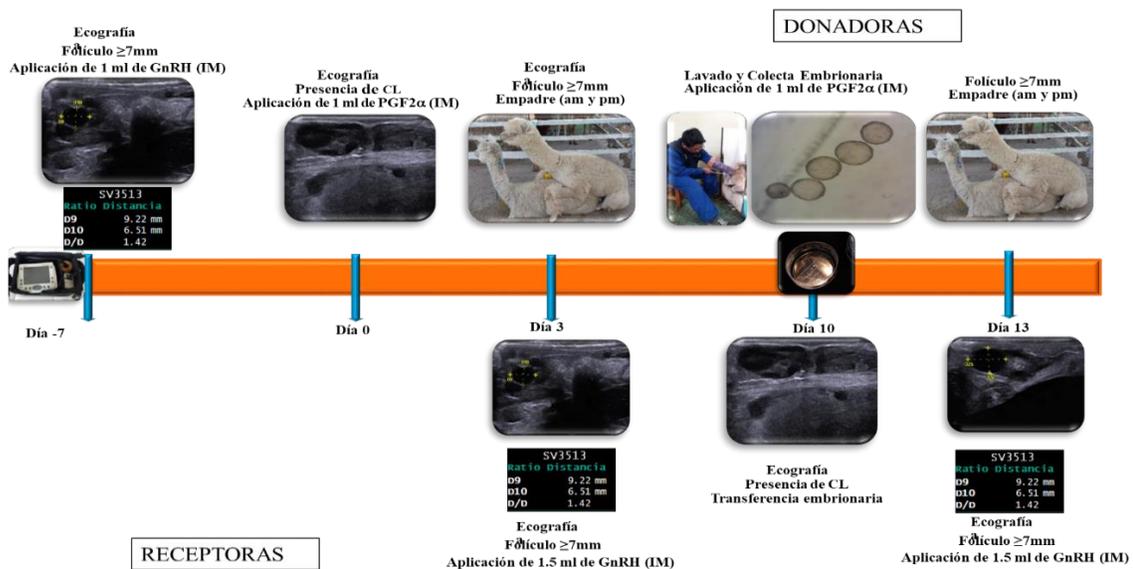


Figura 2 Protocolo de sincronización (colectas repetidas)

5.3.2. Recuperación de los embriones

Los embriones fueron recuperados de manera no quirúrgica mediante lavados uterinos realizados 7 días después del empadre.

5.3.3. Profilaxis del área de evaluación

– Armado del catéter Foley

Enjuagamos la sonda con agua destilada, desinfectamos el mandril con alcohol y gasa; introducimos el mandril a la sonda, colocamos la pinza que servirá de guía a lado contrario de la vía de aire de la sonda Foley; ponemos su camiseta sanitaria.

– Armado del flujo continuo de doble vía

El medio de lavado debe estar en una temperatura óptima (32-38°C), colocamos al soporte el medio de lavado, tapamos la parte de la inserción del catéter o circuito con la sonda, abrimos la llave que va permitir el paso del medio al filtro, cerramos la llave.

– Evacuación del contenido rectal y desinfección de la región perianal

La hembra ingresa a la manga de manejo, efectuamos la sujeción en posición cúbito esternal con los miembros debajo del abdomen; lubricamos el guante obstétrico con jabón diluido y procedemos a evacuar todo el contenido rectal; lubricamos con gel el transductor lineal del ecógrafo ESAOTE MY LAB ONE en la pantalla precisamos las dimensiones y la posición del cuerpo lúteo de los ovarios; finalmente con el agua de la batea y jabón carbólico lavamos la vulva, secamos con el papel toalla; desinfectamos con torunda de gasa empapada de alcohol la región perianal.

– Fijación del catéter Foley lavado del cuerno uterino

Con el apoyo de un mandril, se separaron los labios vaginales y se introdujo un catéter Foley N°14 de doble vía, previamente esterilizado y lubricado con PBS, a 45° por el vestíbulo; luego en 90°. En la entrada al cérvix se rompe la camiseta sanitaria y se guía con la mano a través del recto hasta ubicar el cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo, retiramos la pinza y el mandril, procedemos a llenarla con una jeringa de 10 ml la bombilla del catéter con medio de lavado para

asegurar la fijación a la altura de la bifurcación del útero; para que no haya fuga del medio cuando se efectúe el lavado.

Abrimos la llave de paso del medio de lavado (PBS) al interior del cuerno anteriormente calentado a una temperatura de 37 °C, acompañamos con masajes suaves; este medio es colectado a un filtro colector con un diámetro de 40 µm (Em Con, USA), dicho lavado se realiza por lo menos con un promedio de 250 ml de medio, efectuando 2 a 3 veces. Una vez concluida se retira el medio utilizado para la fijación, retiramos la sonda del tracto. Desconectamos la sonda del circuito, retiramos la camiseta y pasamos a enjuagar la sonda Foley con agua destilada.

– **Aplicación de prostaglandina (PGF2alfa) para la luteólisis**

Después de completar el lavado del cuerno uterino del mismo lado donde se encuentra el cuerpo lúteo, a las alpacas se les administró 1 ml de PF2α (Lutaprost) por vía intramuscular para provocar la luteólisis y comenzar un nuevo ciclo de crecimiento folicular.

5.3.4. Procedimiento de conservación de embriones

El filtro con que se llevó al área de evaluación, consistió en verter todo el medio contenido del filtro a una placa, enjuagamos el filtro con el medio de lavado, ubicamos al embrión, lo categorizamos y lo medimos con un ocular en 5, determinamos el diámetro en micras.

– **Selección de embriones**

Los embriones se colocaron en una placa Petri de 30 mm o una placa Petri con múltiples pocillos Nunc, que contenía un medio de mantenimiento llamado Holding + Galactosa o/y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina. Todos los embriones colectados se evaluaron y clasificaron según los estándares determinados por la IETS (1998), siguiendo las siguientes categorías:

1. Embriones excelentes: Presentan las características morfológicas adecuadas para su etapa de desarrollo (blastocisto o blastocisto eclosionado), sin signos de anomalías visibles, con forma esférica y simétrica, y con células homogéneas en textura, tamaño y color.

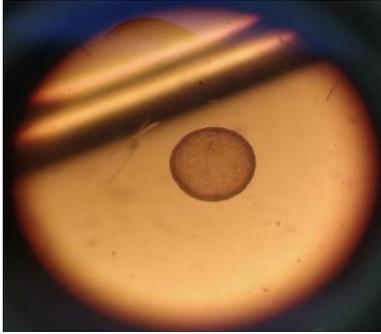


Figura 3 *Embrión excelente de 7 a 8 días (Elaboración propia)*

2. Embriones buenos y regulares. Están en una de las fases de desarrollo previstas, presentan muy pocos problemas morfológicos como algún blastómero separado del resto, de forma ligeramente irregular o que contienen alguna vesícula.



Figura 4 *Embrión bueno de 7 a 8 días (Elaboración propia)*

3. Embriones Malos: Aunque están en el estado de desarrollo esperado, tienen defectos importantes que pueden afectar su viabilidad futura, entre las anomalías que se observan en los embriones, se encuentran blastómeros que se han desprendido de la masa celular principal, así como núcleos que muestran signos de condensación cromática, entre otros, pero que aún conservan una masa celular con potencial de desarrollo.



Figura 5 *Embrión regular de 7 a 8 días (Elaboración propia)*

4. Embriones degenerados y retardados: Son aquellos embriones que presentan una gran pérdida de células y/o un desarrollo muy atrasado respecto a su etapa normal, sin contar con una masa principal que sea viable.



Figura 6 *Embrión malo de 7 a 8 días (Elaboración propia)*

– **Refrigeración de embriones**

Se empleó 36 embriones para la refrigeración. De acuerdo a la calidad de embriones seleccionados solo se utilizó los embriones excelentes y buenos, de acuerdo a la clasificación de la Sociedad Internacional de Tecnología de Embriones (IETS, 1998), Los embriones una vez clasificados fueron refrigerados.

– **Protocolo de refrigeración**

Medios de refrigeración:

- Holding + Galactosa
- TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina

Tabla 1. Componentes del medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.

COMPONENTES	UNIDAD MEDIDA	10 ml
TCM	ml	10
HEPES	g	0.0238
ADITIVOS		
L-Glutamina	uL	60
Piruvato de sodio	uL	20
SFB (10%)	uL	1000
Cysteina	uL	10
Gentamicina	uL	10

– **Cargado de la pajilla**

Se utilizó pajillas de 0,25 ml, y se procedió a cargar tal como se muestra en el diagrama; se cargó 2.5 cm de medio Holding, un espacio de 0.5 cm de aire, seguido de 5 cm de medio Holding + galactosa + embrión, espacio de 0.5 cm de aire, 2.5 cm de medio Holding y finalmente sellamos con alcohol polivinílico.

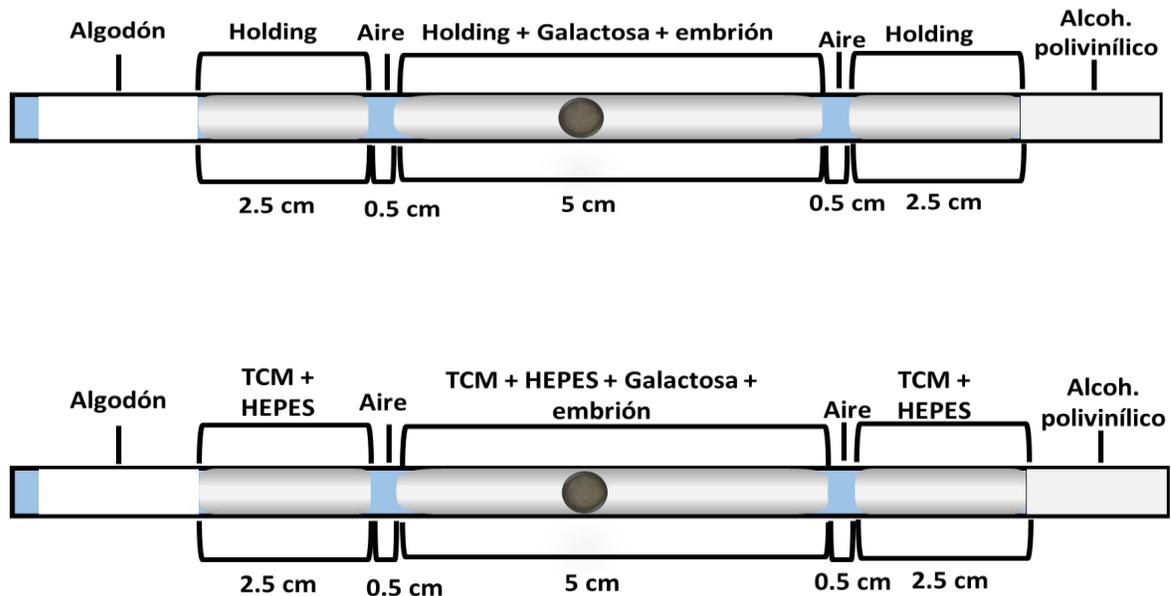


Figura 7 Cargado de pajillas

– **Descenso de temperatura de 37°C hasta 5°C**

Se preparó un medio con agua destilada (800 ml) en un vaso precipitado a 37°C; se efectuó una tapa de Tecnopor con un diámetro de acuerdo al vaso precipitado, y sobre ellas agujeros que sostengan a las pajuelas, en otro envase agua a 2°C; para descender 0.5°C en un minuto; con una jeringa se retiró 10 ml agua del vaso precipitado que contenía las pajuelas y se añadió 10ml de agua a 2°C (0.5°C-1'-10ml de agua a 2°C).

– **Mantenimiento de la refrigeración a 5°C**

Una vez descendida la temperatura a 5°C, se colocó a la refrigeradora durante 12, 18 y 24 horas a una temperatura oscilante de 5°C-7°C. para su transporte hasta el lugar de transferencia se colocó una cubeta de hielo de 500 g en un cooler para que mantenga de manera estable la temperatura.

– **Sincronización a las receptoras con GnRH**

Llegado a la majada se identificó a las llamas que se sincronizó como receptoras debidamente identificadas con arete que presentaban folículos pre ovulatorios ≥ 7 mm utilizando el Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz; los cuales fueron aplicados con 1.5 ml de GnRH vía intra muscular profunda como inductor de ovulación y se puso collares con números para su reconocimiento; se anotó en nuestro registro de sincronización, N° de arete, N° de collar, ubicación del ovario donde se encuentra el folículo, medidas del folículo.

