

## COMPARACIÓN DE DOS DOSIS DE eCG PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES EN LLAMA

### Comparison of two doses of eCG for obtaining embryos in llama

Cesar A. Olaguivel<sup>1</sup>, Jaime Ruiz<sup>2</sup>, Pedro Coila<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología Veterinaria, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú

<sup>2</sup> Laboratorio de Biotecnologías Reproductivas. Universidad Nacional de Huancavelica, Perú.

<sup>3</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

\* Corresponding author:  
Cesar A. Olaguivel.  
E-mail:  
[cesar.olaguivel@unsch.edu.pe](mailto:cesar.olaguivel@unsch.edu.pe)

Recibido: 30/10/2021

Aceptado: 12/12/2021

Publicado: 31/12/2021

#### ABSTRACT

The study was developed at the Pampa del Arco Experimental Center of the National University of San Cristóbal de Huamanga, the objective was to evaluate doses of 800 IU (T1) and doses of 1000 IU (T2) of eCG to obtain embryos. Eight adult female llamas were used, distributed four in each treatment (T1 and T2), with a body condition of 2.5, these were evaluated by ultrasound with a 7.5 MHz rectal linear transducer. Hormonal treatments began when the animals had a follicle > 7 mm. The application of eCG was 72 hours after the induction of ovulation of the dominant follicle with GnRH, on day 7 PGF2 $\alpha$  was applied, natural mounting was performed plus GnRH (1ml), on day 15 the collection and evaluation of embryos was performed. The results obtained were the pre-ovarian stimulation follicular diameter of 8.3 mm and 9.1 mm for T1 and T2 respectively, the number of pre-ovulatory follicles was 6.33 and 5.50 for T1 and T2 respectively, the diameter of follicles pre-ovulatory was 11.2mm and 10.6 mm for T1 and T2 respectively, average of embryos recovered per donor was  $4.66 \pm 0.81$  and  $3.50 \pm 0.54$  embryos for T1 and T2 respectively, with a significant difference ( $p < 0.05$ ) and the quality of embryos had 35.7% and 38.1% of embryos of excellent quality, 28.6% and 33.3% of good quality, 10.7% and 9, 5% of regular quality, 10.7% and 0% of poor quality, for T1 and T2 respectively and 14.3% and 19.0% of non-transferable embryos for T1 and T2 respectively, with no statistical difference ( $p \geq 0, 05$ ). It is concluded that the number of embryos recovered with a dose of 800 IU of eCG is higher compared to the dose of 1000 IU of eCG ( $p < 0.05$ ) and that there is no association between the applied dose of eCG and the quality of the llama embryos ( $p \geq 0.05$ ).

**Keywords:** eCG, embryos, superovulation, llamas.

#### RESUMEN

El estudio se desarrolló en el Centro Experimental Pampa del Arco de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, el objetivo fue evaluar dosis de 800 UI (T1) y dosis de 1000 UI (T2) de eCG para la obtención de embriones. Se utilizaron 8 llamas hembras adultas, distribuidas 4 en cada tratamiento (T1 y T2), con una condición corporal de 2.5, estas fueron evaluadas mediante ecografía con un transductor lineal rectal de 7,5 MHz. Los tratamientos hormonales se iniciaron cuando los animales tuvieron un folículo >7 mm. La aplicación de la eCG fue 72 horas después de la inducción de la ovulación del folículo dominante con GnRH, el día 7 se aplicó PGF2 $\alpha$ , se realizó la monta natural más GnRH(1ml), el día 15 se realizó la colección y evaluación de embriones. Los resultados obtenidos fueron el diámetro folicular pre estimulación ovárica de 8,3 mm y 9,1mm para T1 y T2 respectivamente, el número de folículos pre-ovulatorios fue 6,33 y 5,50 para T1 y T2 respectivamente, el diámetro de folículos pre-ovulatorios fue 11,2 mm y 10,6 mm para T1 y T2 respectivamente, promedio de embriones recuperados por donadora fue  $4,66 \pm 0,81$  y  $3,50 \pm 0,54$  embriones para T1 y T2 respectivamente, existiendo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) y la calidad de embriones tuvo 35,7% y 38,1% de embriones de excelente calidad, 28,6% y 33,3% de calidad buena, 10,7% y 9,5% calidad regular, 10,7% y 0% de calidad mala, para T1 y T2 respectivamente y 14,3% y 19,0% de embriones intrasferibles para los T1 y T2 respectivamente no existiendo diferencia estadística ( $p \geq 0,05$ ). Se concluye que el número de embriones recuperados con dosis de 800 UI de eCG es mayor en comparación a la dosis de 1000 UI de eCG ( $p < 0,05$ ) y que no existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones de llama ( $p \geq 0,05$ ).

