



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Composición bioquímica del oviducto, útero y calidad
embrionaria en alpacas con diferentes estímulos de
inducción de ovulación**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Cinthy Melany AHUANARI RAMÍREZ

ASESOR

Wilfredo HUANCA LÓPEZ

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Ahuanari C. Composición bioquímica del oviducto, útero y calidad embrionaria en alpacas con diferentes estímulos de inducción de ovulación [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Cinthy Melany Ahuanari Ramírez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	48165703
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0009-2028-5537
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Wilfredo Huanca López
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10036341
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7601-0067
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Alexei Vicent Santiani Acosta
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10650758
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	María Elith Vásquez Cachay
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	0994524
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Joel Iván Pacheco Curie
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40112676

Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.2.3 Línea de reproducción animal
Grupo de investigación	Biología de la Reproducción Animal - BIOREP
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado.A19080134-PTPGRADO.
Ubicación geográfica de la investigación	<p>Fundo: Buenos Aires País: Perú Departamento: Puno Provincia: San Román Distrito: Cabanillas Ubicado a 3900 m s.n.m. 15°31' de latitud sur y 70°18' longitud oeste.</p> <p>Centro: Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. sección de Biotecnología Reproductiva Departamento: Lima Distrito: San Borja Ubicado a 191 m s.n.m.12°04' de latitud sur y 76°59' longitud oeste.</p> <p>Centro: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez. Departamento de Puno Provincia: San Román Ciudad: Juliaca Ubicado a 3825 m s.n.m.16°05' de latitud sur y 69°38' longitud oeste.</p>
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Noviembre 2018 - agosto 2019
URL de disciplinas OCDE	<p>Ciencia Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01</p> <p>Cría https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.02.02</p>



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **viernes 10 de marzo de 2023**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0240-EPMV/FMV-2022**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Dr.	Santiani Acosta, Alexei Vicent	Presidente del Jurado
MV. Mg.	Huanca López, Wilfredo	Asesor de la Tesis
MV. Dra.	Vásquez Cachay, María Elith	Miembro del Jurado
MVZ. Mg	Pacheco Curie, Joel Iván	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **AHUANARI RAMÍREZ, CINTHYA MELANY** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DEL OVIDUCTO, ÚTERO Y CALIDAD EMBRIONARIA EN ALPACAS CON DIFERENTES ESTÍMULOS DE INDUCCIÓN DE OVULACIÓN”

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **QUINCE (15)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:05**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 29.03.2023 09:13:32 -05:00

.....
Santiani Acosta, Alexei Vicent: MV. Dr. Prof. Principal TC



Firmado digitalmente por HUANCA
LOPEZ Wilfredo FAU 20148092282
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 29.03.2023 16:35:40 -05:00

.....
Huanca López, Wilfredo: MV. Mg. Prof. Principal DE



Firmado digitalmente por VASQUEZ
CACHAY Maria Elith FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 31.03.2023 10:38:42 -05:00

.....
Vásquez Cachay, María Elith: MV. Dra. Prof. Principal DE



Firmado digitalmente por PACHECO
CURIE Joel Ivan FAU 20148092282
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 31.03.2023 10:45:12 -05:00

.....
Pacheco Curie, Joel Iván: MVZ. Mg. Prof. Asociado TC



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria
ep.veterinaria@unmsm.edu.pe



“AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL”

INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
2. Escuela: Medicina Veterinaria
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei Vicent
5. Operador del Programa Informático de similitudes: Sandoval Monzón Rocío Silvia.
6. Documento evaluado: *“Composición bioquímica del oviducto, útero y calidad embrionaria en alpacas con diferentes estímulos de inducción de ovulación”*
7. Autor del documento: Ahuanari Ramírez, Cinthya Melany
8. Fecha de recepción del documento: 17 de noviembre del 2022
9. Fecha de aplicación del programa informático: 21 de noviembre del 2022
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecomillados
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 9%
13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - cybertesis.unmsm.edu.pe: 5%
 - hdl.handle.net: 2%
 - digibuo.uniovi.es: 1%
 - repositorio.umsa.bo: <1%
 - repositorio.lamolina.edu.pe: <1%
 - tesis.ucsm.edu.pe: <1%
 - repositorio.upch.edu.pe: <1%
 - docplayer.es: <1%
14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentran en la sección revisión bibliográfica.
15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN OBSERVACIONES.
16. Fecha del informe: 21 de noviembre del 2022



Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 31.03.2023 15:06:13 -05:00

Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta
Director EPMV

DEDICATORIA

A MI SEÑOR

Por estar siempre conmigo, por llenarme de fuerza y de valor. Nunca deja de protegerme y de guiarme con mucho amor.

A MIS PADRES

Dedico mi tesis a los motores de mi vida, mis papitos Edgar y Melania, gracias por acompañarme incondicionalmente en todas mis decisiones y por darme el soporte económico en mi formación académica. Siempre motivaron todos mis sueños, me acompañan en todo tiempo y todo lo que he podido lograr en mi vida es gracias a ustedes amados padres.

A MI FAMILIA

A mis hermanos queridos Verito, Nano, Gaby, Charito y Florcita, gracias por su cariño, por cuidarme, por sus consejos, por ser mis amigos inseparables que nunca me reprocharon y por creer en mí. También a mis pequeños sobrinos Majo, Pepito y Valery que siempre me regalan mucho cariño, sonrisas y por animarme tanto con sus ocurrencias.

A MIS PEQUEÑOS

A mi Sachy y Thomas, que siempre fueron el motivo principal de estudiar mi linda carrera, y para todos mis pequeños de cuatro patas que me acompañaron e impulsaron mi camino en la Medicina Veterinaria.

AGRADECIMIENTOS

Al querido Dr. Wilfredo Huanca, mi asesor de tesis, que durante todo este tiempo me tuvo mucha paciencia, me brindo consejos y me ayudo.

A la familia Ochoa Hilari que me dieron la oportunidad de poder realizar parte de este trabajo en su fundo y que siempre me trataron con mucho cariño durante mi estancia en Juliaca.

A mi querida UNMSM que me albergo y me formo profesionalmente en esta hermosa carrera durante 6 años.

A Kelly, Pamela y Nancy que siempre son unas verdaderas amigas.

A la Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez de la ciudad de Juliaca, que me brindo ayuda para el procesamiento de mis muestras.

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado, por el financiamiento mediante la RR04692-R-19, Código A19080134 en el concurso de Proyecto de Tesis de Pregrado.