– **Evaluación de la respuesta a la sincronización de las receptoras**

Antes de la transferencia de embriones se evaluó a las llamas que fueron sincronizadas como receptoras identificadas con collares; observamos nuestro registro la ubicación donde se presentó el folículo, utilizando el Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz, se ubicó sobre el ovario e identificó si hay la presencia del cuerpo lúteo, tipo de cuerpo lúteo, medidas. Se manda a cargar la pistola de transferencia; mientras tanto se lavó la vulva de la receptora con agua y jabón carbólico, finalmente asepsia del área con alcohol y toalla higiénica.

– **Cargado de la pistola de transferencia**

Retiramos la pajilla que contiene el embrión de la caja refrigerante, secamos con papel toalla, procedemos a cortar con la corta pajilla el lado por donde está sellado con el alcohol polivinílico. introducir la pajilla en la pistola de transferencia, la funda con punta de metal fijada con la rondana. Luego protegemos con la camiseta sanitaria; se puso a la funda térmica a una temperatura de 37°C hasta realizar la transferencia de embriones.

– **Transferencia de Embriones**

Sujetada bien la llama, se retiró la pistola de la funda térmica, introducimos en 45° por la vulva al cuerno uterino donde se observó el ovario con la presencia del cuerpo lúteo (ipsilateral); lo más cercano posible a la unión útero tubárica. Esta transferencia es por el método no quirúrgico llamada técnica transcervical.

– **Diagnóstico de preñez**

El diagnóstico de preñez se realizó a los 21 días post transferencia mediante ultrasonografía con el Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz, donde se evidenció la presencia de la vesícula y botón embrionario.

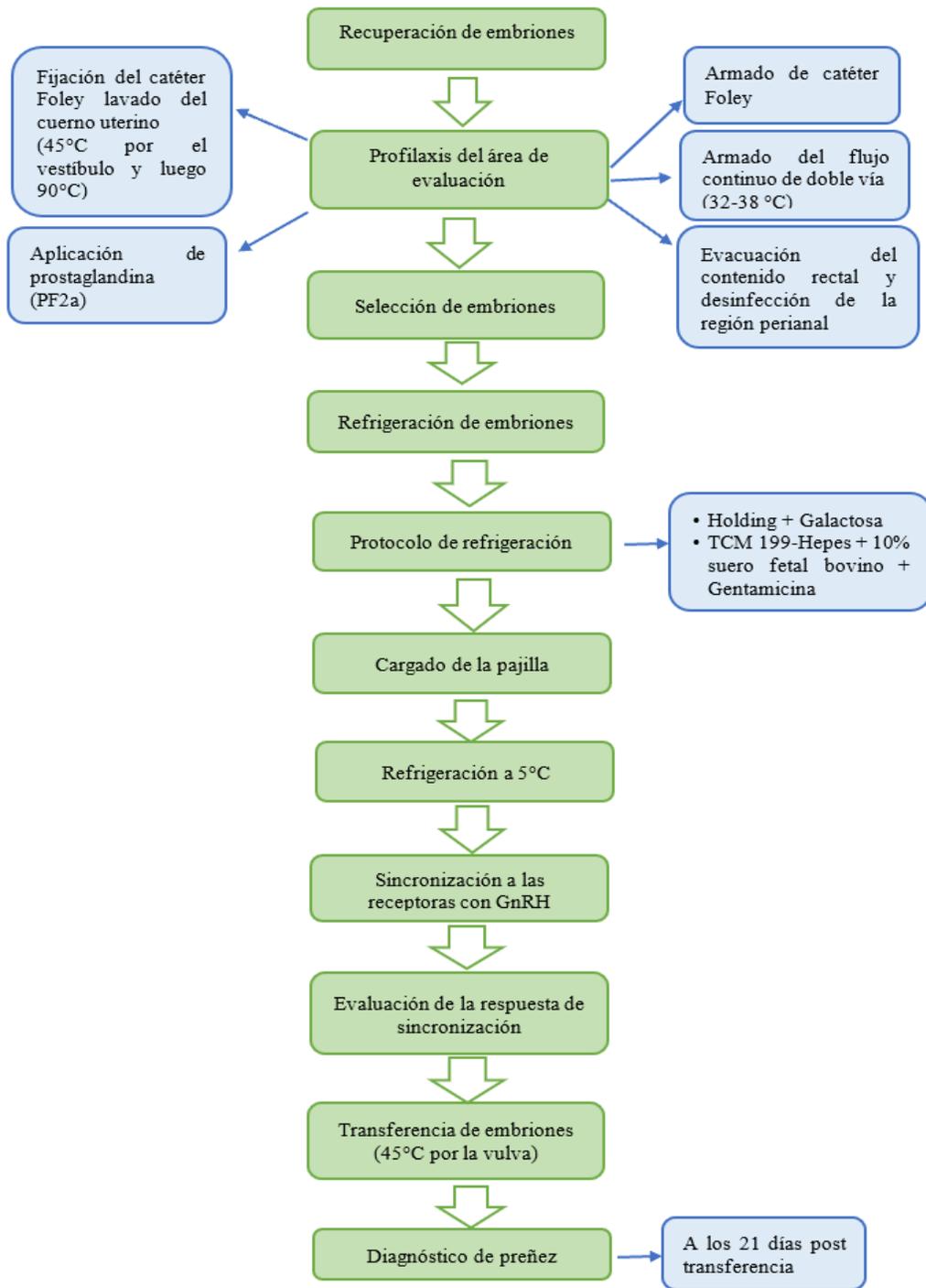


Figura 8 Esquema del diseño experimental

5.4. Variables de estudio

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

Variable independiente

- Medios de refrigeración (Holding + Galactosa y TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.
- Periodo de refrigeración (12, 18 y 24 horas)

Variable dependiente

- Tasa de preñez
- Crías nacidas

5.5. Diseño experimental

Para determinar la asociación del tiempo y del medio en la fertilidad de los embriones se hizo uso de la prueba de chi cuadrado.

Tabla 2 *Diseño experimental*

MEDIO DE REFRIGERACIÓN	TIEMPO DE REFRIGERACIÓN	Nº DE EMBRIONES A REFRIGERAR
Holding + Galactosa	12	6
TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina	12	6
Holding + Galactosa	18	6
TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina	18	6
Holding + Galactosa	24	6
TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina	24	6
TOTAL		36

5.6. Descripción de las muestras

Como se aprecia en la Tabla 3, se recuperaron un total de 54 (56.25%) embriones de 96 colectas sucesivas por ovulación simple mediante el procedimiento no quirúrgico, que consistió en lavados uterinos a los 7 días después del empadre; de los cuales se utilizaron 36 embriones, 25

(46.29%) excelentes; 11(20.37%) buenos, con un tamaño promedio de 660.9 y 764.7 micras respectivamente.

Tabla 3. *Calidad y diámetro de embriones refrigerados transferidos*

Calidad de Embriones	N°	(%)	Prom. ± DS	CV	Mínimo (µm)	Máximo (µm)
			(µm)	(%)		
Excelente	25	46.29%	660.9±230.26	34.80%	200	1020
Bueno	11	20.37%	764.7±352.66	46.10%	187	1340

N°=Numero de embriones; DS=Desviación estándar; CV= Coeficiente de variación

De acuerdo a la Tabla 4, en el cuerno derecho e izquierdo se transfirieron 21 y 15 embriones respectivamente, ipsilateral al cuerpo lúteo con tamaño promedio de 12.23 y 12.68 mm respectivamente.

Tabla 4. *Ubicación del cuerno transferido y tamaño del cuerpo lúteo*

UTERO TRANSFERIDO	N°	(%)	Cuerpo Lúteo	CV	Mínimo	Máximo
			Prom. ± DS (mm)	(%)	(mm)	(mm)
DERECHO	21	58%	12.23±1.27	10.40%	8.5	14.55
IZQUIERDO	15	42%	12.68±1.89	14.90%	10	17.8

N°=Numero de embriones; DS=Desviación estándar; CV= Coeficiente de variación

5.7. Análisis estadístico

La posible interacción del tiempo y medio de refrigeración, entre la tasa de preñez, fue analizada a través de la prueba de independencia de Chi - cuadrado (X^2), empleando el software estadístico SPSS- 25.

$$x^2 = \sum_{i=1}^r \frac{(O_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde:

\sum = Sumatoria de desvíos.

O = Es la frecuencia absoluta observada.

e = Frecuencia absoluta esperada.

La tasa de preñez post transferencia se calculó al dividir el número de receptoras diagnosticadas preñadas en el día 21 post transferencia por el número total de procedimientos de transferencias realizados por 100 en cada tratamiento y repetición (Tiempo y Medio), para determinar las relaciones entre las variables: tiempo, preñez y medio de conservación, dado que son tres variables y la prueba de Chi cuadrado está pensado para dos variables, se usó el análisis factorial de correspondencia, técnica que permite realizar el análisis de la relación de categorías mediante la interpretación de un gráfico de puntos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Tasa de preñez y natalidad del medio refrigeración Holding + Galactosa en tres distintitos tiempos

Acorde a la tabla 5, utilizando como medio de refrigeración a Holding+Galactosa, se obtuvo 33% (2) de preñez de un total de 6 transferencias con embriones que fueron refrigerados durante 12 horas; 33% (2) de preñez de un total de 6 transferencias con embriones que fueron refrigerados durante 18 horas; 50% (3) de preñez de un total de 6 transferencias con embriones refrigerados durante 24 horas; cuando se realizó diagnóstico de preñez a los 21 días post transferencia. Estos resultados difieren de lo obtenido por Karen y Mansour (2020), ya que obtuvieron una tasa de preñez en el día 60 y la tasa de LEM/EFM de 34,4% (318/924) y 38,3% (197/515) cuando se impuso un programa de superovulación, y 33,2% (128/385) y 35,6 % (70/198).

Tabla 5 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez en el medio de refrigeración Holding + Galactosa.

Medio de Refrigeración	Tiempo	Preñada				Chi		Cuadrado	Sig
		Si		No		N	%		
		N	%	N	%	N	%		
Holding	12	2	33.30%	4	66.70%	6	100.00%	0.46	0.7915
	18	2	33.30%	4	66.70%	6	100.00%		
	24	3	50.00%	3	50.00%	6	100.00%		
Holding		7	38.90%	11	61.10%	18	100.00%		

En la tabla 6, se observa un sig de 0.7915 mayor a 0.05 por ello se admite la hipótesis nula, que el tiempo de refrigeración no influye en la tasa de preñez en el medio de refrigeración holding + galactosa. Respecto a la refrigeración durante 12 h, se tuvo una natalidad del 50% (1/2); una cría alpaca nacida viva a los 328 días post transferencia con 9.5 Kg de peso de nacimiento, sexo macho; para las 18 h no tuvimos crías nacidas vivas, probablemente las 2 llamas diagnosticadas como preñadas sufrieron mortalidad embrionaria tardía, ocurre entre el reconocimiento embrión

maternal y la organogénesis completa (día 50); para las 24 h se tuvo una natalidad del 100% (3/3) tres crías alpaca nacidas vivas a los 342, 344, 346 días post transferencia con 7, 5 y 8.5 Kg de peso de nacimiento, una hembra y dos machos respectivamente.

Tabla 6 *Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez y natalidad post transferencia Interespecie en el medio Holding + Galactosa.*

	Tiempos de refrigeración					
	12 h		18 h		24 h	
Nº de embriones transferidos	6		6		6	
Tasa de preñez a los 21 días	33%	(2/6)	33%	(2/6)	50%	(3/6)
Crías nacidas vivas	50%	(1/2)	0%	(0/2)	100%	(3/3)

6.2. Tasa de preñez y natalidad del medio refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina en tres distintos tiempos.