**Palabras clave:** eCG, embriones, superovulación, llamas.

## INTRODUCCIÓN

La explotación de camélidos sudamericanos domésticos es una actividad de gran importancia social y económica para la población altoandina. En los camélidos sudamericanos domésticos, el desarrollo y aplicación de biotecnologías reproductivas son herramientas alternativas, posibles de ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético utilizando individuos superiores que permitan mejorar la calidad de fibra de una especie doméstica como la alpaca y la calidad de fibra y el incremento en el peso vivo en llamas. Así mismo la aplicación de estas biotecnologías reproductivas puede ser una alternativa que contribuya al incremento de la población y uso racional de los camélidos (DESCO, 2013).

Uno de los principales problemas que limitan el desarrollo de la crianza de camélidos son los bajos índices reproductivos, tales como: la tasa de gestación baja, alta mortalidad embrionaria durante los primeros 35 días de gestación; prolongado periodo de gestación ( $345 \pm 3$  días), una estación reproductiva muy corta (enero-marzo); las primerizas recién alcanzan su primer parto a los 3 años y que solo el 50% de las hembras en edad reproductiva dan 1 cría al año (Huanca, 2008).

Situación que se agrava por la alta mortalidad neonatal que fluctúa entre 12 a 35%; además, en la actualidad, una alpaca o llama hembra en promedio puede producir durante toda su vida reproductiva solamente de 4 a 5 crías y los sistemas de manejos reproductivos que se aplican hoy en día en las comunidades, se basan en esquemas tradicionales (Huanca, 2008; Palomino, 2000; Sumar, 2000).

Los ovarios en camélidos contienen un elevado número de folículos que se encuentran en diferentes estados de desarrollo, de los cuales solamente una pequeña proporción va a ser utilizada durante la vida reproductiva del animal; esta limitante se podría superar utilizando biotecnologías reproductivas como: técnica de superestimulación ovárica, transferencia de embriones; que harían posible que una hembra selecta pueda tener una descendencia numerosa (Velásquez y Novoa, 1999), aunque estudios mencionados en alpacas y llamas tienen resultados variables e inconsistentes (Bravo et al. 1995; Novoa y Sumar, 1968).

Las llamas hembras tienen la limitante de producir menos de 6 crías durante toda su vida productiva, lo que limita el mejoramiento genético en esta especie. Velásquez y Novoa (1999) aplicaron dosis de 1000 UI de eCG y 1000 UI de Gonadotropina coriónica humana (hCG), tanto en fase folicular, como en luteal inducida, obteniendo  $8,2 \pm 2,6$  y  $17,8 \pm 8,3$  ovulaciones, respectivamente; aunque la respuesta ovárica fue excesiva, con formación de quistes foliculares; por lo que se, consideran dosis apropiadas de eCG entre 500 y 750 UI y de hCG de 750 UI. El estudio citado, tuvo una respuesta ovulatoria individual variable, además a dosis de 500 UI de eCG obtuvieron 0% de tasa de recuperación embrionaria.

En camélidos sudamericanos domésticos, la respuesta ovárica a tratamientos de ovulación múltiple es ampliamente variable (Miragaya et al., 2006) con una baja tasa de recuperación de embriones (Bourke et al., 1995).

La utilización de eCG como estimulante de desarrollo folicular en camélidos fue empleada en diferentes protocolos de superestimulación tanto en tiempo y en dosis, obteniéndose respuestas muy variables. Los tratamientos de superovulación realizados en llamas y alpacas hasta el momento no obtuvieron una respuesta uniforme a nivel ovárico y en el número de embriones recuperados (Agüero et al., 2001; Bourke et al., 1992; Bourke, et.al., 1995; Correa et al., 1997). Existe una amplia variación individual que puede atribuirse a distintos factores, fisiológicos, tamaño de folículos, (D'occhio et al., 1999), así mismo la etapa del folículo influye en el momento del inicio del tratamiento influye sobre la respuesta superestimuladora en cada individuo.