INDICE

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
ABREVIATURAS:.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Inductores de la ovulación.....	2
2.1.1. Plasma seminal como inductor de ovulación.....	3
2.2 Fecundación y desarrollo embrionario	4
2.3 Oviducto.....	5
2.3.1 Anatomía.....	5
2.3.2 Epitelio oviductal.....	6
2.3.3 Fluido oviductal y su importancia	6
2.3.4 Formación del fluido oviductal.....	7
2.3.5 Composición bioquímica fluido oviductal.....	8
2.4 Útero.....	10
2.4.1 Anatomía.....	10
2.4.2 Epitelio uterino	11
2.4.3 Importancia y formación del fluido uterino	12
2.4.4 Composición bioquímica fluido uterino	12
2.4.4.1 Glucosa	13
2.4.4.2 Lípidos: Colesterol y triglicéridos	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1 Lugar de estudio.....	16
3.2 Animales.....	17
3.3 Metodología	17
3.3.1 Fase pre experimental	17
3.3.2 Fase experimental	18
3.4 Análisis estadístico.....	22

IV. RESULTADOS	23
4.1 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS sobre la composición bioquímica del fluido oviductal al 3er día post cópula.	23
4.2 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS sobre la composición bioquímica del fluido uterino al 6to día post cópula.....	24
4.3 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS en el desarrollo embrionario al 3er día post cópula.....	25
4.4 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS en la calidad embrionaria al 6to día post cópula.	25
V. DISCUSIÓN	26
5.1 Composición bioquímica del FO al 3er día post cópula	27
5.2 Composición bioquímica del FU al 6to día post cópula	30
5.3 Calidad embrionaria al 3er día post cópula con inductores de ovulación.....	32
5.4 Calidad embrionaria al 6to día post cópula con inductores de ovulación.....	32
VI. CONCLUSIONES.....	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. LITERATURA CITADA	36
IX. ANEXOS.....	45

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación adicional, post cópula, de dos inductores de ovulación (Plasma Seminal y Gonadotropina Coriónica Humana), sobre la composición bioquímica del fluido oviductal, uterino y el desarrollo embrionario temprano. Se utilizaron 24 alpacas hembra de raza Huacaya, mayores a 4 años de edad, sin cría al pie con fertilidad comprobada. Las alpacas fueron distribuidas aleatoriamente para ser inducidas a ovulación en 3 grupos: T₁ (control) (n=8) se administró 1 ml de fosfato buffer salino (PBS), vía IM + monta natural; T₂ (n=8) se administró 1000 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG), vía IM + monta natural y T₃ (n=8) con 1 ml de plasma seminal (PS), vía IM + monta natural. Para la colección del fluido oviductal, fueron sacrificados 12 animales (4 T₁, 4 T₂ y 4 T₃) al 3er día post cópula y se colectó el tracto reproductivo para separar el oviducto ipsilateral al cuerpo lúteo (CL) y realizar un lavado a través de su unión útero tubal con 5 ml de PBS. Para la colección del fluido uterino, las 12 alpacas restantes (4 T₁, 4 T₂ y 4 T₃) fueron sometidas a un lavado del cuerno uterino ipsilateral al CL, al 6to día post cópula, mediante la técnica recto cervical con 80 ml de PBS. En los contenidos del oviducto (Día 3) y útero (Día 6), se procedió a la búsqueda de embriones con ayuda de un estereoscopio NIKON, pero solo se hallaron embriones en el contenido de fluido oviductal y fueron clasificados según su etapa de desarrollo embrionario. Se realizó la evaluación de la composición bioquímica (glucosa, proteína total, albúmina, colesterol y triglicéridos) con el analizador bioquímico semiautomático URIT-810. El análisis estadístico para la composición bioquímica del fluido oviductal y el fluido uterino para ambos inductores de ovulación fueron realizados con un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor. Los resultados del estudio sugieren que no existe diferencia significativa del efecto de los inductores de ovulación sobre la composición bioquímica del fluido oviductal y del fluido uterino.

Palabras clave: alpaca, fluido, desarrollo, embriones, plasma seminal

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the effect of the additional application, post copulation, of two ovulation inducers (Seminal Plasma and Human Chorionic Gonadotropin), on the biochemical composition of oviductal and uterine fluid and early embryonic development. Twenty-four female alpacas of the Huacaya breed were used, older than 4 years of age, without breeding at the foot with proven fertility. The alpacas were randomly distributed to be induced to ovulation in 3 groups : T₁ (control) (n=8) was administered 1 ml of phosphate buffered saline (PBS), via IM + natural mating ; T₂ (n=8) 1000 IU of human chorionic gonadotropin (hCG) was administered IM + natural mount, and T₃ (n=8) with 1 ml of seminal plasma (PS), IM + natural mount. For the collection of oviductal fluid, 12 animals (4 T₁, 4 T₂ and 4 T₃) were sacrificed on the 3rd day post copulation and the reproductive tract was collected to separate the oviduct ipsilateral to the corpus luteum (CL) and perform a wash through its uterotubal junction with 5 ml of PBS. For the collection of uterine fluid, the remaining 12 alpacas (4 T₁, 4 T₂ and 4 T₃) were subjected to lavage of the uterine horn ipsilateral to the CL, on the 6th day post copulation, using the rectus cervical technique with 80 ml of PBS. In the contents of the oviduct (Day 3) and uterus (Day 6), we proceeded to search for embryos with the help of a NIKON stereoscope, but only embryos were found in the oviductal fluid content and they were classified according to their stage of embryonic development. Biochemical composition evaluation (glucose, total protein, albumin, cholesterol, and triglycerides) was performed with the URIT-810 semiautomatic biochemical analyzer. Statistical analysis for the biochemical composition of oviductal fluid and uterine fluid for both ovulation inducers were performed with a one-way analysis of variance (ANOVA). The results of the study suggest that there is no significant difference in the effect of ovulation inducers on the biochemical composition of oviductal fluid and uterine fluid.

Keywords : alpaca, fluid, development, embryos, seminal plasm

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición bioquímica del FO de mamíferos no gestantes.....	8
Cuadro 2. Composición bioquímica del FU de mamíferos no gestantes.....	13
Cuadro 3. Distribución de grupos experimentales.....	18
Cuadro 4. Valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el fluido oviductal según su grupo experimental	23
Cuadro 5. Valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el fluido uterino según su grupo experimental.....	24
Cuadro 6. Desarrollo embrionario al día 3 según su grupo experimental	25

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Representación anatómica del oviducto y su participación en la reproducción	5
Figura 2. Evaluación del fluido oviductal y calidad embrionaria al día 3	19
Figura 3. Evaluación del fluido uterino y calidad embrionaria al día 6.....	20

ABREVIATURAS:

ATP: adenosín trifosfato

CL: cuerpo lúteo

CU: cuerno uterino

CUD: cuerno uterino derecho

CUI: cuerno uterino izquierdo

FIO: factor inductor de ovulación

FO: fluido oviductal

FU: fluido uterino

hCG: gonadotropina coriónica humana

IM: intramuscular

PBS: fosfato buffer salino

PS: plasma seminal

UUT: unión útero tubal

ZP: zona pelúcida

I. INTRODUCCIÓN

La producción de camélidos es la principal actividad agropecuaria que se desarrolla en las zonas altoandinas ubicadas sobre los 4000 m s.n.m. De esta crianza se obtiene la fibra, carne, piel, cuero, estiércol y también estos animales son utilizados en la medicina tradicional y en el turismo. Según la FAO, esta crianza provee el 70-80 % a las zonas altoandinas y se estima que el 76 % son pequeños productores y el 24 % son medianos y grandes (MINAGRI, 2020).