Se observa en la tabla 7 el efecto del medio de refrigeración con TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina, de donde se obtuvo el 50% (3/6) de preñez de un total de 6 transferencias con embriones que fueron refrigerados durante 12 horas; 33% (2/6) de hembras preñadas de 6 transferencias con embriones que se sometieron a refrigeración por 18 horas; 50% (3/6) de preñez de un total de 6 transferencias con embriones refrigerados durante 24 horas; cuando se realizó diagnóstico de preñez a los 21 días post transferencia. Estudios realizados en alpacas como es el caso de Marino (2015) quien obtuvo una tasa de preñez de 12.5% en alpacas primerizas y 37.5% en las multíparas, siendo un total del 50% de preñez a los 60 días de transferencia de embriones, mientras que Aller et al. (2015) al conservar embriones de llamas en 1,5 ml de TCM-199-Hepes + 10% de suero de vaca (v / v de concentración) + antibióticos reportó que tres hembras preñadas de 14 receptoras (21.5%) que fueron detectadas y dieron a luz tres crías machos sanos normales en término (358, 365 y 366 días de gestación), siendo estas proporciones inferiores a lo registrado en la investigación, esto se le puede atribuir al periodo de refrigeración de los embriones. Además, Abd-Elfattah et al. (2019) reportaron que la transferencia de embriones en dromedarios con embriones refrigerados durante 5 días bajo diferentes volúmenes de medio de almacenamiento

(0,5 ml frente a 1,5 ml) y diferentes dispositivos de almacenamiento (Eppendorf, placas de 5 pocillos y pajilla de 0,5 ml), determinaron que el volumen como el dispositivo no tuvieron ningún efecto sobre los resultados de la transferencia de embriones refrigerados, ya que la tasa de preñez en el día 30 resultó en 30.4% de embriones confirmados (7/23) en un medio de FM+FCS, pero en el día 60 se obtuvo 40% (10/25) en un medio de enfriamiento de TCM 199+HEPES+SFC; una razón porque no hubo una alta tasa de preñez en la investigación podría deberse a la calidad de los embriones y el tiempo de refrigeración a 4°C. En referencia a la natalidad en el presente estudio con el medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina se tuvo pérdida significativa de viabilidad a las 12, 18 y 24 horas, no se tuvo ningún nacimiento. En comparación a lo obtenido por el autor, se evaluaron otras variables como período de almacenamiento, medio de almacenamiento, forma y tamaño del embrión y día del lavado del embrión, los cuales que podrían afectar los resultados de la transferencia de embriones refrigerados. Además, estas variables se evaluaron utilizando diferentes volúmenes de medio de almacenamiento y diferentes dispositivos de almacenamiento que podrían haber afectado los resultados.

Tabla 7 Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez en el medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.

medio de refrigeración	tiempo	Preñada				n	%	chi cuadrado	sig
		si		No					
		n	%	n	%				
TCM	12	3	50.00%	3	50.00%	6	100.00%	0.45	0.7985
	18	2	33.30%	4	66.70%	6	100.00%		
	24	3	50.00%	3	50.00%	6	100.00%		
TCM		8	44.40%	10	55.60%	18	100.00%		

Según la tabla 7, para el medio de refrigeración TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina se obtuvo 50% (3/6) de hembras preñadas a los 21 días con un periodo de refrigeración de 12 horas, el cual fue detectada mediante ultrasonografía con el Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz, también a las 24 horas se obtuvo el mismo porcentaje

de preñez, mientras que el 33% (2/6) a las 18 horas de refrigeración. No obstante, no hubo ninguna cría nacida; por tanto, se observó que la sig. fue de 0.7985 que es superior a 0.05; entonces, se acepta que el tiempo de conservación no influye en la tasa de preñez (Tabla 8). Por otra parte, al utilizar TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina como medio de refrigeración se alcanzó el 44.40% de preñez de un total de 18 transferencias, se diagnosticó 8 alpacas preñadas a través de ultrasonografía con el Ecógrafo TRINGA con transductor lineal 7.5 MHz a los 21 días post transferencia. Estos resultados son diferentes a lo obtenido por Abd-Elfattah et al. (2019), quien aplicó el enfriamiento de embriones en medio TCM + HEPES más SFB que resultó en tasas de preñez no significativamente más altas en los días 18–19, día 30 y día 60 en comparación con los embriones refrigerados en medio de mantenimiento + SFB, quien halló que la tasa de preñez fue de 20%. Sin embargo, estos resultados son similares a lo registrado por Tinson et al. (2012) que obtuvieron una tasa de pérdida de preñez entre los días 18 y 60 (44%), también es semejante a lo obtenido por Karen y Mansour (2020) que reportaron que la tasa de preñez fue de 40.5% en dromedarios, siendo inferior a lo reportado por Sumar (2013) que encontró un 57 % de preñez en llamas receptoras a los 15, 25 y 35 días. Para la conservación de los embriones es necesario el uso del medio como el TCM 199-HEPES, el cual impacta en el pH del medio, ya que contiene elementos que favorecen el crecimiento, con el fin de que los elementos celulares se diferencien y proliferen como lo refiere Landeo et al. (2022).

Tabla 8 *Efecto del tiempo de refrigeración en embriones de Alpaca sobre la tasa de preñez y natalidad post transferencia Interespecie en el medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina.*

	Tiempos de refrigeración					
	12 h		18 h		24 h	
N° de embriones transferidos	6		6		6	
Tasa de preñez a los 21 días	50%	(3/6)	33%	(2/6)	50%	(3/6)
Crías nacidas vivas	0%	(0/3)	0%	(0/2)	0%	(0/3)

6.3. Tiempo y medio de refrigeración en embriones

En la tabla 9, se observa que el protocolo con el medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina muestra una mejor tasa de preñez con un 50% a las 12 y 24 horas, a diferencia del protocolo de Holding + Galactosa que tan solo alcanzó el 33% de preñez; sin embargo, la significancia fue de 0.3116 que es mayor a 0.05, el cual indica que el tiempo y medio de refrigeración de los embriones no tiene efecto significativo en la tasa de preñez; estos resultados difieren de lo obtenido por Quispe (2020) quien obtuvo 66.67% de tasa de preñez en alpacas que recibieron transferencia ipsilateral en el ovario izquierdo y 36.67% con transferencia contralateral en el mismo lado.

Tabla 9 Tasa de preñez según tiempo y medio de refrigeración

Tiempo	Tasa de preñez			Sig
	Holding	TCM	Chi cuadrado	
12	33%	50%	2.33	0.3116
18	33%	33%		
24	50%	50%		

Se observa ligeras variaciones en la tasa de preñez acorde a la figura 9, por lo cual se percibe que existen factores que pueden causar una baja tasa de preñez. Por su parte, Cassa (2018) determinó una tasa superior del 60% (3/5) en la transferencia de embriones de alpaca cuando utilizó crioprotectores como sucrosa, xilosa y polietilenglicol. Como señala Ruiz (2018), las concentraciones de gases sirven para el desarrollo *in vitro* en alpacas, pues favorece la maduración de los ovocitos y el medio de cultivo SOF-IVC y KSOM son óptimos para mejorar el desarrollo embrionario, a su vez el suero fetal en distintas concentraciones incrementa la tasa de ovocitos en la etapa de Metafase II posterior a la maduración *in vitro*. De forma contraria, Huanca (2022) recuperó embriones de llamas y alpacas que fueron tratadas con eCG, las cuales alcanzaron entre 60% y 76% de embriones. Pérez et al. (2019) utilizaron el medio de conservación Holding para conservar los embriones, donde obtuvieron luego de la transferencia de embriones que los índices de preñez fueron de 67.57% en alpacas, dado que el éxito de la preñez se relaciona con la calidad del embrión, raza de la donadora y condición corporal de la receptora. Finalmente, Vivanco et al.

(2018) utilizaron como medio de conservación 1 L de PBS + 1 g de Glucosa + 36 mg de piruvato de sodio + 0,4 % de BSA + 50 mg de mono sulfato de kanamicina, durante un periodo de 1 hora en la transferencia por vitrificación, de los cuales no diagnosticó hembras preñadas bajo este método. Los resultados obtenidos en la investigación se podrían atribuir al medio de conservación y periodo, ya que se evidenció que en el medio de TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina alcanzó una mayor tasa de preñez en una conservación embrionaria de 12 y 24 horas, esto debido, a que este medio contiene elementos estabilizantes de pH como proteínas, vitaminas y aminoácidos que favorecen la conservación del embrión, pese a ello no se obtuvo crías nacidas con este medio de conservación ya que el medio Holding + Galactosa presenta una concentración de iones y soluciones salinas que amortiguan el pH, permitiendo de esta manera brindar el fluido exterior similar al de la célula.

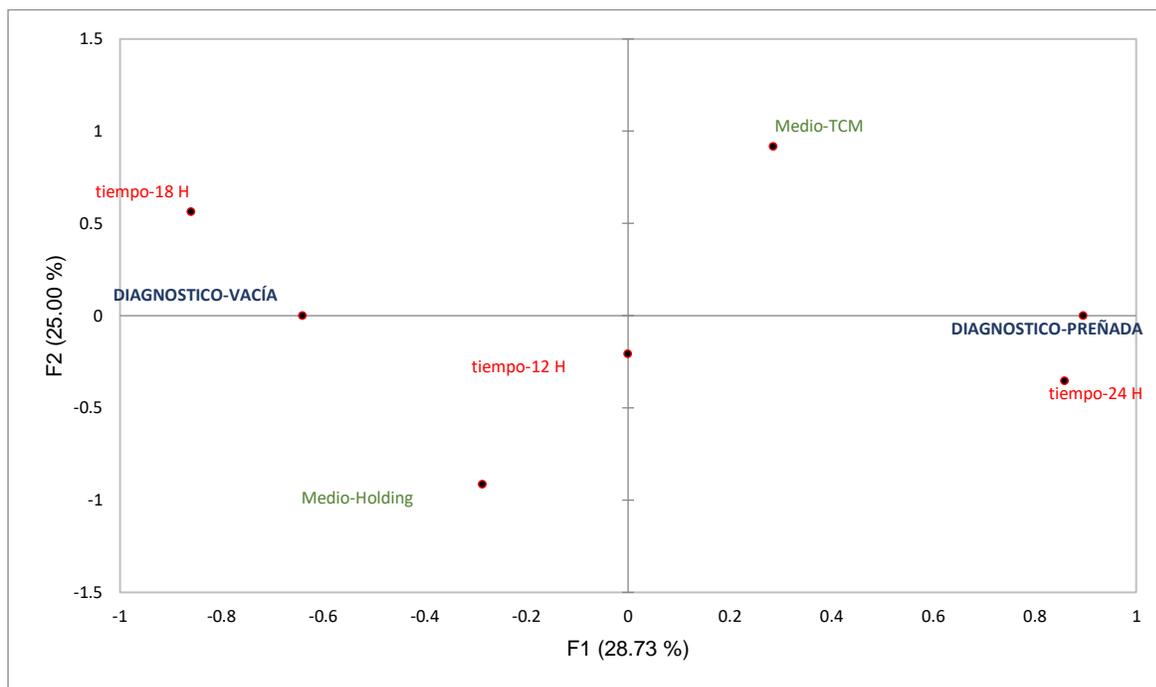


Figura 9 *Análisis factorial de correspondencia medio, tiempo y preñez.*

De la figura 9 por cercanía se encuentra que, las hembras preñadas en su mayoría fueron de su tiempo de conservación de 24 horas y en el medio TCM-199+HEPES+10% de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina, pues la escasa o nula tasa de preñez podría tener relación al tiempo de refrigeración de 18 horas y el medio de holding + Galactosa.

VII. CONCLUSIONES

- El tiempo de refrigeración a las 12, 18 y 24 horas en el medio Holding + Galactosa no tuvieron efecto sobre la tasa de preñez post transferencia interespecie, el cual registró una tasa de preñez de 33.30% y 50% respectivamente a las 12; 18 y 24 horas. El medio de refrigeración Holding + Galactosa no influye en la tasa de preñez ($P>0.05$), pero si una tasa de natalidad alta donde se tuvo una y tres crías nacidas a las 12 y 24 h.
- El tiempo de refrigeración a las 12, 18 y 24 horas en el medio TCM-199+HEPES+10%SFB (suero fetal bovino) +Gentamicina no tuvieron efecto sobre la tasa de preñez ($P>0.05$), donde a las 12 y 24 horas se obtuvo una tasa de preñez del 50%; 33% a las 18 h, pero no se obtuvo ninguna cría nacida.
- La tasa de preñez no se ve influenciada por el tiempo y el medio de refrigeración de embriones, (sig.= 0.3116) ya que tan solo alcanza el 33% de preñez posterior a la transferencia de embriones interespecie en el medio Holding+Galactosa de 12; 18 h y TCM-199+HEPES+10 % de SFB (Suero fetal bovino) +Gentamicina a las 18 h. En el resto de casos la tasa de preñez es de 50% indicando que el uso a las 24 horas es el más recomendado.