Para estimular el desarrollo folicular múltiple se han utilizado la eCG y FSH mientras que, para inducir la ovulación múltiple se han empleado la gonadotropina coriónica humana (hCG), análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la monta natural. Estos tratamientos en camélidos, han sido aplicados tanto en la fase folicular (Bravo et al. 1995; Novoa y Sumar, 1968) como en fase luteal inducida (Bourke et al., 1992; 1995; Correa et al., 1994). Teniendo como resultados en una respuesta ovulatoria variable, llegando a desarrollar de 2 a 11 cuerpos lúteos y recuperar solamente el 50 % de embriones y siendo estos resultados inferiores comparados a otras especies (Del campo et al., 1995). Así mismo, Pacheco et al. (2020) reporta que la dosis de 500 UI de eCG permite obtener una menor cantidad de folículos, pero un mayor número de embriones en llamas. Carretero et al. (2010) reporta promedios de colección embrionaria de 2,9 y 2,6 embriones por hembra en llamas, utilizando Benzoato de estradiol y progesterona más la adición de una dosis de eCG (1000 UI).

Estas limitaciones mencionadas se encuentran asociadas con una baja tasa de respuesta ovárica y una recuperación de embriones de mala calidad, razón por la cual se planteó el presente estudio considerando que es importante establecer protocolos de superestimulación para la obtención de embriones frescos en llamas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de estudio y animales

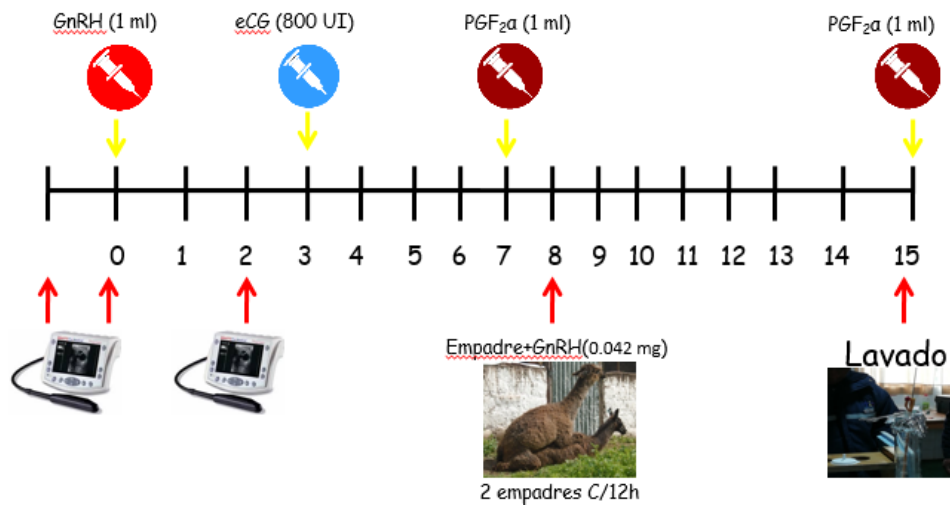
El trabajo fue desarrollado en el Centro Experimental Pampa del Arco - Escuela Profesional de Medicina Veterinaria – Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, cuyas coordenadas geográficas son:  $13^{\circ} 08'$  Latitud Sur y  $144^{\circ} 74' 13''$  Longitud Oeste a 2772 metros sobre el nivel del mar. Se utilizaron 8 llamas hembras adultas mayores a 4 años de edad con un peso promedio de  $80 \pm 6,7$  Kg y de fertilidad probada. Los animales se dividieron al azar en 2 grupos y se alimentaron en base a forraje y alimento concentrado.