De acuerdo con el último Censo Nacional Agropecuario tenemos a 3'685,500 de alpacas aproximadamente y la mayor población se encuentra en las regiones de Puno, Cusco y Arequipa (INEI, 2012). El Perú es el primer productor de fibra de alpaca a nivel mundial y cuenta con el 85 % de la población mundial. En los últimos años, se han venido desarrollando estudios en inmunología, bioquímica, endocrinología y entre otras ramas de la medicina, ya que sirve como modelo de estudio (Wrap, 2020).

Los fluidos del oviducto y del útero son fundamentales para la reproducción, ya que proporcionan el ambiente para el paso de los espermatozoides y los óvulos, la fecundación y el desarrollo del embrión antes de la implantación (Velazquez *et al.*, 2010). La composición bioquímica de estos fluidos del tracto reproductivo es importante para la comprensión de la interacción embrión-maternal durante el desarrollo inicial del embrión de alpaca y para una correcta formulación de medios de cultivo específicos para el desarrollo de la biotecnología reproductiva (Argañaraz *et al.*, 2014; Apichela *et al.*, 2015).

En camélidos sudamericanos hay poca información referida a la composición bioquímica del fluido oviductal y uterino, por lo que el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la aplicación adicional, post cópula, de dos inductores de ovulación (plasma seminal o hCG), sobre la composición bioquímica del fluido oviductal, uterino y en el desarrollo embrionario temprano.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Inductores de la ovulación

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, donde la cópula es un factor importante para producir la ovulación. Sin embargo, no es el desencadenante principal, sino que la ovulación se produce en respuesta a un factor presente en el plasma seminal (PS) que induce a un aumento preovulatorio de LH (Carrasco *et al.*, 2018).

La ovulación también puede ser inducida con la administración de hormonas exógenas. Se administran hormonas con acción de LH como la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Sumar, 1994), análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) como la busarelina (Andrade, 2007) y la hormona luteinizante (LH). Al administrar estas hormonas se provoca la liberación de LH, para inducir a la ovulación. En los camélidos también se viene usando el PS como inductor de ovulación para aumentar la tasa de ovulación, así como se utiliza la GnRH (Mamani *et al.*, 2013).

El uso de hCG en hembras induce a la ovulación porque permite una eficiente liberación de LH y al administrarla se presenta una mejor respuesta ovulatoria en comparación con la monta natural (Bravo *et al.*, 1995) y la dosis necesaria para inducir a la ovulación en alpacas es de 500-750 UI de hCG (Novoa *et al.*, 1999).

Estudios también han encontrado una tasa de ovulación superior al 90 %, cuando se usa como inductor de ovulación al PS en alpacas (Adams *et al.*, 2005)). Estos resultados sugieren la posibilidad de utilizar el PS en los programas de inseminación artificial en reemplazo de las hormonas sintéticas (Mamani *et al.*, 2016).

2.1.1. Plasma seminal como inductor de ovulación

En el semen de los camellos se determinó la presencia de un factor inductor de ovulación (FIO) que presentaba una bioactividad similar a la GnRH (Pan *et al.*, 2001) y esto sugirió que en el semen de alpacas también se encontrara. Se comprobó la presencia del FIO en las alpacas, cuando se administró el plasma seminal vía intramuscular porque aumentaron los niveles de LH circulante y se produjo la ovulación (Adams *et al.*, 2005).

La acción del FIO presente en el PS de la alpaca es vía sistémica, como lo demuestra la administración intramuscular (Pánez *et al.*, 2009) y a las 26 horas de su aplicación induce a ovulación (Huanca *et al.*, 2014) e incluso tiene un efecto muy potente aún con dosis bajas (Reyna *et al.*, 2015).

Se determinó una mejor tasa de concepción en animales que se les aplicó PS (75 %) como inductor de ovulación en comparación a los que recibieron un análogo de GnRH (53.1 %) y un tamaño superior del CL con el uso de PS (Palián, 2010). También habría una mejora en la supervivencia embrionaria a la aplicación de PS que de GnRH o la monta natural (Turín *et al.*, 2015).

El FIO fue identificado como el factor de crecimiento nervioso β (β -NGF) en los CSA (Ratto *et al.*, 2012). El β -NGF, induce al mecanismo de ovulación regulada por una relación directa a nivel central en el eje hipotálamo-hipofisario y estimula la secreción hipofisaria de LH (Silva *et al.*, 2020).

El FIO produce un mayor efecto luteotrófico porque modifica su patrón de liberación de LH y mejora la vascularización del tejido en el periodo preovulatorio y en las fases iniciales de la formación del CL (Silva *et al.*, 2017).

Las concentraciones periféricas de estradiol en llamas modulan parcialmente el efecto del FIO sobre la secreción hipofisaria de LH (Silva *et al.*, 2020) y se ha descrito también que existen interneuronas en el hipotálamo que median la ovulación inducida por el FIO del PS (El-Allali *et al.*, 2017; Carrasco *et al.*, 2018).

2.2 Fecundación y desarrollo embrionario

En camélidos la fecundación aún es poco conocida y se sugiere que el oviducto debería desempeñar un papel clave en la movilidad de los espermatozoides, viabilidad y la capacidad de fecundar (Aba, 2014).

En las alpacas el semen es depositado en los cuernos uterinos y se observa una hiperemia a nivel de la unión útero tubal (UUT) que posiblemente es debido a la fricción del pene en la monta (Bravo *et al.*, 1996). La UUT es un reservorio de espermatozoides por sus características anatómicas (Apichela *et al.*, 2009).

El transporte de espermatozoides en alpacas es de manera gradual hasta llegar al lugar de la fecundación, donde a las 18 horas post cópula el 82,7 % se ubica en el istmo (Bravo *et al.*, 1996) y su vida útil fértil durante el almacenamiento se produce gracias a su unión a las células epiteliales que recubren el lumen del oviducto (Aba, 2014). El ovocito llega al oviducto junto con el complejo cúmulo y con ayuda de los cilios se dirige al lugar de la fecundación donde espera a los espermatozoides (Kölle *et al.*, 2009).

Luego de la fecundación, el desarrollo embrionario temprano en camélidos es acelerado. Al día 3 post cópula el embrión presenta 4 blastómeras y se desarrolla hasta mórula o etapa temprana de blastocisto en el oviducto (Picha *et al.*, 2013) y se ubica en el cuerno uterino entre los días 6 y 7 post cópula (Cervantes *et al.*, 2011) en la etapa de blastocisto eclosionado (Picha *et al.*, 2013).

Hasta la implantación, el embrión se desarrolla libremente en el oviducto y en el útero y depende nutricionalmente de sus secreciones para su supervivencia (Hugentobler *et al.*, 2010).

La tasa de supervivencia embrionaria y la ovulación en alpacas no son influenciadas por la etapa de desarrollo del folículo dominante y tampoco por su localización (ovario derecho o izquierdo) (Ratto *et al.*, 2011).

2.3 Oviducto

2.3.1 Anatomía

Los oviductos son estructuras tubulares delgadas de trayecto sinuoso que acopla el ovario al útero. Presenta una longitud de 10 a 12 cm y con un diámetro de 2-3 mm, que a través del mesosalpinx se suspende a la cavidad abdominal (Sato *et al.*, 1986). Está formado por: infundíbulo, la ampolla que presenta un trayecto tortuoso, el istmo y la unión útero tubal. Conecta al cuerno uterino (CU) a través de un orificio estrecho que genera una papila protuberante llamado istmo, cercado por un esfínter, y esto ayuda a evitar el ingreso de los fluidos del útero al oviducto, pero de forma inversa es posible (Sumar y Adams, 2007).