VIII. RECOMENDACIONES

- A los investigadores y profesionales, si se pretende realizar la transferencia con embriones refrigerados, considerar en horarios regulares; 24 h.
- Seguir realizando estudios que validen un protocolo estándar para descender la temperatura de los embriones desde $34^{\circ}\text{C}\pm 4$ hasta 5°C .
- Evaluar los embriones post descongelamiento para ver si mantiene su calidad y tamaño inicial; luego de ello recién efectuar la transferencia.
- A las Universidades, Institutos, Centros de investigación y Empresas privadas seguir validando esta biotecnología reproductiva de refrigeración de embriones a nivel de productores alpaqueros y llameros.
- Implementar la transferencia de embriones como un mecanismo de mejoramiento genético en los proyectos productivos; para que acorte los intervalos generacionales y tener los mejores ejemplares élite en el menor tiempo posible.

REFERENCIAS

- Abd-Elfattah , A., Agag , M., Nasef , M., Muthukumarán , S., Raey , M., Khawaga , A., & Karen , A. (2020). *Preservation of dromedary camel embryos at 4 °C for up to 5 days: Factors affecting the pregnancy and pregnancy loss rate. Theriogenology, 143, 44-49. doi:https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.024.*
- Aguilar, M., Torres, D., Murillo, R., & Zeballos, J. (2014). *Buenas prácticas de manejo en la producción de alpacas. Necesidad estratégica para la adaptación al cambio climático. Desco y Minsur. Retrieved from http://www.descosur.org.pe/wp-content/uploads/2014/12/Manual009.pdf.*
- Aller, J., Abalos, M., Acuña, F., Virgili, R., Requena, F., & Cancino, A. (2015). *Birth of live llama (Lama glama) derived from embryo transfer storage at 5 °C for 24 h. Small Ruminant Research, 132, 99-102. doi:https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.007.*
- Ascencio, S., Huanca, L., Turín, V., Mamani, M., Cordero, R., & Hilari, O. (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, 745-752. doi:http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16066.*
- Ayala, C. (2018). *Los camélidos sudamericanos. Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales. 5. Retrieved from http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182018000300003.*
- Baldellou, A., Briones, P., & Ruiz, M. (2015). *Protocolo de diagnóstico y tratamiento de los errores congénitos del metabolismo de la galactosa. Zaragoza: Hospital Miguel Servet. Retrieved from https://aecom.com.es/protocolos/protocolo7.*
- Barraza, D. (2019). *Estudio de Genes Involucrados en el Reconocimiento Materno de la Preñez en Camélidos Sudamericanos. Repositorio Institucional CONICET Digital. Retrieved from https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/93490.*
- Cáceres , E. (2016). *Sistema económico indígena andino: Funcionamiento y lógicas desde la perspectiva del Runa en el Sur Andino. Cusco: Editorial Abya - Yala.*

- Cárdenas, N. (2013). *Empadre y parición de alpacas. Cartilla técnica para la crianza mejorada de alpacas. Comisión Europea. Clasificación SATIS. Descriptores OCDE. Retrieved from ISBN 978-612-4134-08-1.*
- 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(2)), 114-120. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000200005.*
- Cassa, A. (2018). *Vitrificación y calidad de embriones de alpaca (vicugna pacos) recuperados por superovulación utilizando la hormona gonodotropina coriónica equina. Abancay: Universidad Nacional Micaela Batidas de Apurímac. Retrieved from https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/632/T_0355.pdf?sequence=1&isAllowed=y.*
- Castellaro, G. (2015). *Las Alpacas: I. Principales Características. IPA La Platina N°67. Retrieved from <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/30312/NR12724.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.*
- Del Campo, M., Toro, F., Von Baer, A., Montecinos, S., Donoso, X., & Von Baer, L. (2002). *Morphology and physiology of llama (Lama glama) and alpaca (Lama pacos) embryos. Theriogenology, 15(581), 676-678. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S009346T38647691X9400007H>.*
- Elguera, L. (2015). *Evaluación de tres protocolos de superovulación en alpacas para la obtención de embriones, distrito de Sibayo, provincia de Caylloma, Arequipa, 2015. Arequipa: Universidad Católica de Santa María. Retrieved from <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/3097/68.0775.VZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.*
- Estación Experimental Agraria, Illpa - Puno. (2011). *Transferencia de embriones en camélidos. Puno: Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA. Retrieved from <http://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/525>.*

- Forshey, B., Moraes, C., Lakritz, J., Pinto, C., Coffman, E., Schanbacher, B., . . . Coutinho Da Silva, M. (2018). *Embryo production by superovulation and dual siring in alpacas (Vicugna pacos)*. *Small Ruminant Research* 162, 63-68. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.03.006>.
- Gandarillas, D., & Torres, E. (2021). *Manual de Inseminación Artificial en Alpacas*. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman. Retrieved from http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/4432/manual_de_inseminacion_artificial_en_alpacas.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Gutiérrez, J. (2017). *Parámetros genéticos de caracteres funcionales y secundarios en Alpacas*. La Molina: Universidad Nacional Agraria La Molina. doi:10.13140/RG.2.2.29191.09122.
- Hanco, E., Llacsá, J., Quispe, Y., Pérez, M., Luque, N., & Perez, U. (2015). *Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (Vicugna pacos)*. *Spermova*; 5(1): 51 - 54. doi:<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.11>.
- Herrid, M., Billah, M., & Skidmore, J. (2017). *Successful pregnancies from vitrified embryos in the dromedary camel: Avoidance of a possible toxic effect of sucrose on embryos*. *Animal Reproduction Science*, 187, 116-123. doi:<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.10.015>.
- Huanca, T., & Ccopa, J. (2019). *Transferencia de embriones en camélidos domésticos*.
- Huanca, T. (2008). *Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (fsh y e cg) en la respuesta ovárica de embriones en alpacas (vicugna pacos)*. España: Universidad de Santiago de Compostela. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=108710>.
- Huanca, T. (2022). *Recuperación de embriones en hembras de alpacas y llamas con ovulación única o múltiple*. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Programa Nacional de Innovación en Camélidos, Puno, Perú. Retrieved from <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria/v48n1/0325-8718-RIA-48-01-00048.pdf>.

- Huanca, T., González, M., Cárdenas, O., Mamani, R., Naveros, M., & Huanca, W. (2013). *Uso de la biotecnología reproductiva en la conservación de los recursos genéticos: Banco de germoplasma de alpacas de color y llamas*. *Spermova*, 3(1): 37- 40, 15(1). Retrieved from https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1099/5/Huanca-et-al_2013_Alpacas_Llamas.pdf.
- Huanca, W. (2005). *Aplicación de biotecnologías reproductivas en especies domésticas y silvestres de camélidos sudamericanos*. En *Agrociencia* 9 (págs. 505-509).
- Huanca, W., Condori, R., Chileno, M., García, P., Cainzo, J., & Becerra, J. (2014). *Evaluación de Cuatro Tiempos de Cultivo sobre la Tasa de Maduración y División Posfecundación in vitro de Ovocitos de Alpaca*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(4). doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10782>.
- INEI. (2012). *IV Censo Nacional Agropecuario 2012*. Retrieved from <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>.
- Karen, M., & Mansour, N. (2020). *Factors affecting pregnancy rates and pregnancy losses after embryo transfer in dromedary camels*. *Animal Reproduction Science*, 221, 252–255. doi:<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106580>.
- Landeo, L., Mendoza, J., Manrique, L., Taipe, E., Molina, R., Contreras, J., & Ruiz, J. (2016). *First Llama born by in vitro fertilization*. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(1): 188.
- Landeo, L., Zuñiga, M., Gastelu, T., Artica, M., Ruiz, J., Silva, M., & Ratto, M. (2022). *Oocyte Quality, In Vitro Fertilization and Embryo Development of Alpaca Oocytes Collected by Ultrasound-Guided Follicular Aspiration or from Slaughterhouse Ovaries*. *Animals*, 12(9), 1102. doi:<https://doi.org/10.3390/ani12091102>.
- Lozano, J., Uribe, L., & Osorio, J. (2012). *Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (Ovisaries)*. *Revista Veterinaria Y Zootecnia*, 6(2), 134–147. Retrieved from <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4413>.

- Luzt, J., Johnson, S., Duprey, K., Taylor, P., Vivanco, H., Ponce, D., . . . Young, C. (2020). *Birth of a Live Cria After Transfer of a Vitri-fied-Warmed Alpaca (Vicugna pacos) Preimplantation Embryo. Frontiers in veterinary science, 1-8. doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.581877>.*
- Mamani, C., Huanca, W., Echevarría, L., Cordero, A., Huanca, W., & Limache, T. (2016). *Susceptibilidad del cuerpo lúteo a la prostaglandina F2 α en alpacas inducidas a ovulación con plasma seminal y GnRH. Rev. investig. vet. Perú. 27(4). doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12558>.*
- Mamani, R., Huanca, T., Pacheco, J., Zapana, R., & Condori, N. (2013). *Tasa de ovulación utilizando liberador de gonadotropinas y plasma seminal en alpacas y llamas. Rev Inv Vet Perú; 24(2): 194-198. Retrieved from <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n2/a09v24n2>.*
- Marino, M. (2015). *Evaluación del porcentaje de Preñez en alpacas (Vicugna Pacos L.) post transferencia embrionaria en la UAC Tiahuanacu. La Paz: Universidad Católica Boliviana “San Pablo”. Retrieved from <https://www.bibvirtual.ucb.edu.bo/opac/Record/101002972/Description#tabnav>.*
- Massa, A., Perez, U., & Massa, L. (2023). *Evaluación de las características ultrasonográficas testiculares en alpacas macho y su relación con los niveles de testosterona. Fondo Editorial. Retrieved from <https://fondoeditorial.unat.edu.pe/index.php/EdiUnat/catalog/download/21/22/45?inline=1>.*
- Mendoza, J., Landeo, L., Yauri, M., Manrique, L., Molina, R., Castañeda, F., & Ruiz, J. (2013). *Experiencias preliminares de gestación en alpacas y llamas con transferencia de embriones de alpacas producidos in vitro. Reunión Científica Anual de la.*
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2020). *Plan Operativo Institucional Multianual. Lima: Ministerio de Agricultura y Riego. Retrieved from https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/Transparencia/Planeamiento_Org/PlanesPoliticasyPOI/POI_2021_2023.pdf.*

- Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. (2018). *Plan estratégico regional de exportación de Puno*. Puno: Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. Retrieved from https://www.mincetur.gob.pe/wp-content/uploads/documentos/comercio_exterior/Sites/Pecex/avance_regiones/Puno/PER_X_puno.pdf.
- Ministerio de Sanidad, Política e Igualdad. (2017). *Resumen de las características del producto Gentamicinall 5 mg/ml*. Madrid: Ministerio de Sanidad, Política e Igualdad. Retrieved from https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/304+ESP/FT_304+ESP.
- Pacheco, J., Pezo, S., & Vélez, V. (2014). *Eficiencia de la colección y la calidad de embriones de alpaca obtenidos a partir de ovulaciones simples sucesivas*. *Spermova*, 4(2), 159 - 161. Retrieved from http://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.No.4%20Vol.2/7_paceco_2014-II-159-161b.pdf.
- 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). doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19511>.
- Palomino , M., Jones, L., Vanhanen, T., Mastromonaco, G., Busato, R., & Adams, G. (2018). *Alpaca embryo transfer on a private Canadian farm*. *The Canadian Veteinary Journal*, 59(6), 631–634. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5949955/>.
- Palomino, T. (2012). *Unidad doméstica altoandina y crianza de camélidos sudamericanos*. *Investigaciones sociales*, 16(29), 171-188. Retrieved from <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/sociales/article/download/7749/6746/26979>.
- Perez, U., Bustamante, C., Luque, N., Huayta, R., Condori, E., Catacora, N., & Pérez, M. (2021). *Caracterización ultrasonográfica modo-B y Doppler del cuerpo lúteo en llamas*. *J. Selva Andina Anim. Sci.* 8(1):3-11. doi:<https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2021.080100003>.

- 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)*. *Rev Inv Vet Perú*, 1645-1652. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v20i4.17276>.
- Perez, U., Pari, D., Gutierrez, F., Málaga, J., Luque, N., Rojas, R., & Pérez, M. (2021). *Comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en ondas sucesivas de llamas (Lama glama)*. *Rev. investig. vet.* 32(1). Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172021000100014.
- Pezo, D., Franco, E., García, W., Franco, F., Bravo, W., & Alarcón, V. (2014). *Manual del técnico alpaquero 2da Edición*. Retrieved from https://www.produccion-animal.com.ar/libros_on_line/53-manual_alpaquero.pdf.
- Picha, Y., Tibary, A., Memon, M., Kasimanickam, R., & Sumar, J. (2013). *Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas*. *Theriogenology*, 79(4), 702-708. doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.027>.
- Pineda, J. (2012). *Recuperación sucesiva de embriones y retorno folicular post lavado en alpacas (Vicugna pacos) Huacaya donadoras naturales a 2735 m.s.n.m. Ayacucho 2011. Huamanga: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga*. Retrieved from <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2973>.
- Quina, E. (2017). *Inseminación artificial de alpacas en un contexto de crianza campesina*. Desco. Retrieved from http://www.descosur.org.pe/wp-content/uploads/2018/01/LIBRO_publicado.pdf.
- Quispe, A. (2017). *Efecto de la transferencia embrionaria en la migración y localización del embrión de alpacas (Vicugna pacos)*. Puno: Universidad Nacional Del Altiplano. Retrieved from <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3276607?show=full>.
- Quispe, A. (2020). *Efecto de la transferencia embrionaria en la migración y localización del embrión de alpacas (Vicugna pacos)*. Universidad Nacional del Altiplano, Puno. Retrieved from <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3276607?show=full>.