### Superestimulación ovárica

Las llamas donantes fueron evaluadas por ultrasonografía transrectal mediante un ecógrafo portátil (Ecógrafo Tringa Linear Vet. Esaote ®). En presencia de folículos mayores a 7 mm, se administró 1 ml de Gonasyn GDR® (Zoetis Animal Health, Parsippany, USA; 5mg de acetato de gonadorelina en 100 mL) para inducir la ovulación, dos días después se verificó la ovulación, en cuyo caso se inició el tratamiento de

superestimulación ovárica con diferentes dosis de eCG Novormon® (SYNTEX S.A. Argentina; eCG 200 UI por 1 ml); 4 ml (n=4) y 5 ml UI (n=4) aplicadas por vía intramuscular. El día 7 se aplicó 1 ml de Lutalyse® (Zoetis Animal Health, Dinoprost

trometamina, 5 mg), por vía intramuscular como agente luteolítico, el día 8 se aparearon las hembras con 2 machos de fertilidad comprobada, seguido de una dosis de GnRH, 12 horas más tardes se realizó un nuevo apareamiento (Figura 1).



**Figura 1.** protocolo de superestimulación de ovarios y colección de embriones en llamas.

### Colecta y evaluación de embriones

La recuperación de los embriones se realizó por un procedimiento no quirúrgico a los 7 días después de efectuarse el apareamiento. Antes de iniciar la operación se administró a cada animal 0,3 g de acepromacina Promazil® para su tranquilización, se inmovilizó el animal en una manga de sujeción diseñada para tal efecto, se procedió a la eliminación del contenido rectal y se aplicaron 2 ml de clorhidrato de lidocaína al 2% para conseguir la anestesia epidural caudal. Finalmente se procedió a la evacuación del contenido fecal e higienización de la zona vulvar (con agua y jabón carbólico, torundas de algodón y papel toalla desechable).

La colección de embriones fue mediante la ubicación del cérvix e inmediatamente se atravesó esta con la ayuda de un dilatador cervical, cubierto por la sonda Foley de 2 vías de 18 mm de diámetro y una camiseta sanitaria, la sonda Foley ya en la luz del cuerno uterino fue fijada por la insuflación del manguito con aire 15 a 20 ml, para la obstrucción de este, comprobándose con movimientos hacia la parte anterior y posterior.

El lavado de los cuernos uterinos se realizó utilizando DPBS (D1408, Sigma Aldrich, USA), previamente calentado a una temperatura de 37°C. con volúmenes de 250 ml y por dos repeticiones, usando aproximadamente 500 ml de volumen total, este medio fue introducido por la sonda Foley conectada a la tubería en Y hasta palpar turgencia en los cuernos uterinos, luego se procedió a cerrar la tubería en Y para evitar reflujos, se realizaron leves masajes en el cuerno uterino, seguido de la liberación del medio de lavado. A todas las donadoras después del proceso de colección de embriones, se les aplicó 1 ml de Lutalyse®.

En el laboratorio se realizó la búsqueda, evaluación y clasificación de embriones con la ayuda de un estereomicroscopio, se dejó por 10 minutos de sedimentación,

el sobrenadante se sifoneó hasta dejar de 20 a 30 ml en el fondo del filtro, esta cantidad se vertió a una placa petri (Pérez, 1994). La evaluación de los embriones se realizó con un estereomicroscopio considerando la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones donde se clasificó bajo las siguientes características excelentes (no fragmentado, de forma esférica y simétrica, sin ninguna irregularidad y células completas), buena (bordes con algunas irregularidades en el contorno y muy poco daño en las células que lo conforman), regular (embrión pequeño con zonas oscuras, contornos irregulares y con algunas células dañadas), mala (embrión colapsado. Muestran áreas de degeneración y muchas células destruidas) e intransferibles (embriones colapsados muy oscuros o retardados, mórulas oscuras y todos los estadios más jóvenes a mórula u ovocitos sin fertilizar); (Stringfellow y Seidel, 1998).

### Diseño estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA), el análisis de varianza con una confianza de 95% ( $\alpha=0,05$ ) con el software SAS versión 9.2. Las variables evaluadas fueron el número de folículos preovulatorios, número de embriones recuperados, ambos sometidos a una prueba de t-student con un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0,05$ ), el número de cuerpos lúteos fue analizado con la prueba de F con un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0,05$ ) y para la calidad embrionaria se utilizó la prueba de Chi-cuadrado con un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0,05$ ).