En el oviducto se desarrolla la maduración de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Apichela *et al.*, 2015; Fig.1).

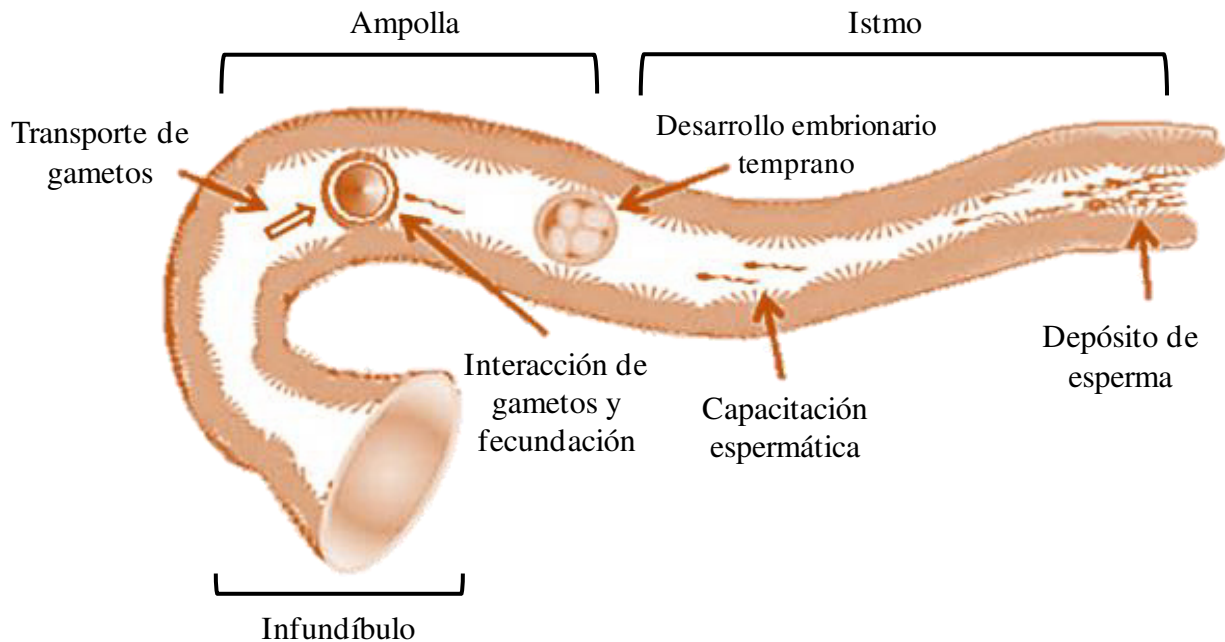


Figura 1. Representación anatómica del oviducto y su participación en la reproducción
Ghersevich *et al.* (2015)

2.3.2 Epitelio oviductal

En los CSA el papel del oviducto y sus secreciones que se forman en el epitelio no se conoce a detalle por el difícil acceso a los animales y al fluido del oviducto (Apichela *et al.*, 2015).

El oviducto de la llama está formado por las capas: serosa, muscular, submucosa y mucosa. La luz oviductal está revestida por la mucosa, que está formada por células columnares ciliadas y no ciliadas o células secretoras (Apichela *et al.*, 2009). En alpacas, se observó en el centro del oviducto a las vellosidades primarias gruesas, con muy pocas ramificaciones y a su lámina propia formada por tejido conectivo denso, y externamente abundantes fibras musculares lisas (Zegarra, 2014).

Apichela *et al.* (2009) menciona que la estructura interna de las células secretoras del oviducto tiene numerosos gránulos de secreción. A nivel de la UUT se observaron gránulos secretores pequeños y más electrodensos, a diferencia de cómo se visualiza en el istmo donde hay gránulos secretores de diferentes tamaños. Desde la ampolla hasta el istmo se observan menos células ciliadas y más células secretoras en su epitelio.

En el oviducto del bovino, luego de la ovulación se determinó que aumenta la frecuencia del movimiento ciliar de las células epiteliales y esto es muy importante para el transporte de los gametos y embriones (Kölle *et al.*, 2009).

2.3.3 Fluido oviductal y su importancia

El fluido oviductal (FO) actúa como modulador para la interacción de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Li *et al.*, 2017). La luz está cubierta por el FO, que es una mezcla de la secreción de células epiteliales del oviducto y de un trasudado del suero sanguíneo (Apichela *et al.*, 2015).

El FO podría estar compuesto por otros fluidos y al menos en el porcino el fluido folicular participa, pero en cantidades inferiores (Brüssow *et al.*, 1999). Sin embargo, no está probado en otras especies y también puede estar afectado por factores externos, incluido el estrés metabólico y ambiental (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

Las hormonas de bajo peso molecular, como los esteroides (progesterona y estradiol) y las prostaglandinas producidas en niveles altos por los folículos ováricos y los cuerpos lúteos, pueden llegar al FO por contratransferencia vascular desde la vena ovárica a la rama del oviducto de la arteria ovárica (Hunter, 2012). También puede ser posible una difusión local de hormonas desde la red linfática del mesovario hacia la luz del oviducto. Las hormonas esteroides ováricas, progesterona y estradiol siempre se detectan en las secreciones oviductales, pero sus concentraciones varían entre especies (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

2.3.4 Formación del fluido oviductal

La formación del FO está controlada por hormonas. Algunas hormonas se originan en el ovario, como las prostaglandinas y los esteroides (el estradiol y la progesterona); y otras provienen del fluido peritoneal, del intestino, del mesenterio y de depósitos de tejido graso como las leptinas (Hunter, 2012).

Las células ciliadas y las células secretoras del epitelio oviductal son sensibles a las variaciones de los niveles de esteroides en sangre. Los estrógenos inducen hipertrofia y aumento de la altura de células epiteliales secretoras y restablece el fenotipo de las células ciliadas. Mientras que la progesterona provoca atrofia de las células secretoras, pérdida del epitelio ciliado y reducción de la secreción celular (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

El oviducto de la llama produce y secreta las metaloproteasas de matriz (MMPs) al lumen oviductal y se sugiere que estas enzimas pueden participar en la preparación del ambiente oviductal para la recepción de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano en camélidos (Zampini *et al.*, 2017).

El sistema nervioso simpático con sus neurotransmisores, como la adrenalina y la noradrenalina, intervienen en la formación del FO porque producen la vasoconstricción y una disminución del aporte sanguíneo al oviducto que inhibe la formación. También influye directamente en el oviducto generando una absorción en presencia de noradrenalina o una secreción bajo la influencia de acetilcolina (Jankovic *et al.*, 2004).

La tasa de secreción y volumen del FO depende de los niveles de estrógenos, secretándose una cantidad máxima en la ovulación y disminuyendo cuando hay un predominio de la progesterona (Carrasco *et al.*, 2008).