- Quispe, A. (2020). *Efecto de la transferencia embrionaria en la migración y localización del embrión de alpacas (Vicugna pacos)*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Retrieved from <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3276607?show=full>.
- Quispe, N. (2021). *Efecto de la congelación sobre la viabilidad de embriones en llamas, Ayacucho - 2018*. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Retrieved from http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/4587/1/TESIS%20MV198_Qui.pdf.
- Ramos, C., Urviola, J., Rodríguez, F., & Leyva, V. (2020). *Efecto de cópulas posovulación sobre la tasa de sobrevivencia embrionaria en alpacas Huacaya (Vicugna pacos)*. *Rev. investig. Altoandin.* 22 (4). doi:<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.194>.
- Ratto, M. (2012). *Efecto del factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal de llamas sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal*. *Terceras Jornadas Internacionales del Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal*, 14(2), 221-311. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/1791/179130001001.pdf#page=14>.
- Rodríguez, J., & Moresco, A. (2019). *Evaluación clínica de la función reproductiva de los camélidos del nuevo mundo*. Retrieved from <http://www.alvefas.org/Zoologica/FINALEvaluacionClinicadelaFuncionReproductivadelosCamelidosdelNuevoMundo.pdf>.
- Roldan , R., Mendoza, D., Marini, P., & Zambrano , J. (2022). *Gonadotropinas sintéticas en la sincronización de celo para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas mestizas en las condiciones del subtrópico*. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 4(3), 108–116. Retrieved from <https://www.editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/146>.
- Ruiz, J. (2018). *Producción y transferencia de embriones in vitro en camélidos sudamericanos: Nuevas oportunidades y desafíos*. *Spermova* 2018; 8(1): 54 - 60. doi: 10.18548/aspe/0006.06.
- Ruiz, J. (2022). *Biotechnologías Reproductivas en Camélidos Sudamericanos*. Colegio de ingenieros del Perú. Retrieved from

https://www.cip.org.pe/publicaciones/2022/noviembre/portal/biotecnologias-reproductivas-en-camelidos-sudamericanos_v2.pdf.

- Salgado, E., Bouda, J., Aparicio, A., Doubek, J., & Velásquez, F. (2014). *Efecto de la aplicación de prostaglandina F2 α en las primeras horas posparto sobre las concentraciones séricas de calcio en vacas lecheras. Veterinaria México OA, 1(2), 1-13. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2014/vm142c>.*
- Serratos , I., Olayo , R., Morales , J., Godínez , J., Vicente , J., & Segura , B. (2018). *Interacción de albúmina de suero de bovino (BSA) con pirrol sintetizado por plasma (PPPy): estudios computacionales. Revista Tendencias en Docenciae Investigación en Química, 4(4), 639-644. Retrieved from <http://hdl.handle.net/11191/8292>.*
- Sociedad Internacional de Tecnología de Embriones (IETS). (1998). *Manual of the International Embryo Transfer Society (3erd Edition). Estados Unidos . Illinois, EE.UU.: Savoy.*
- Sumar, J. (2013). *Embryo transfer in domestic South American camelids. Animal Reproduction Science. 136 (3): 170-177. doi:10.1016/j.anireprosci.2012.10.029.*
- Tibary, A. (2015). *Embryo transfer in camelids. Spermova, 5(2), 234-252. doi:<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.44>.*
- Tinson, A., Sambyal, R., & Mc Callum, C. (2012). *Factores que afectan la recuperación de embriones en dromedarios: revisión de resultados de los últimos 20 años. Reunión satélite ICAR 2012 sobre reproducción de camélidos., 121.*
- UNAM. (2020). *Pubertad en la hembra. Universidad Nacional Autónoma de México. Retrieved from <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/libro/capitulo20/pubertad-hembra.html>.*
- Urviola, J. (2015). *Libro virtual del VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Marcelino-Aranibar/publication/286625910_VII_WORLD_CONGRESS_ON_SOUTH_AMERICAN*

CAMELIDS-_2015/links/566caf6508aea0892c4fe4d2/VII-WORLD-CONGRESS-ON-SOUTH-AMERICAN-CAMELIDS-2015.pdf.

- Vasquez, A., Pozo, A., Ticona, M., Tapia, G., Zevallos, J., & Huanca, W. (2020). *Caracterización de la emergencia y repetibilidad de la onda folicular en alpacas (Vicugna pacos)*. *Rev. investig. vet.* 31(3). doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18704>.
- Vivanco, Ponce, Gonzales, Young, Jara, & Asparrin. (2018). *112 Estudio comparativo entre congelación lenta y vitrificación sobre la tasa de supervivencia de embriones de alpaca criopreservados post-transferencia*. *Reproducción, Fertilidad y Desarrollo*, 31(1), 182. doi:<https://doi.org/10.1071/RDv31n1Ab112>.
- Walker, P. (2017). *Camelid medicine cabinet*. *Camelid Care Veterinary Services*. Retrieved from https://icinfo.vet.ohio-state.edu/sites/camelid-sta.osumc.edu/files/documents/Camelid_Medicine_Cabinet.pdf.
- Zampini, E., Gallelli, F., Miragaya, M., & Trasorras, V. (2017). *Sincronización de llamas donantes de embriones con un análogo sintético de la GnRH*. *Ciencia, Tecnología e Innovación*. Retrieved from https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/13076/17-cientecinno-zampini-enzo-uba.pdf.

ANEXOS

Anexo 1 Registro de donadoras de embriones



REGISTRO DE EMPADRE DE DONADORAS DE EMBRIONES



FECHA	GRUPO	COLLAR HEMBRA	NOMBRE	COLLAR MACHO	HORA DE INICIO	HORA DE FIN	TIEMPO COPULA	OBSERVACIONES

Anexo 2 Registro de colecta de embriones



REGISTRO DE COLECTA DE EMBRIONES



FECHA	GRUPO	DONADORA	CALIDAD EMBRIONARIA	DIAMETRO EMBRIONARIO	OVARIO CL	DIAMETRO CL	Hora de Colecta	OBSERVACIONES
23/03/2020	G-2	341			O.I.	13.9	03:17	
23/03/2020	G-2	421	EXCELENTE	680	O.I.	12.4	03:31	
23/03/2020	G-2	413	EXCELENTE	720	O.D.	13.75	03:41	
23/03/2020	G-2				O.I.	13.1	03:47	
23/03/2020	G-2	95			O.D.	12.5	03:55	
23/03/2020	G-2	70	EXCELENTE	1020	O.D.	13.71	04:04	
23/03/2020	G-2	428			O.D.	12.5	04:20	
23/03/2020	G-2	418	MALO	880	O.I.	11.5	04:28	
23/03/2020	G-2	52	BUENO	900	O.I.	15.85	04:40	
23/03/2020	G-2	412	REGULAR	780	O.D.	12.67	04:51	
23/03/2020	G-2	429			O.D.	11.85	04:59	
23/03/2020	G-2	66			O.D.	13.3	05:08	
23/03/2020	G-2	432						NO RESPONDIÓ
23/03/2020	G-2	415	EXCELENTE	800	O.D.	11.24	05:20	
23/03/2020	G-2	411	EXCELENTE	580	O.D.	14.55	05:30	
23/03/2020	G-2	422			O.I.	17.45	05:38	
23/03/2020	G-2	417	MALO	450	O.I.	13.8	05:48	
23/03/2020	G-2	424	EXCELENTE	840	O.I.	12.5	05:57	
23/03/2020	G-2	425	BUENO	960	O.I.	14.7	06:09	
29/03/2020	G-1	81			O.I.	8.05	18:10	
29/03/2020	G-1	80			O.D.	12.1	18:20	
29/03/2020	G-1	82						QUISTE FOLICULAR
29/03/2020	G-1	85	MALO	1060	O.I.	13.8	18:31	
29/03/2020	G-1	92	REGULAR	320	O.D.	10.59	18:43	
29/03/2020	G-1	52	EXCELENTE	700	O.D.	13.75	18:48	
29/03/2020	G-1	60	BUENO	930	O.D.	13.35	19:02	
29/03/2020	G-1	91			O.I.	13.1	19:17	
29/03/2020	G-1	93			O.D.	14.65	19:30	
29/03/2020	G-1	69	EXCELENTE	840	O.I.	13.15	19:43	
29/03/2020	G-1	95			O.I.	16.85	20:08	
29/03/2020	G-1	90						NO RESPONDIÓ
29/03/2020	G-1	94	MALO	710	O.I.	12.65	20:25	
29/03/2020	G-1	53	EXCELENTE	660	O.I.	17.2	20:35	
29/03/2020	G-1	89			O.I.	13.95	20:51	

1/04/2020	G-3	262							NO RESPONDIÓ
1/04/2020	G-3	52			O.I.	14.2			METRITIS
1/04/2020	G-3	70			O.I.	11.8	05:18		METRITIS
1/04/2020	G-3				O.D.	9.35			
1/04/2020	G-3	66	REGULAR	670	O.D.	12.8	05:05		
1/04/2020	G-3	93	EXCELENTE	520	O.I.	11.8	04:43		
1/04/2020	G-3	69							NO RESPONDIÓ
1/04/2020	G-3	57			O.D.	13.8	5.47		
1/04/2020	G-3	330							NO RESPONDIÓ
1/04/2020	G-3	79			O.D.	13.45	04:34		
1/04/2020	G-3	341							QUISTE FOLICULAR
1/04/2020	G-3	85			O.D.	12.85	06:13		
1/04/2020	G-3	95			O.I.	12	05:37		
1/04/2020	G-3	265			O.I.	15.55	04:17		
2/04/2020	G-2	432							FOLÍCULO LUTEINIZADO
2/04/2020	G-2	413	BUENO	920	O.I.	15.32	13:45		
2/04/2020	G-2	415			O.D.	15	12:20		
2/04/2020	G-2	411	REGULAR	840	O.I.	14.1	13:24		
2/04/2020	G-2	422	BUENO	410	O.I.	12.9	11:35		
2/04/2020	G-2	417	REGULAR	1280	O.I.	13.05	14:02		
2/04/2020	G-2		EXCELENTE	920	O.D.	12.9	14:10		
2/04/2020	G-2	424			O.I.	13.05	12:03		
2/04/2020	G-2	425	REGULAR	1680	O.I.	11.9	13:11		
2/04/2020	G-2	421	BUENO	730	O.D.	14.7	11:46		
2/04/2020	G-2	428	MALO	950	O.D.	12.95	12:12		
2/04/2020	G-2	418	REGULAR	670	O.D.	13.9	11:54		
2/04/2020	G-2	412			O.I.	12.6	13:35		
2/04/2020	G-2	429	REGULAR	1300	O.I.	13.4	13:54		
8/04/2020	G-1	81			O.D.	13.6	14:40		
8/04/2020	G-1	80	REGULAR	960	O.D.	11.3	15:06		
8/04/2020	G-1	82			O.D.	10.5	17:27		
8/04/2020	G-1	85	EXCELENTE	560	O.I.	15	14:48		
8/04/2020	G-1	92	BUENO	187	O.I.	11.9	15:53		METRITIS
8/04/2020	G-1	52			O.D.	11.4	16:08		
8/04/2020	G-1	60			O.D.	12.05	15:30		
8/04/2020	G-1	91	EXCELENTE	620	O.D.	13	16:33		
8/04/2020	G-1	93	EXCELENTE	200	O.D.	13.05	17:19		
8/04/2020	G-1	69	EXCELENTE	940	O.D.	11.4	17:03		
8/04/2020	G-1	95			O.D.	14.3	15:44		
8/04/2020	G-1	90			O.I.	14.1	15:15		
8/04/2020	G-1				O.D.	12.75			