## RESULTADOS

### Respuesta superovulatoria

Los resultados de los parámetros de respuesta superovulatoria en llamas sometidas a los tratamientos de dosis de 800 UI (T1) y 1000 UI (T2) de eCG se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros de respuesta superovulatoria de llamas donadoras de embriones con dosis de 800UI y 1000UI de eCG (media  $\pm$  DS)

Parámetro	T1 - Dosis de 800 UI	T2 - Dosis de 1000 UI
Diámetro folicular pre estimulación ovarica (mm)	8,3 $\pm$ 0,96	9,1 $\pm$ 0,60
Número de folículos preovulatorios	6,33 $\pm$ 1,03	5,50 $\pm$ 1,04
Diámetro de folículos pre-ovulatorios (mm)	11,2 $\pm$ 0,37	10,6 $\pm$ 0,54
Número de cuerpos luteos	5,52 $\pm$ 0,81	4,07 $\pm$ 0,54

El análisis estadístico demuestra que entre las dosis de 800 UI y 1000 UI, no hubo diferencia significativa para el diámetro folicular pre estimulación ovárica, para el número de folículos

**Tabla 2.** Calidad de embriones recuperados de llamas donadoras de embriones tratadas con dosis de 800UI y 1000UI de eCG

	Calidad embrionaria					Total
	Excelente	Buena	Regular	Mala	Intransferible	
<b>T1</b>	10 (35,7%)	8 (28,6%)	3 (10,7%)	3 (10,7%)	4 (14,3%)	28 (100%)
<b>T2</b>	8 (38,1%)	7 (33,3%)	2 (9,5%)	0 (0,0%)	4 (19,0%)	21 (100%)

## DISCUSIÓN

En llamas, el número de folículos preovulatorios y cuerpos lúteos reportados por Huanca et al. (2006) fue 7,5  $\pm$  1,2 y 5,9  $\pm$  1,3 respectivamente. Pacheco et al. (2020) utilizaron dosis de 500 UI y 700 UI de eCG y lograron obtener 1,6 y 2,6 embriones viables, respectivamente en llamas. Carretero et al. (2010) obtuvieron 2,9  $\pm$  0,9 y 2,6  $\pm$  0,9 embriones por hembra donadora en llamas, utilizando dosis de 1000 UI de eCG y 500 UI de eCG +200mg de FSH, respectivamente. Estos resultados de número de embriones viables fueron similares al tratamiento con 1000 UI de eCG del presente experimento. En el presente estudio el número de embriones viables obtenidos fue superior a lo reportado por (Pacheco et al., 2020; Carretero et al., 2010), ello se debería a las mejores condiciones de alimentación puesto que el estudio fue bajo un sistema de semi estabulación el cual podría haber mejorado la tasa de colecta. Al respecto, Ratto et al. (2013) indicaron que la superovulación produce bajas tasas de recuperación embrionaria y una gran variabilidad de respuesta en camélidos sudamericanos.

Al realizar superovulación en llamas, Evangelista et al. (2009), reportaron 1,33  $\pm$  0,31 en fase luteal y 3,47  $\pm$  0,20 en fase no luteal de embriones al lavado uterino, nuestros resultados son superiores probablemente a las dosis únicas de eCG que fueron administradas en la sincronización de onda folicular e inducción de la ovulación; así mismo, la fase del inicio del tratamiento aplicado influye notoriamente en el promedio de embriones obtenidos. Yamamoto et al., (1993), señalaron que cuanto mayor es la pureza del producto mayor es el número de ovulaciones y la calidad de los embriones. Asimismo, Sirad et al. (2000) señalaron que la superovulación afecta a la maduración nuclear y citoplásmica de los ovocitos disminuyendo su capacidad para ser fecundados y soportar el posterior desarrollo embrionario. Aunque, estos efectos no han

pre ovulatorios, para el diámetro de folículos pre ovulatorios y para número de cuerpos lúteos ( $P > 0,05$ ). Pero, si se encontró diferencia significativa en el número de embriones recuperados, siendo el T1 (dosis de 800 UI) superior al T2 (dosis de 1000 UI) ( $P \leq 0,05$ ).