Las secreciones del oviducto se renuevan constantemente (Saint-Dizier *et al.*, 2019) y en general se puede afirmar que volumen del FO en la cerda (Iritani *et al.*, 1974), en la vaca (Carlson *et al.*, 1970) y en la yegua (Engle y Foley, 1975) oscilan entre 0.5 a 7 ml por día. En las camellas, no preñadas que fueron sacrificadas, solo aspiraron de 20-40 ul de fluido oviductal (Swelum *et al.*, 2020) y en los bovinos de 10-30 ul por animal (Pillai *et al.*, 2017).

2.3.5 Composición bioquímica fluido oviductal

El FO está formado por una mezcla compleja de moléculas, desde pequeños metabolitos y hormonas de bajo peso molecular hasta lípidos, proteínas y glicoproteínas de alto peso molecular. Algunos de estos componentes son sustratos metabólicos, como el lactato, el ácido pirúvico, los aminoácidos y la glucosa (Saint-Dizier *et al.*, 2019; Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición bioquímica del FO de mamíferos no gestantes

	Porcino	Bovino	Ovino	Alpaca
Glucosa (mg/dl)	17.48 ± 3.6	43.2 ± 30.2	28.5 ± 0.5	65 ± 4.7
PT (g/dl)	1.68 ± 1.23	3.78 ± 1.37	0.21 - 3.2	4.67 ± 0.33
Albúmina (g/dl)	-	1.84 ± 0.12	-	2.23 ± 0.18

(Hamner, 1971; Nichol *et al.*, 1992; Carrasco *et al.*, 2008; Apichela *et al.*, 2015; Jordaens *et al.*, 2017)

2.3.5.1 Glucosa

La glucosa es uno de los sustratos energéticos más estudiados en el oviducto, por su importancia en el metabolismo de los gametos y del embrión y su concentración varía de acuerdo a las necesidades metabólicas del embrión temprano (Saint-Dizier *et al.*, 2019). En

el FO las concentraciones son inferiores a la del plasma sanguíneo, como se ha reportado en bovinos (Jordaens *et al.*, 2017).

Las concentraciones de glucosa en el FO de bovino, no presenta una asociación entre las concentraciones sistémicas de progesterona o estradiol (Hugentobler *et al.*, 2008). Los niveles elevados de glucosa al inicio podrían generar una disminución en el porcentaje del clivaje de embriones bovinos (Nina, 2021).

Los resultados reportados en el FO de alpacas fueron muy variados (Apichela *et al.*, 2015), pero estuvieron en relación con los encontrados en bovinos (Carlson *et al.*, 1970) y superiores a los reportados en oveja (Hamner, 1971).

2.3.5.2 Lípidos: Colesterol y triglicéridos

Los lípidos en el oviducto pueden proporcionar una fuente potencial de energía y son importantes para la proliferación y diferenciación celular. Se acumulan en el ovocito y en el embrión, pero aún los datos de sus efectos en el desarrollo embrionario son escasos (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

El FO presenta una variedad de lípidos que incluye colesterol, triglicéridos y ácidos grasos (Jordaens *et al.*, 2017). En los bovinos la distribución de lípidos dentro del oviducto depende del estado hormonal y su secreción aumenta cuando hay un predominio de la progesterona (Mokhtar, 2015).

El colesterol es un compuesto fundamental para las membranas celulares y de las hormonas esteroideas que incluye progesterona y estrógenos (Pineda, 1989). En bovinos se reportó el rango de colesterol post ovulación del FO (33.7 ± 16.5 mg/dl) y no presentó ninguna interrelación con el colesterol del plasma (124.9 ± 27.3 mg/dl) (Jordaens *et al.*, 2017).

Los triglicéridos son sustancias de reserva y pueden almacenarse en la sangre en grandes cantidades (Couto, 2010) y sus valores varían según la especie. Los niveles presentan una disminución significativa luego de la fertilización y la primera escisión en bovinos (Ferguson y Leese, 1999). En bovinos, el rango de triglicéridos post ovulación en el FO (43.8 ± 20.6 mg/dl) es 3 veces mayor a la del plasma (16.5 ± 6.4 mg/dl) (Jordaens *et al.*, 2017).

2.3.5.3 Proteínas totales y albúmina

Una mezcla compleja de proteínas está presente en el FO, algunas provienen del trasudado sérico y otras de la secreción del epitelio oviductal que está regulado por cambios hormonales (Buhi, 2000). Sin embargo, sus concentraciones son menores a las observadas en el suero (Ménézo *et al.*, 2015).

En el FO encontramos proteínas que mejoran la viabilidad, motilidad y promueven la capacitación de los espermatozoides (Kumaresan *et al.*, 2005). Al menos 32 proteínas que se sintetizan o secretan en el oviducto son alteradas por la presencia de gametos y en una mayor proporción por los espermatozoides (Gergioui *et al.*, 2005).

Las proteínas de mayor cantidad en el FO son: albúmina sérica, oviductina (OVGP1), proteínas de choque térmico (HSP90B1, HSP90AB1, HSP90AA1, HSPA8, HSPA1B, HSPA5), anexinas (ANXA1, ANXA4), subunidades de tubulina (TUBB5, TUBA4A), complemento C3 y miosinas (MYH9, MYH14). También se encuentra una alta proporción de reguladores metabólicos, enzimas, componentes de la matriz extracelular y factores de crecimiento que intervienen en el desarrollo embrionario (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

La albúmina probablemente sea la de mayor importancia y la más abundante, como se ha reportado en el FO de bovinos (Nina, 2021). Tiene la capacidad de unir lípidos (Ehrenwald *et al.*, 1990), péptidos (Ménézo y Khatchadourian, 1986) o catecolaminas (Khatchadourian *et al.*, 1987) y es considerada un factor principal en la capacitación espermática de los mamíferos porque induce la liberación del colesterol de la membrana espermática para continuar con la reacción acrosomal (Abou-haila and Tulsiani, 2009).

2.4 Útero

2.4.1 Anatomía

El útero de alpacas está compuesto por dos cuernos, cuerpo, cérvix y tiene apariencia de Y. Los cuernos miden aproximadamente 7.5 cm de largo (Sato y Montoya, 1990) y 3.01 cm de diámetro (Bravo y Sumar, 1989). El cuerno uterino izquierdo (CUI) es de mayor tamaño que

el cuerno uterino derecho (CUD) y se marca más esta desigualdad en las hembras multíparas porque el 98 % de las gestaciones se producen en el CUI (Fernández-Baca *et al.*, 1973).

El cuerpo del útero es la unión de ambos cuernos que presenta forma cilíndrica, ligeramente aplanada dorso ventralmente y mide aproximadamente 1.5 cm de largo y unos 2 cm de diámetro (Sato *et al.*, 1986).

El cérvix constituye la parte caudal del útero que se une a la vagina y está formado por tres a cuatro pliegues anulares del miometrio (Sato *et al.*, 1986) y presenta una longitud en medio de 2 y 5 cm. La magnitud de que se abra o se cierra está bajo control endocrino, de tal forma que su luz se agrande en el celo para la cópula y en animales preñados se estreche para el cuidado del feto (Sato y Montoya, 1990).