8/04/2020	G-1	94			O.D.	11.8	14:40	
8/04/2020	G-1	53			O.I.	16.6	16:24	
8/04/2020	G-1	89	EXCELENTE	620	O.D.	11.9	17:49	
13/04/2020	G-3	262			O.I.	13.45	02:22	
13/04/2020	G-3	52	REGULAR	290	O.D.	15.55	01:47	
13/04/2020	G-3	70			O.I.	13.85	03:23	
13/04/2020	G-3	66	MALO	1220	O.I.	12.4	01:10	
13/04/2020	G-3	93	BUENO	1340	O.I.	11.36	01:59	
13/04/2020	G-3	69			O.D.	12.65	02:44	
13/04/2020	G-3	57			O.I.	16.5	03:03	
13/04/2020	G-3	330			O.D.	12.8	01:39	
13/04/2020	G-3	79			O.I.	17.5	01:23	QUISTE LUTEAL
13/04/2020	G-3	85	BUENO	940	O.I.	12.9	02:12	
13/04/2020	G-3	95	EXCELENTE	700	O.I.	12.95	03:12	
13/04/2020	G-3	265			O.D.	12.95	02:33	
14/04/2020	G-2	432						NO RESPONDIÓ
14/04/2020	G-2	413			O.D.	14.8	05:17	
14/04/2020	G-2		MALO		O.I.	11.5	05:21	
14/04/2020	G-2	415	REGULAR	670	O.I.	14.9	03:52	
14/04/2020	G-2	411	EXCELENTE	700	O.D.	12.6	03:42	
14/04/2020	G-2	422	BUENO	330	O.I.	13.5	03:25	
14/04/2020	G-2				O.D.	14.75		
14/04/2020	G-2	417			O.D.	12.8	04:50	
14/04/2020	G-2	424	EXCELENTE	560	O.D.	12.25	04:26	
14/04/2020	G-2	425	EXCELENTE	810	O.D.	13.4	05:00	
14/04/2020	G-2	421	EXCELENTE	720	O.I.	14.1	04:40	
14/04/2020	G-2	428	EXCELENTE	510	O.I.	12.7	05:40	
14/04/2020	G-2	418			O.I.	11.7	04:11	METRITIS
14/04/2020	G-2	412	REGULAR	610	O.D.	12.9	03:59	
14/04/2020	G-2	429			O.I.	13.05	03:35	

Anexo 3 Registro de sincronización de receptoras

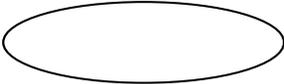
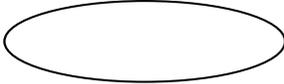


**EFFECTO DEL TIEMPO Y MEDIO DE REFRIGERACIÓN DE EMBRIONES DE ALPACA
(*Vicugna pacos*) SOBRE LA TASA DE PREÑEZ POST TRANSFERENCIA INTER
ESPECIE**

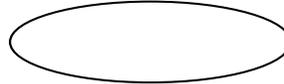


REGISTRO DE SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS

ARETE: _____ RAZA: _____ COLOR: _____ COLLAR: _____

FECHA			OBSERVACIONES
			
			
			

ARETE: _____ RAZA: _____ COLOR: _____ COLLAR: _____

Anexo 4 Registro de transferencia de embriones



EFFECTO DEL TIEMPO Y MEDIO DE REFRIGERACIÓN DE EMBRIONES DE ALPACA (*Vicugna pacos*) SOBRE LA TASA DE PREÑEZ POST TRANSFERENCIA INTER ESPECIE



Ministerio
de Agricultura y Riego

REGISTRO TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (LLAMAS RECEPTORAS)

FECHA	ARETE	COLLAR	TRATAMIENTO REFRIG	TAMAÑO CL (mm)	CAVITARIO/ TRABECULAR	COLLAR DONADORA	CALIDAD EMBRION	UTERO TRANSFERIDO	TIPO TRANSF	HORA DE TRANSFERENCIA	DX GESTACION

Anexo 5 Programa de embriones refrigerados



EFFECTO DEL TIEMPO Y MEDIO DE REFRIGERACIÓN DE EMBRIONES DE ALPACA (Vicugna pacos) SOBRE LA TASA DE PREÑEZ POST TRANSFERENCIA INTERESPECIE



PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego

PROGRAMACIÓN T.E. REFRIGERADOS CAMPAÑA 2020

D	L	M	M	J	V	S	
	EMPADRE G2 HOLD: 24H (am)	SINCRONIZACION G2 HOLD: 24H (am)					MARZO
15	16	17	18	19	20	21	
	COLECTA G2 HOLD: 24H (am)	T.E. G2 HOLD: 24H (am)	EMPADRE G3 TCM: 24H (am)	SINCRONIZACION G3 TCM: 24H (am)			
EMPADRE G1 HOLD: 12H (Pm)	SINCRONIZACION G1 HOLD: 12H (am)			EMP y SINCR G2 HOLD: 18H (am)			
22	23	24	25	26	27	28	
COLECTA G1 HOLD: 12H (Pm)	T.E. G1 HOLD: 12H (am)		COLECTA G3 TCM: 24H (am)	T.E. G3 TCM: 24H (am)			ABRIL
			EMPADRE G1 TCM: 12H (Pm)	COLECTA G2 HOLD: 18H (a partir 10:00am)	T.E. G2 HOLD: 18H (am)		
29	30	31	1	SINCRONIZACION G1 TCM: 12H (am)	2	3	
		EMP y SINCR G2 TCM: 18H (am)	COLECTA G1 TCM: 12H (Pm)	T.E. G1 TCM: 12H (am)			
5	6	7	8	9	10	11	
	EMPADRE G3 TCM: 24H (am)	SINCRONIZACION G3 TCM: 24H (am)					
	COLECTA G3 TCM: 24H (am)	T.E. G3 TCM: 24H (am)					
		COLECTA G2 TCM: 18H (a partir 10:00am)	T.E. G2 TCM: 18H (am)				
12	13	14	15	16	17	18	

FECHA	GRUPO	COLLAR HEMBRA	NOMBRE	COLLAR MACHO	HORA DE INICIO	HORA DE FIN	TIEMPO COPULA	OBSERVACIONES
GRUPO 2								
15/03/2020	G-2	428		PECSA	16:34	16:49	00:15	
15/03/2020	G-2	432		LALO	16:35	16:49	00:14	
15/03/2020	G-2	425		PINKY	16:37	16:43	00:06	
15/03/2020	G-2	424		LEY	16:35	16:53	00:18	
15/03/2020	G-2	415		KARATEKA	16:36	16:55	00:19	
15/03/2020	G-2	429		269215	16:37	16:59	00:22	
15/03/2020	G-2	421		PAJECITO	16:34	16:46	00:12	
15/03/2020	G-2	417		TOTIN	16:37	16:49	00:12	
15/03/2020	G-2	422		CHIROKE	16:33	16:49	00:16	
15/03/2020	G-2	413		CHAMO	16:30	16:46	00:16	
15/03/2020	G-2	412		ZAZ	16:30	16:47	00:17	
15/03/2020	G-2	70		VLADY	16:34	16:55	00:21	
15/03/2020	G-2	95		ZANZON	16:35	16:55	00:20	
15/03/2020	G-2	411		PITER	16:36	16:57	00:21	
15/03/2020	G-2	66		BATISTA	16:36	16:44	00:08	
15/03/2020	G-2	341		CARLIN	16:37	16:58	00:21	
15/03/2020	G-2	52		FANTA	16:31	16:44	00:13	
15/03/2020	G-2	418		CAMARÓN	16:37	16:55	00:18	
REPETICIÓN G-2								
16/03/2020	G-2	428		PECSA	05:28	05:49	00:21	
16/03/2020	G-2	432		LALO	05:29	05:45	00:16	
16/03/2020	G-2	425		PINKY	05:43	05:51	00:08	
16/03/2020	G-2	424		LEY	05:26	05:50	00:24	
16/03/2020	G-2	415		KARATEKA	05:26	05:51	00:25	
16/03/2020	G-2	429		269215	05:45	06:00	00:15	
16/03/2020	G-2	421		PAJECITO	05:43	05:51	00:08	
16/03/2020	G-2	417		TOTIN	05:42	05:52	00:10	
16/03/2020	G-2	422		CHIROKE	05:35	05:49	00:14	
16/03/2020	G-2	413		CHAMO	05:26	05:36	00:10	
16/03/2020	G-2	412		ZAZ	05:35	05:45	00:10	
16/03/2020	G-2	70		VLADY	05:29	05:57	00:28	
16/03/2020	G-2	95		ZANZON	05:33	05:43	00:10	
16/03/2020	G-2	411		PITER	05:25	05:38	00:13	
16/03/2020	G-2	66		BATISTA	05:38	05:50	00:12	

16/03/2020	G-2	341		CARLIN	05:24	05:47	00:23	
16/03/2020	G-2	52		FANTA	05:36	05:57	00:21	
16/03/2020	G-2	418		CAMARÓN	05:42	05:52	00:10	
GRUPO 1								
22/03/2020	G-1	94		PITER	05:28	05:38	00:10	
22/03/2020	G-1	85		BATISTA	05:29	05:42	00:13	
22/03/2020	G-1	91		CHAMO	05:26	05:47	00:21	
22/03/2020	G-1	52		CARLIN	05:14	05:44	00:30	
22/03/2020	G-1	69		LALO	05:30	05:38	00:08	
22/03/2020	G-1	89		ZANZON	05:29	05:54	00:25	
22/03/2020	G-1	53		ZAS	05:24	05:59	00:35	
22/03/2020	G-1	60		VLADY	05:10	05:35	00:25	
22/03/2020	G-1	90		PINKY	05:26	05:40	00:14	
22/03/2020	G-1	81		FANTA	05:23	05:36	00:13	
22/03/2020	G-1	93		CHIROKE	05:18	05:48	00:30	
22/03/2020	G-1	92		LEY	05:22	05:34	00:12	
22/03/2020	G-1	80		FRODO	05:34	05:47	00:13	
22/03/2020	G-1	82		KARATEKA	05:10	05:33	00:23	
22/03/2020	G-1	95		PECSA	05:20	05:40	00:20	
REPETICION GRUPO 1 COLLAR AMARILLO								
22/03/2020	G-R1	94		PITER	17:01	17:17	00:16	
22/03/2020	G-R1	85		BATISTA	17:04	17:13	00:09	
22/03/2020	G-R1	91		CHAMO	17:00	17:08	00:08	
22/03/2020	G-R1	52		CARLIN	17:03	17:20	00:17	
22/03/2020	G-R1	69		LALO	17:03	17:09	00:06	
22/03/2020	G-R1	89		ZANZON	17:02	17:10	00:08	
22/03/2020	G-R1	53		ZAS	16:58	17:20	00:22	
22/03/2020	G-R1	60		VLADY	17:02	17:14	00:12	
22/03/2020	G-R1	90		PINKY	17:04	17:09	00:05	
22/03/2020	G-R1	81		FANTA	17:03	17:15	00:12	
22/03/2020	G-R1	93		CHIROQUE	17:03	17:18	00:15	
22/03/2020	G-R1	92		LEY	17:03	17:14	00:11	
22/03/2020	G-R1	80		FRODO	17:01	17:11	00:10	
22/03/2020	G-R1	82		KARATEKA	17:00	17:10	00:10	
22/03/2020	G-R1	95		PECSA	16:59	17:11	00:12	
GRUPO 3 COLLAR VERDE								
24/03/2020	G-3	262		PITER	18:04	18:30	00:26	
24/03/2020	G-3	52		ZAS	18:08	18:26	00:18	
24/03/2020	G-3	70		KARATEKA	18:07	18:25	00:18	
24/03/2020	G-3	66		BATISTA	18:07	18:32	00:25	
24/03/2020	G-3	93		CHAMO	18:08	18:25	00:17	