La tabla 2. Muestra la calidad de los embriones obtenidos expresada en categorías de excelente 35,7% y 38,1%, buena 28,6% y 33,3%, regular 10,7% y 9,5%. mala 10,7% y 0,0% y finalmente intransferible 14,3% y 19,0% para los T1 y T2 respectivamente. Estos resultados obtenidos se expresan en porcentaje dentro de cada uno de los tratamientos, existiendo diferencia numérica entre el total de embriones obtenidos en el T1 y T2, así mismo dentro cada uno de los tratamientos no existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones de llama ( $p \geq 0,05$ ).

sido estudiados aún en los camélidos sudamericanos. Tampoco podemos descartar la influencia del momento en el que realizamos el lavado y la destreza del operador en el número de embriones obtenidos. Por lo tanto, el porcentaje de embriones recuperados está condicionado por diversos factores entre los que se ha destacado por su importancia la incapacidad de la fimbria oviductal para captar todos los ovocitos liberados, el día en el que se efectúa la recogida (Taylor et al., 2001; Novoa et al., 1999).

En llamas, Evangelista et al. (2009) reportaron haber obtenido el 100% (77/77) de embriones recuperados, los cuales fueron calificados como fértiles y transferibles, aunque en diversos grados de calidad. Correa et al. (1997) obtuvieron un 90,48% (19/21) de embriones clasificados como fértiles y un 9,52% (2/21) fueron clasificados como muertos o degenerados, así mismo, al evaluar la calidad de embriones recuperados, comprueba que la utilización de FSH permitió obtener un mayor número de embriones catalogados como excelentes, mientras que el empleo de eCG permitió obtener un mayor número de embriones incluidos dentro de la categoría de buenos, aunque las diferencias observadas carecían de significación estadística. Esta observación coincide con lo descrito en otras especies domésticas, puesto que se indica que los embriones producidos por las hembras tratadas con FSH son de calidad superior (Elsden et al., 1978; Monniaux et al., 1983).

## CONCLUSIONES

El número de embriones recuperados con dosis de 800 UI de eCG es mayor en comparación a la dosis de 1000 UI de eCG y no existe asociación entre la dosis aplicada de eCG y la calidad de los embriones recuperados de llama.

## Conflicto de Intereses

No hay conflicto de intereses entre los autores.

### Agradecimiento

Al Fondo de Desarrollo Socioeconómico de Camisea (FOCAM) y a la Oficina de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga-UNSCH-Perú.

### Contribuciones de autores

COF: Preparación y ejecución, Concepción, diseño, adquisición e interpretación de datos y Redacción del artículo. JRB: Supervisión del estudio, Análisis e interpretación de datos y revisión del artículo. PCA: Interpretación de datos y revisión del artículo.