2.4.2 Epitelio uterino

El útero de alpacas presenta una capa externa serosa o de perimetrio, una capa intermedia muscular o miometrio y la membrana mucosa o endometrio. El miometrio es bastante grueso y está formado por el músculo liso que incluye una capa interna circular y una capa externa longitudinal (Zegarra, 2014).

En alpacas el endometrio es de tipo cilíndrico simple con núcleo circular basal con zonas de invaginación que forman las nuevas glándulas endometriales. Las glándulas que se ubican en las zonas más superficiales, están separadas entre sí y presentan lumen glandular. El epitelio glandular es de tipo cilíndrico simple alto con núcleo circular con posición basal generalmente (López *et al.*, 2014). La función del epitelio glandular es transportar, sintetizar y secretar enzimas, proteínas, iones, glucosa, citoquinas, factores de crecimiento, hormonas, entre otras sustancias (Forde *et al.*, 2013).

El perimetrio está formado por tejido conectivo laxo y revestido internamente por un epitelio escamoso simple, con vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas (Samuelson, 2007).

2.4.3 Importancia y formación del fluido uterino

El fluido uterino (FU) brinda una nutrición continua al embrión antes que se produzca la implantación y permite el intercambio de factores de señalización vitales para su crecimiento. Está formado por el trasudado de suero sanguíneo y de secreciones del epitelio glandular y luminal del endometrio (Drews *et al.*, 2018).

Salamonsen *et al.* (2013) menciona que el FU puede considerarse como un reflejo de los componentes del endometrio o el embrión, que posiblemente intervenga en la comunicación materno-embrión.

El FU está controlado por las hormonas endocrinas y las locales relacionadas con la etapa reproductiva y el estado de la preñez (Forde *et al.*, 2014). Cuando hay una influencia del estradiol en la etapa reproductiva, se aumenta el número de mitosis y el endometrio se engrosa, el epitelio nuevamente recubre toda la superficie endometrial, aumenta el número de células ciliadas y los vasos sanguíneos también incrementan (Li *et al.*, 1988). Así mismo, se estimula la síntesis y el aumento de la concentración de los receptores de estrógeno y de progesterona. Cuando los niveles de progesterona predominan, se induce la síntesis y secreción de proteínas (Bazer *et al.*, 2010). Se producen cambios endometriales desde una arquitectura proliferativa a una secretoria, con máxima secreción durante el periodo de receptividad embrionaria y se regula la expresión de numerosas proteínas (Argañaraz *et al.*, 2014).

En las camellas, no preñadas que fueron sacrificadas, solo aspiraron de 20-40 ul de fluido uterino (Swelum *et al.*, 2020) y en bovinos con aspiración *in vivo* de 10-400 ul por animal (Velazquez *et al.*, 2010).

2.4.4 Composición bioquímica fluido uterino

El FU está formado por una mezcla compleja de proteínas, aminoácidos, azúcares, iones y lípidos. Se produce una variación del volumen y de su composición bioquímica durante la fase reproductiva y suele aumentar con la presencia de gametos y el embrión (Forde *et al.*, 2014; Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición bioquímica del FU de mamíferos no gestantes

	Caballo	Bovino	Ovino	Porcino
Glucosa (mg/dl)	51.17 - 106.6	0.36 - 0.72	20.0 ± 11.6	18.4 ± 7.2
PT (g/dl)	5.9-1.4	7.20 ± 0.44	4.5 ± 1.0	5.2 ± 1.0
Albúmina (g/dl)	0.4 - 3.3	0.88 ± 0.10	-	-

(Carlson *et al.*, 1970; Iritani *et al.*, 1974; Tunón *et al.*, 1998; Alavi *et al.*, 2006)

2.4.4.1 Glucosa

La glucosa es uno de los sustratos energéticos importantes y su concentración es baja durante el desarrollo embrionario temprano, pero aumenta considerablemente en la etapa de blastocisto en bovinos (Hugentobler *et al.*, 2008). Los niveles aumentan conforme avanza la preñez temprana para cubrir la demanda energética (Lane and Gardner, 2007).

En bovinos se reportó que no hay una asociación entre las concentraciones sistémicas de progesterona o estradiol y la concentración de glucosa en el FU (Hugentobler *et al.*, 2008).

Argañaraz *et al.* (2014) realizó la primera evaluación bioquímica del FU en alpacas, en el cual evaluó los niveles de glucosa en animales no preñadas (CUD: 0.67 ± 0.58 mg/dl y CUI: 0.33 ± 0.58 mg/dl), preñadas con 5 semanas de gestación (CUD: 0.50 ± 0.09 mg/dl y CUI: 1.00 ± 0.00 mg/dl) y preñadas con 9 semanas de gestación (CUD: 1.50 ± 0.71 mg/dl y CUI: 3.00 ± 1.41 mg/dl) y reportó que hay una variación en la concentración de glucosa conforme avanza los días de gestación, donde los valores eran mayores en el cuerno uterino izquierdo.

2.4.4.2 Lípidos: Colesterol y triglicéridos

Los lípidos brindan una reserva de energía potencial al ovocito y al embrión temprano y son muy importantes en especies con un largo periodo de preimplantación (Ambruosi *et al.*, 2009).

Los ácidos grasos (AG) aportan energía, influyen en las propiedades de la membrana celular y apoyan de manera importante en el ovocito y en el desarrollo del embrión (Drews *et al.*, 2018).

Otros sustratos energéticos como los triglicéridos y colesterol fueron analizados en el FU de alpacas. Los niveles de triglicéridos en animales no preñadas (CUD: 1.67 ± 1.15 mg/dl y CUI: 0.50 ± 0.65 mg/dl), con 5 semanas de preñez (CUD: 0.33 ± 0.58 mg/dl y CUI: 2.50 ± 2.38 mg/dl) y con 9 semanas de preñez (CUD: 0.50 ± 0.71 mg/dl y CUI: 1.50 ± 0.71 mg/dl), no presentaron diferencias entre los grupos y los niveles de colesterol no fueron detectados (Argañaraz *et al.*, 2014). Este nivel mínimo no detectado posiblemente se produjo por el intercambio del colesterol entre tejido y plasma, como se reportó en ratones (Ozegbe, 2005).

2.4.4.3 Proteínas totales y albúmina

La composición total de proteínas en el FU no está bien definida, pero incluye enzimas, factores de crecimiento y citoquinas (Forde *et al.*, 2014) y existe un aumento de su concentración cuando los niveles de progesterona ascienden en la etapa reproductiva (Mullen *et al.*, 2012).

Existen numerosos factores que el endometrio secreta a su luz, que son muy importantes para el correcto desarrollo del embrión. El factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-I), secretado en forma endocrina por el hígado, pero también paracrina por el útero, es uno de los factores que podría estimular el desarrollo embrionario directamente, o indirectamente, estimulando la secreción endometrial (Wathes *et al.*, 1998).

En bovinos se han reportado valores de PT en el FU en todas las etapas del ciclo estral, pero fueron superiores a los niveles de PT en suero y era más evidente en el proestro y estro. Esto puede deberse a un alto flujo sanguíneo en el útero durante estas fases (Alavi *et al.*, 2006).