24/03/2020	G-3	69		LEY	18:09	18:30	00:21	
24/03/2020	G-3	57		ZANZON	18:22	18:31	00:09	
24/03/2020	G-3	330		FANTA	18:10	18:23	00:13	
24/03/2020	G-3	79		CARLIN	18:11	18:32	00:21	
24/03/2020	G-3	66		PAJECITO	18:11	18:17	00:06	
24/03/2020	G-3	341		VLADY	18:11	18:32	00:21	
24/03/2020	G-3	85		LALO	18:14	18:23	00:09	
24/03/2020	G-3	95		CHIROKE	18:17	18:25	00:08	
24/03/2020	G-3	265		PECSA	18:13	18:23	00:10	
REPETICIÓN GRUPO 3 (COLLAR VERDE)								
25/03/2020	G-R3	262		PITER	05:11	05:21	00:10	
25/03/2020	G-R3	52		ZAS	05:14	05:30	00:16	
25/03/2020	G-R3	70		KARATEKA	05:09	05:20	00:11	
25/03/2020	G-R3	66		BATISTA	05:30	05:41	00:11	
25/03/2020	G-R3	93		CHAMO	05:13	05:28	00:15	
25/03/2020	G-R3	69		LEY	05:05	05:22	00:17	
25/03/2020	G-R3	57		ZANZON	05:37	05:59	00:22	MACHO SE CAMBIO POR FRODO
25/03/2020	G-R3	330		FANTA	05:32	05:40	00:08	
25/03/2020	G-R3	79		CARLIN	05:17	05:29	00:12	
25/03/2020	G-R3	66		PAJECITO			00:00	
25/03/2020	G-R3	341		VLADY	05:09	05:33	00:24	
25/03/2020	G-R3	85		LALO	05:15	05:23	00:08	
25/03/2020	G-R3	95		CHIROKE	05:19	05:41	00:22	
25/03/2020	G-R3	265		PECSA	05:28	05:39	00:11	
GRUPO 2 (COLLAR ROJO)								
25/03/2020	G-2	418		LEY	16:48	17:05	00:17	
25/03/2020	G-2	413		CHAMO	16:49	17:06	00:17	
25/03/2020	G-2	412		CHIROKE	16:48	17:05	00:17	
25/03/2020	G-2	422		KARATEKA	16:50	16:55	00:05	
25/03/2020	G-2	417		ZAZ	16:49	17:11	00:22	
25/03/2020	G-2	424		FANTA	16:49	17:02	00:13	
25/03/2020	G-2	432		FRODO	16:50	17:05	00:15	
25/03/2020	G-2	429		CARLIN	16:51	17:04	00:13	
25/03/2020	G-2	428		VLADY	16:55	17:08	00:13	
25/03/2020	G-2	415		PITER	16.51	16.56	01:12	
25/03/2020	G-2	425		ZANZON	16.51	17.11	14:24	
25/03/2020	G-2	411		PAJECITO	16:52	17:06	00:14	
25/03/2020	G-2	421		LALO	16:51	17:04	00:13	
REPETICION GRUPO 2 (COLLAR ROJO)								
26/03/2020	G-R2	418		LEY	05:14	05:28	00:14	

26/03/2020	G-R2	413		CHAMO	05:09	05:15	00:06	
26/03/2020	G-R2	412		CHIROKE	05:10	05:19	00:09	
26/03/2020	G-R2	422		KARATEKA	05:07	05:17	00:10	
26/03/2020	G-R2	417		ZAZ	05:05	05:21	00:16	
26/03/2020	G-R2	424		FANTA	05:18	05:33	00:15	
26/03/2020	G-R2	432		FRODO	05:17	05:33	00:16	
26/03/2020	G-R2	429		CARLIN	05:15	05:22	00:07	
26/03/2020	G-R2	428		VLADY	05:08	05:32	00:24	
26/03/2020	G-R2	415		PITER	05:11	05:31	00:20	
26/03/2020	G-R2	425		ZANZON	05:05	05:31	00:26	
26/03/2020	G-R2	411		PAJECITO	05:16	05:28	00:12	
26/03/2020	G-R2	421		LALO	05:14	05:19	00:05	
GRUPO 1 (COLLAR AMARILLO)								
1/04/2020	G-1	92		FRODO	07:41	08:00	00:19	METRITIS
1/04/2020	G-1	52		CAMARÓN	07:45	08:07	00:22	
1/04/2020	G-1	82		FANTA	07:39	08:13	00:34	FANTA SALE 171 AYUDA PECSA
1/04/2020	G-1	85		KARATEKA	07:27	08:00	00:33	
1/04/2020	G-1	80		VLADY	07:31	08:07	00:36	
1/04/2020	G-1	93		CHAMO	07:27	07:59	00:32	
1/04/2020	G-1	60		LEY	07:24	07:56	00:32	
1/04/2020	G-1	81		PITER	07:26	07:47	00:21	METRITIS
1/04/2020	G-1	95		PINKY	07:38	07:57	00:19	
1/04/2020	G-1	90		PECSA	07:45	07:53	00:08	
1/04/2020	G-1	91		ZANZON	07:34	08:00	00:26	
1/04/2020	G-1	94		LALO	07:30	07:57	00:27	
1/04/2020	G-1	53		CHIROKE	07:33	08:07	00:34	
1/04/2020	G-1	69		CARLIN	07:29	08:00	00:31	
1/04/2020	G-1	89		ZAZ	07:23	07:53	00:30	
REPETICION GRUPO 1 (COLLAR AMARILLO)								
1/04/2020	G-R1	92		FRODO	17:04	17:13	00:09	APOYO FRODO 15:15 15:25
1/04/2020	G-R1	52		CAMARÓN	17:04	17:23	00:19	
1/04/2020	G-R1	82		FANTA	17:04	17:10	00:06	APOYO CHIROKE 17:12 17:23
1/04/2020	G-R1	85		KARATEKA	17:04	17:28	00:24	
1/04/2020	G-R1	80		VLADY	17:05	17:31	00:26	
1/04/2020	G-R1	93		CHAMO	17:06	17:20	00:14	
1/04/2020	G-R1	60		LEY	17:06	17:16	00:10	APOYO 10364 1:19 15:33
1/04/2020	G-R1	81		PITER	17:06	17:20	00:14	
1/04/2020	G-R1	95		PINKY	17:07	17:21	00:14	
1/04/2020	G-R1	90		PECSA	17:08	17:30	00:22	

1/04/2020	G-R1	91		ZANZON	17:08	17:22	00:14	
1/04/2020	G-R1	94		LALO	17:09	17:31	00:22	
1/04/2020	G-R1	53		CHIROKE	17:04	17:31	00:27	
1/04/2020	G-R1	69		CARLIN	17:12	17:15	00:03	APOYO 206 5:27 5:41
1/04/2020	G-R1	89		ZAZ				NO ACEPTA MACHO
GRUPO 3 (COLLAR VERDE)								
5/04/2020	G-3	262		CARLIN	16:36	17:05	00:29	
5/04/2020	G-3	52		BATISTA	16:36	16:51	00:15	
5/04/2020	G-3	70		KARATEKA	16:55:12	17:03	00:07	
5/04/2020	G-3	93		VLADY	16:38	17:12	00:34	
5/04/2020	G-3	69		CHAMO	16:36	17:03	00:27	
5/04/2020	G-3	57		CAMARON	16:44	17:10	00:26	
5/04/2020	G-3	330		PITER	16:40	16:55	20:32	
5/04/2020	G-3	79		LALO	16:37	17:03	00:26	
5/04/2020	G-3	66		ZANZON	16:39	17:09	00:30	
5/04/2020	G-3	85		FANTA	16:39	16:58	00:19	
5/04/2020	G-3	95		CHIROKE	16:33	16:55	00:22	
5/04/2020	G-3	265		LEY	16:37	16:53	00:16	
REPETICION GRUPO 3 (COLLAR VERDE)								
6/04/2020	G-R3	262		CARLIN	05:14	05:43	00:29	
6/04/2020	G-R3	52		BATISTA	05:20	05:27	00:07	APOYO CHAMO 5:30 5:42
6/04/2020	G-R3	70		KARATEKA	05:20	05:50	00:30	
6/04/2020	G-R3	93		VLADY	05:21	05:43	00:22	
6/04/2020	G-R3	69		CHAMO	05:20	05:42	00:22	
6/04/2020	G-R3	57		CAMARON	05:20	05:25	00:05	APOYO CARLIN 5:27 5:46
6/04/2020	G-R3	330		PITER	05:21	05:36	00:15	
6/04/2020	G-R3	79		LALO	05:21	05:30	00:09	APOYO LALO 5:30 5:38
6/04/2020	G-R3	66		ZANZON	05:22	05:39	00:17	
6/04/2020	G-R3	85		FANTA	05:17	05:30	00:13	
6/04/2020	G-R3	95		CHIROKE	05:17	05:32	00:15	
6/04/2020	G-R3	265		LEY	05:25			NO PUEDE
GRUPO 2 (COLLAR ROJO)								
6/04/2020	G-2	418		BATISTA	16:48	17:08	00:20	
6/04/2020	G-2	413		LEY	16:47	17:00	00:13	
6/04/2020	G-2	412		CARLIN	16:46	17:22	00:36	
6/04/2020	G-2	422		PAJESITO	16:44	16:59	00:15	
6/04/2020	G-2	417		ZAZ	16:48	17:07	00:19	
6/04/2020	G-2	424		LALO	16:49	16:59	00:10	

6/04/2020	G-2	432		PITER	16:49	16:55	20:23	APOYO CHIROKE
6/04/2020	G-2	429		KARATEKA	16:43	17:00	00:17	
6/04/2020	G-2	428		CHAMO	16:48	17:03	00:15	
6/04/2020	G-2	415		PINKY	16:50	17:05	08:22	
6/04/2020	G-2	425		VLADY	16:43	17:09	00:26	
6/04/2020	G-2	411		ZANZON	16:50	17:06	00:16	
6/04/2020	G-2	421		PECSA	16:51	17:08	00:17	
REPETICION GRUPO 2 (COLLAR ROJO)								
7/04/2020	G-R2	418		BATISTA	05:29	05:41	00:12	
7/04/2020	G-R2	413		LEY	05:24	05:43	00:19	
7/04/2020	G-R2	412		CARLIN	05:25	05:42	00:17	
7/04/2020	G-R2	422		PAJESITO	05:22	05:41	00:19	
7/04/2020	G-R2	417		ZAZ	05:21	05:35	00:14	
7/04/2020	G-R2	424		LALO	05:22	05:52	00:30	
7/04/2020	G-R2	432		PITER	05:24	5:32	02:16	
7/04/2020	G-R2	429		KARATEKA	05:20	05:31	00:11	
7/04/2020	G-R2	428		CHAMO	05:23	05:29	00:06	
7/04/2020	G-R2	415		PINKY	05:20	05:47	00:27	
7/04/2020	G-R2	425		VLADY	05:21	05:26	00:05	
7/04/2020	G-R2	411		ZANZON	05:22	05:34	00:12	
7/04/2020	G-R2	421		PECSA	05:29	05:52	00:23	

Anexo 6 Registro de transferencia de embriones en receptoras (llamas)



INSTITUTO
NACIONAL
DE INNOVACIÓN
AGRARIA

REGISTRO TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (LLAMAS RECEPTORAS)



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

FECHA	ARETE	COLLAR	TRATAMIENTO REFRIG	TAMAÑO OCL (mm)	CAVITARIO / TRABECULAR	COLLAR DONADORA	CALIDAD EMBRION	UTERO TRANSFERIDO	TIPO TRANSFER	HORA DE TRANSFERENCIA	DX GESTACION
30/03/2020	100212	8	HOLDING 12 H	11.05	TRAVECULAR	69	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	07:53	PREÑADA
30/03/2020	195312	8	HOLDING 12 H	12.80	TRAVECULAR	53	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	08:18	VACÍA
30/03/2020	94216	4	HOLDING 12 H	12.80	TRAVECULAR	52	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	08:04	VACÍA
30/03/2020	174312	3	HOLDING 12 H	11.60	TRAVECULAR	60	BUENO	DERECHO	ALTA	08:28	VACÍA
16/04/2020	140216	323	HOLDING 12 H	11.90	TRAVECULAR	14	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	19:51	VACÍA
16/04/2020	179214	331	HOLDING 12 H	11.20	TRAVECULAR	14	BUENO	DERECHO	ALTA	20:35	PREÑADA
3/04/2020	99216	42	HOLDING 18 H	14.05	TRAVECULAR	410	BUENO	IZQUIERDO	ALTA	07:53	VACÍA
3/04/2020	29116	37	HOLDING 18 H	12.10	TRAVECULAR	421	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	08:02	PREÑADA
3/04/2020	236317	36	HOLDING 18 H	12.30	TRAVECULAR	418	BUENO	DERECHO	ALTA	08:10	VACÍA
3/04/2020	38115	32	HOLDING 18 H	13.50	TRAVECULAR	417	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	08:17	VACÍA
3/04/2020	8113	44	HOLDING 18 H	12.25	CAVITARIO	417	BUENO	DERECHO	ALTA	08:25	VACÍA
3/04/2020	157214	31	HOLDING 18 H	13.30	CAVITARIO	413	BUENO	IZQUIERDO	ALTA	08:32	PREÑADA
24/03/2020	87212	18	HOLDING 24 H	14.55	TRAVECULAR	421	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:26	PREÑADA
24/03/2020	233212	20	HOLDING 24 H	13.65	TRAVECULAR	413	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:33	VACÍA
24/03/2020	13117	17	HOLDING 24 H	12.25	TRAVECULAR	70	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:49	VACÍA
24/03/2020	59210	13	HOLDING 24 H	11.90	TRAVECULAR	52	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:55	PREÑADA
24/03/2020	199316	21	HOLDING 24 H	12.80	TRAVECULAR	424	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	08:06	PREÑADA
2/04/2020	193214	45	HOLDING 24 H	13.50	TRAVECULAR	93	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	07:20	VACÍA