### REFERENCES

- Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J Reprod Fertil.* 1990 ;90(2):535-45. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0900535>.
- Agüero A, Miragaya MH, Ferrer MS, Capdevielle EF, Chaves MG, Rutter B. Follicular dynamics in (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology.* 2001; 34, 1119-1127. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00238-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00238-3)
- Bourke D, Adam C, Kyle C, Young P, Mc Evoy TG. Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: *Proceedings 12th International Congress on Animal Reproduction*, vol. 1, The Hague, Netherlands, pp 1992; 193-195
- Bourke DA, Kyle CE, McEvoy TG, Young P, Adam CL. Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology.* 1995; 44(2):255-68. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(95\)00175-8](https://doi.org/10.1016/0093-691x(95)00175-8).
- Bravo W. Studies on ovarian dynamics and response to copulation in the south american camelids, *Lama glama* and *Lama pacos*; Tesis Doctor Philosophy, University of California-Davis. 1990 pp 88.
- Bravo PW, Tsutsui T, Lasley BL. 1995. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. *Small Ruminant Res* 18: 157-163. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00721-V](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00721-V)
- Carretero MI, Miragaya M, Chaves MG, Gambarotta M, Agüero A. Embryo production in superstimulated llamas pre-treated to inhibit follicular growth. *Small Ruminant Res* 88: 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.11.006>
- Correa J, Ratto M, Gatica R. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. *Animal Reproduction Science.* 1997; 46, 289-296. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(96\)01615-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(96)01615-6)
- Correa J, Ratto M, Gatica R. Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con Progesterona y Gonadotropina Arch. Med. Vet. 1994; 26: 59-64.
- Del Campo MR, Del Campo CH, Adams GP, Mapletoff RJ. The application of new reproductive technologies to South American Camelids. *Theriogenology* (1995) 43:21-30. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)00007-H](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)00007-H)
- DESCO (Centro de Estudios y Promoción del Desarrollo). Crianza y producción de llamas: una propuesta de uso eficiente de los recursos naturales, frente al cambio climático. 2013.6 p.
- D'occhio M, Novoa C, Vera W. Ovarian follicle regression and emergence of a new follicular wave after injection of 17 $\beta$ -oestradiol in alpacas. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 1999; 29,102. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-13>
- Eldsen RP, Nelson LD, Seidel GE. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare serum gonadotrophin. *Theriogenology.* 1978; 9, 17-26. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(78\)90049-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(78)90049-3)
- Evangelista VS, Cordero RA, Santiani AA, Vásquez EM, Cárdenas MO, Huanca LW. Estimulación con gonadotropina coriónica equina (eCG) durante las fases luteal y no luteal sobre la respuesta ovárica y calidad embrionaria en llamas. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú,* 20(1). 2009; 33-40. <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.528>
- Huanca W, Ratto M, Cordero A, Santiani A, Huanca T, Cárdenas O, Adams G. Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. *Resumen V Congreso Mundial de Camélidos.* 2006 Catamarca-Argentina.
- Huanca T. Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (FSH y eCG) en la respuesta ovárica y en la producción de embriones en alpacas (*Vicugna pacos*), (PhD Thesis). 2008.Universidad de Santiago de Compostela. <http://hdl.handle.net/10347/2445>
- Miragaya M, Chávez M, Agüero A. Reproductive biotechnology in south american camelids. *Small Ruminant Research* 2006. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.017>
- Monniaux, D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology.* 1983; 19, 55-81. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(83\)90124-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(83)90124-3)
- Novoa C, Franco E, García W, Pezo D. Dosis de Gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones en alpacas. *RIVEP.* Perú. 1999; 10(1), 48-53. <https://doi.org/10.15381/rivep.v10i1.6616>
- Novoa C, Sumar J. Colección de huevos in vivo y ensayos de transferencia en alpacas. III Boletín Extraordinario, IVITA, UNMSM 1968; pp. 31-34.
- Pacheco JIC, Vélez VM, García WV. Evaluación de un nuevo protocolo de superovulación en llamas: respuesta ovárica, recuperación embrionaria y alteraciones post-tratamiento, *Rev Inv Vet Perú* 2020; 31(3): e18731 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18731>
- Palomino H. Biotecnología del trasplante y micromanipulación de embriones de bovinos y camélidos de los Andes. Perú: AFA Ed Importadores. 2000: 444 p.
- Pérez G. Efecto de la GnRH (Gonadorelin) sobre el desarrollo folicular, método de inducción de ovulación y embriones en alpacas. Tesis Maestría Ganadería Andina. 75 pp. 1994.
- Ratto MH, Silva ME, Huanca W, Huanca T, Adams GP. 2013. Induction of superovulation in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 136: 164-169. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.006>

- Sirard MA, Robert C, Gagné D, Barnes FL, Bousquet D. Oocyte quality and embryo production in cattle. *Biocell* 24. 2000; (3), 256. <https://doi.org/10.4141/A98-102>
- Stringfellow DA, Seidel SM. Manual of the international embryo transfer society. Third Edition. International Embryo Transfer Society. Printed the United States of America. 1998; 1-169.
- Sumar J. Llamas y Alpacas. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. México: Editorial Interamericana - Mc Graw - Hill. 2000.
- Taylor S, Taylor P J, James A N, Denniston R S y Godke R. Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*. 2001; 53, 1-344.
- Velásquez C, Novoa MC. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev. Invest. Vet. Perú*. 1999; (1), 10. <https://doi.org/10.15381/rivep.v10i1.6615>
- Yamamoto M, Ooe M, Fujii C y Suzuki T. Superovulation in cow given a single intramuscular injection of follicle stimulating hormone dissolved in polyvinyl pyrrolidone, J, Japan. *Vet. Med. Assoc*. 1993; 46, 554-556. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(94\)90184-k](https://doi.org/10.1016/0093-691x(94)90184-k)