Se reportaron valores de proteína total en alpacas no preñadas y con 5 o 9 semanas de gestación. Conforme aumentó el tiempo de gestación, los niveles eran mayores y se encontró variaciones en el CUD y el CUI, que posiblemente puede estar asociado a la capacidad del CUI para mantener la preñez. Así mismo, las diferentes proteínas que identificaron cumplen

las funciones inmunológicas, glicolisis, angiogénesis y protección contra el estrés oxidativo (Argañaraz *et al.*, 2014).

La albúmina es una fuente de aminoácidos para el tejido, regula la presión osmótica coloidal y transporta una amplia gama de iones y moléculas. El FU tiene en su composición altos niveles de albúmina, lo que mejora en el desarrollo embrionario del bovino, protegiéndolo de sustancias tóxicas y aportando los factores de crecimiento a ciertas hormonas (Nina, 2021) y en bovinos se han reportado valores inferiores a los del suero (Alavi *et al.*, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

El siguiente estudio se desarrolló en 4 lugares diferentes:

- **Colección del fluido oviductal (Día 3):** Se realizó durante los meses de noviembre y diciembre del año 2018. La crianza y empadre de los animales se realizó en el Fundo Buenos Aires, ubicado a 3900 m s.n.m. 15°31' de latitud sur y 70°18' longitud oeste, en el distrito de Cabanillas, provincia de San Román, departamento de Puno.

La obtención del órgano reproductor femenino, colección del fluido oviductal y la evaluación de la calidad embrionaria, se desarrolló en las instalaciones del centro de sacrificio la Pampa, ubicada en Juliaca, provincia de San Román, departamento de Puno.

- **Colección del fluido uterino (Día 6):** Se realizó durante los meses de junio y julio del año 2019. La crianza, empadre, colección del fluido uterino y la evaluación de la calidad embrionaria se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, sección de Biotecnología Reproductiva (12°04' de latitud sur y 76°59' longitud oeste y a 191 m s.n.m.).
- **Análisis bioquímico de los fluidos del oviducto y útero:** Las muestras fueron procesadas en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez de la ciudad de Juliaca, provincia de San Román, departamento de Puno (16°05' de latitud sur y 69°38' longitud oeste y a 3825 m s.n.m.).

3.2 Animales

Para el experimento se emplearon 24 alpacas de raza Huacaya, hembras, adultas entre 4 a 6 años de edad, sin cría al pie, que presentaban buena salud general y condición corporal entre 3 y 3,5.

También se emplearon 8 alpacas machos de raza Huacaya y entre 4 a 5 años de edad, con descendencia registrada y en buenas condiciones de salud, con condición corporal entre 3 y 3,5 para realizar el empadre de las 24 alpacas.

3.3 Metodología

3.3.1 Fase pre experimental

Para la colección del plasma seminal, se realizó la colección del semen mediante una vagina artificial adaptada de ovino a 4 alpacas adultos machos, con una frecuencia de 2 veces por semana, desde dos meses antes del inicio de la fase experimental. El eyaculado obtenido fue mezclado en una proporción 1:1 con Fosfato Buffer Salina (PBS) y se procedió a centrifugar a 3000 rpm por 20 minutos. Se evaluó con la ayuda de un microscopio la ausencia de espermatozoides y si existieran, se procedía a una nueva centrifugación. Posteriormente, el sobrenadante fue colectado en tubos falcón de 15 ml, haciendo un pool de todos los eyaculados del día y se agregó Gentamicina (10µl/10mL) y se llevó a congelación a -20°C hasta su uso (Mamani *et al.*, 2016).

3.3.2 Fase experimental

El día 0 se procedió a realizar una ecografía transrectal (Aloka SSD 500 con transductor lineal modo B) en las 24 alpacas de raza Huacaya preseleccionadas, para determinar si las hembras estaban aptas para ser servidas (folículo pre ovulatorio ≥ 7 mm). Las alpacas con un folículo ≥ 7 mm fueron empadradas y asignadas (n=4) aleatoriamente a los grupos de estudio, para luego proceder a la aplicación vía IM del tratamiento respectivo (Cuadro 3).

Los tratamientos fueron: plasma seminal a una dosis de 1 ml, hCG a una dosis de 1000 UI y fosfato buffer salino (PBS) a dosis de 1 ml (grupo control).

Grupos experimentales

T₁ (n=8): Control: monta natural + 1 ml PBS

T₂ (n=8): monta natural +1000 UI hCG

T₃ (n=8): monta natural + 1 ml de PS

Los grupos experimentales fueron para los animales del día 3 (oviducto) y para el día 6 (útero).

Cuadro 3. Distribución de grupos experimentales

	Grupos experimentales			
	T ₁	T ₂	T ₃	TOTAL
Oviducto (3er día)	4	4	4	12
Útero (6to día)	4	4	4	12
Total	8	8	8	24

Los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con las normas y condiciones establecidas por el Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

3.3.2.1 Lavado de oviducto y recuperación de embriones

Las 12 alpacas seleccionadas fueron empadradas (Día 0) por 15 minutos e inmediatamente se aplicó el tratamiento respectivo (PBS=4, hCG=4 y PS=4) vía IM para cada animal.