FECHA	ARETE	COLLAR	TRATAMIENTO REFRIG	TAMAÑO O CL (mm)	CAVITARIO / TRABECULAR	COLLAR DONADO RA	CALIDAD EMBRION	UTERO TRANSFERIDO	TIPO TRANSFER	HORA DE TRANSFERENCIA	DX GESTACION
9/04/2020	49110	436	TCM 12 H	13.65	CAVITARIO	85	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	05:40	PREÑADA
9/04/2020	136213	207	TCM 12 H	11.75	TRAVECULAR	91	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	05:46	PREÑADA
9/04/2020	186315	204	TCM 12 H	12.6	CAVITARIO	69	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	05:56	PREÑADA
9/04/2020	294206	344	TCM 12 H	11.75	TRAVECULAR	93	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	06:03	VACÍA
9/04/2020	173315	350	TCM 12 H	12.45	TRAVECULAR	89	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	06:14	VACÍA
9/04/2020	76210	201	TCM 12 H	13.85	CAVITARIO	92	BUENO	IZQUIERDO	ALTA	06:20	VACÍA
14/04/2020	224316	304	TCM 18 H	8.5	TRAVECULAR	70	BUENO	DERECHO	ALTA	07:38	VACÍA
14/04/2020	217312	301	TCM 18 H	12.95	TRAVECULAR	95	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:43	PREÑADA
14/04/2020	150215	306	TCM 18 H	11.95	TRAVECULAR	85	BUENO	IZQUIERDO	ALTA	08:07	PREÑADA
16/04/2020	176213	330	TCM 18 H	12.65	TRAVECULAR	14	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	20:00	VACÍA
16/04/2020	304409	324	TCM 18 H	10	TRAVECULAR	28	EXCELENTE	IZQUIERDO	MEDIA	20:15	VACÍA
16/04/2020	118216	325	TCM 18 H	10.1	TRAVECULAR	28	BUENO	DERECHO	ALTA	20:19	VACÍA
15/04/2020	319	319	TCM 24 H	10.5	TRAVECULAR	422	BUENO	IZQUIERDO	MEDIA	07:41	VACÍA
15/04/2020	245317	312	TCM 24 H	12.4	CAVITARIO	411	EXCELENTE	IZQUIERDO	MEDIA	07:51	VACÍA
15/04/2020	90212	308	TCM 24 H	12.6	TRAVECULAR	424	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	07:56	PREÑADA
15/04/2020	104217	309	TCM 24 H	17.8	TRAVECULAR	421	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	08:05	PREÑADA
15/04/2020	S/A	318	TCM 24 H	13.1	CAVITARIO	425	EXCELENTE	DERECHO	ALTA	08:16	VACÍA
15/04/2020	233309	316	TCM 24 H	11	TRAVECULAR	428	EXCELENTE	IZQUIERDO	ALTA	08:27	PREÑADA

Anexo 7 Registro fotográfico



Fotografía 01. Empadre de alpacas donadoras grupo rojo; Fotografía 02. Empadre de alpacas donadoras grupo amarillo; Fotografía 03. Empadre de alpacas donadoras grupo verde.



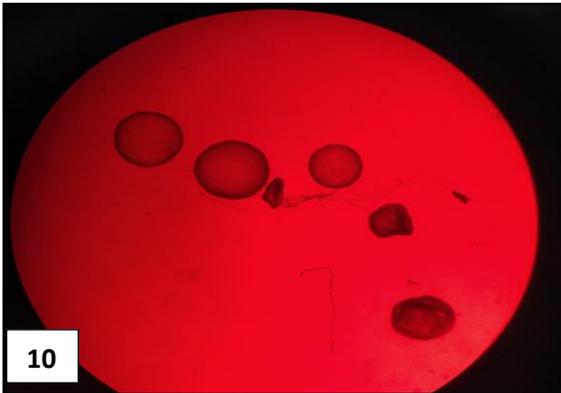
Recuperación de embriones: Fotografía 04. Armado del catéter Foley; Fotografía 05. Armado del flujo continuo de doble vía.



Fotografía 06. Evacuación del contenido rectal y desinfección de la región perianal; Fotografía 07. Fijación del catéter Foley y lavado del cuerno uterino.



Fotografía **08**. Aplicación de la hormona Prostaglandina; Fotografía **09**. del equipo de trabajo de recuperación de embriones.



Fotografía **10**. Selección de embriones con el estereoscopio; Fotografía **11**. Medición del diámetro de los embriones.



Fotografía **11**. Lavado de embriones con el medio Holding; Fotografía **12**. Rotulado de los datos en la pajilla de 0.25 ml.



13

Donadora	Embrión Recuperado	Dignidad Embrionaria	CL	Dignidad CL	Hora
14/104120					
418			OT	11	4:11
413	Embrión degamentado		OT	12	4:27
410	Regular	CL	OT	12.9	4:37
422	Normal	CL	OT	13.8	4:53
414			OT	14	4:54
424			OT	12.25	4:26
422			OT	13.55	4:34
423			OT	13.55	4:34
428		S 10	OT	12.9	4:40
425	Regular	CL	OT	14.9	5:02
425	Regular	CL	OT	13.7	4:52
411	Regular	CL	OT	12.6	4:42
411	Regular	CL	OT	14.1	4:50

14

Fotografía 13. Cargado de la pajilla con utilizando el Transfit; Fotografía 14. Pizarrín con la información de recuperación embrionaria.



15



16

Descenso de temperatura de 37°C hasta 5°C; Fotografía 15. Agua a utilizarse a 2°C; Fotografía 16. Descenso de temperatura utilizando jeringa de 60 ml.



17



18

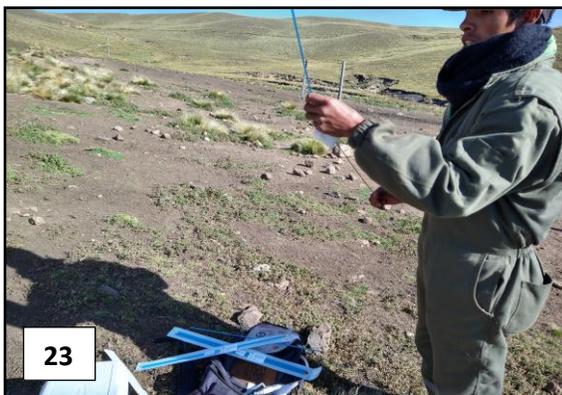
Fotografía 17. Agregando 10 ml de agua a 2°C cada 01 minuto; Fotografía 18. Temperatura previa antes de poner a la refrigeradora.



Fotografía 19. Pajillas refrigeradas a 5.5°C; Fotografía 20. Temperatura durante el transporte en el cooler con hielo y gel.



Cargado de la pistola de transferencia: Fotografía 21. Retiro y secado de la pajueta con papel toalla; Fotografía 22. Cortado de la pajila, lado del alcohol polivinílico.



Fotografía 23. Colocado de la funda a la pistola de transferencia; Fotografía 24. Asegurado de la pistola de transferencia cargada en la funda térmica para mantener la temperatura.



Transferencia de embriones; Fotografía 25. Evaluación de la respuesta de la sincronización; Fotografía 26. Asepsia de la vulva antes de la transferencia.



Fotografía 27. Transferencia de embriones en horas de la mañana; Fotografía 28. Transferencia de embriones y registro de la receptora.



Fotografía 29. Y Fotografía 30. Presencia de botón embrionario a los 21 días post transferencia utilizando el ecógrafo Tringa 7.5 MHz



31

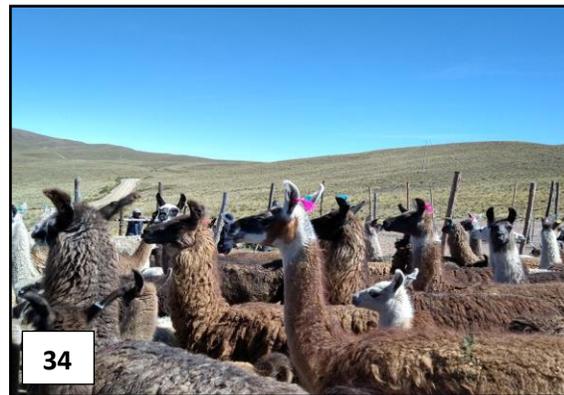


32

Fotografía 31. Y Fotografía 32. Presencia de botón embrionario a los 21 días post transferencia utilizando el ecógrafo Tringa 7.5 MHz



33



34

Fotografía 33. Llamas diagnosticadas como preñadas por diferentes tiempos de refrigeración; Fotografía 34. Trenzado de llamas con los colores correspondientes para los dos medios de refrigeración diagnosticadas como preñadas.



35

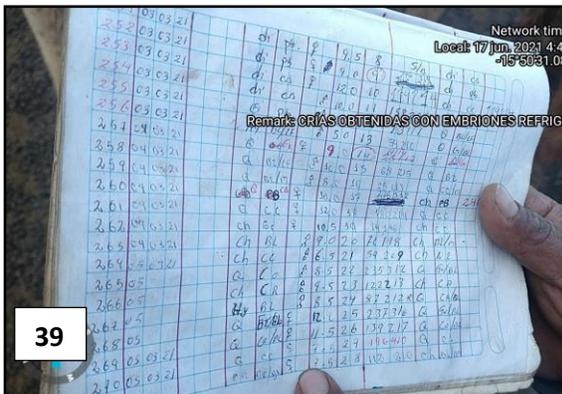


36

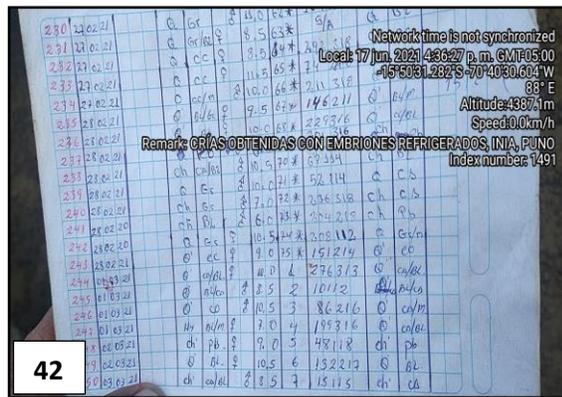
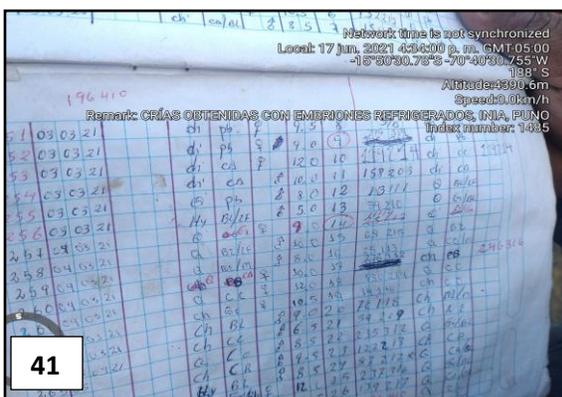
Fotografía 35. Y Fotografía 36. Crías Alpaca Huacaya obtenidas con embriones refrigerados por transferencia de embriones en llamas Q'ara.



Fotografía 37. Y Fotografía 38. Presencia de botón embrionario a los 21 días post transferencia utilizando el ecógrafo Tringa 7.5 MHz



Fotografía 39. Cría Alpaca Huacaya blanco macho nacido con 8.5 de peso vivo, 87212 arete de la madre; Fotografía 40. Cría Alpaca Huacaya blanco hembra nacida con 9.5 de peso vivo, 100212 arete de la madre.



Fotografía 41. Cría Alpaca Huacaya blanco macho nacido con 5.0 de peso vivo, 59210 arete de la madre; Fotografía 42. Cría Alpaca Huacaya blanco hembra nacida con 7.0 de peso vivo, 199316 arete de la madre.