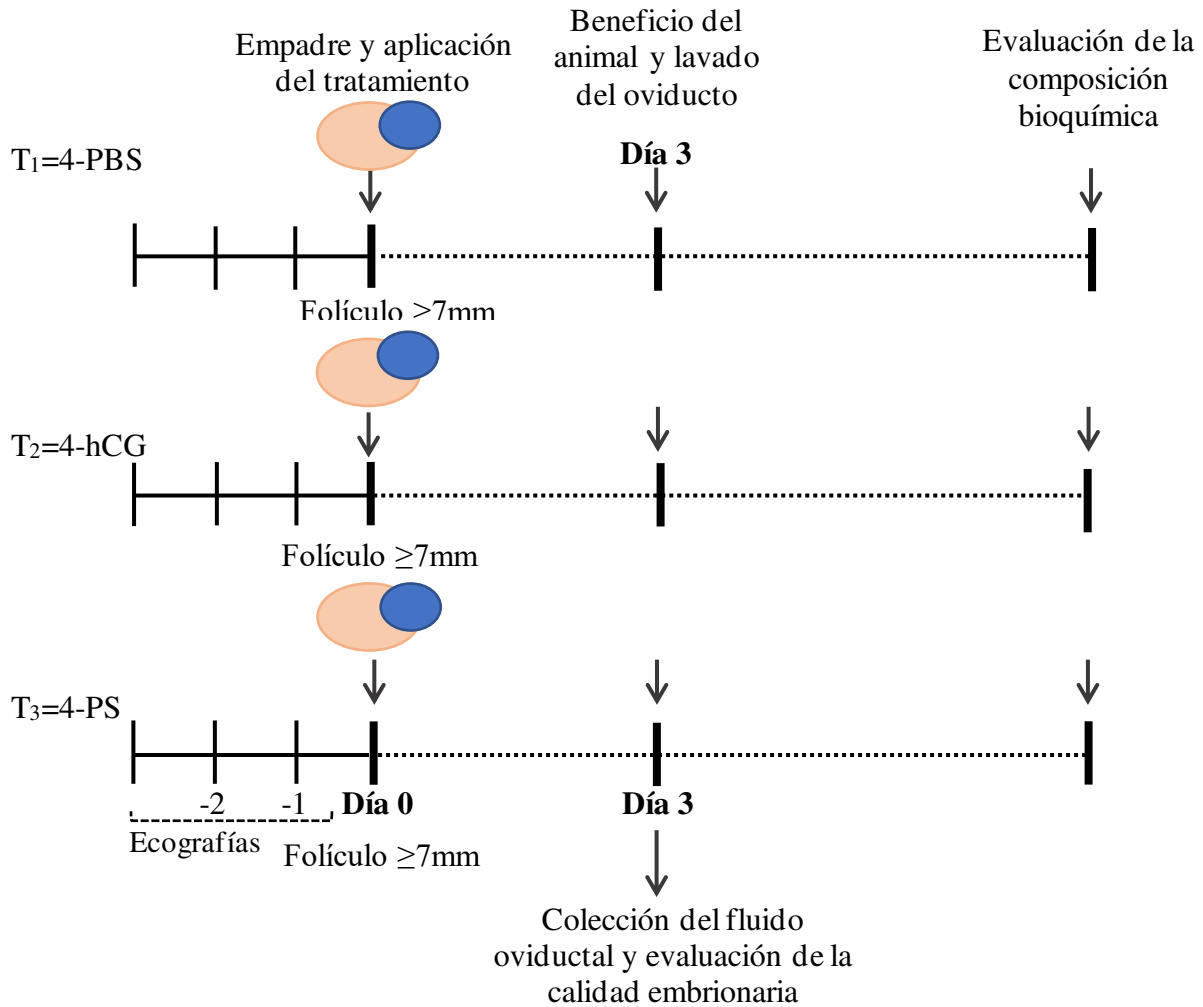


Figura 2. Evaluación del fluido oviductal y calidad embrionaria al día 3

Inmediatamente después del sacrificio, se colectó el tracto reproductivo (Día 3) y se procedió a separar el oviducto. El lavado se realizó a nivel del oviducto ipsilateral al CL (Cervantes *et al.*, 2011). Para ello se utilizó 5 ml de PBS a 37°C y se aplicó a nivel de la unión útero tubal, recuperándose el líquido por el extremo opuesto en una placa Petri estéril grande y se llevó al estereoscopio para la búsqueda del embrión.

Luego de la búsqueda del embrión, el fluido colectado fue centrifugado a 3000 r.p.m. por 10 minutos para separar los restos celulares. El sobrenadante, en el menor tiempo posible, fue colocado en crioviales de 2 ml y almacenado en nitrógeno líquido hasta su análisis bioquímico.

3.3.2.2 Lavado uterino y recuperación de embriones

Las 12 alpacas seleccionadas fueron empadradas (Día 0) por 15 minutos e inmediatamente se aplicó su tratamiento respectivo (PBS=4, hCG=4 y PS=4) vía IM para cada animal. Para poder realizar el lavado del útero al 6to día post tratamiento, se registró primero la ovulación de los animales mediante ecografía.

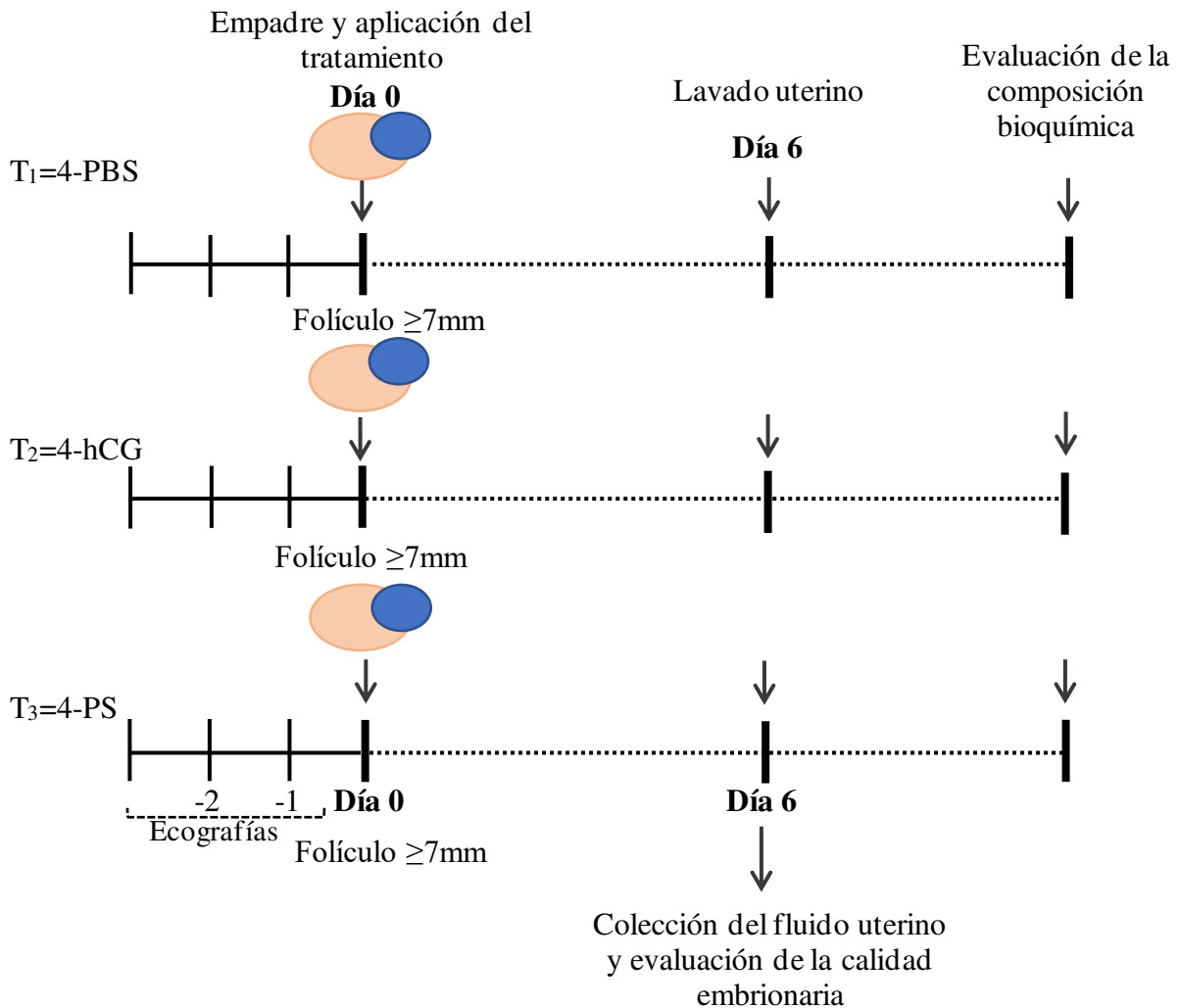


Figura 3. Evaluación del fluido uterino y calidad embrionaria al día 6

El lavado uterino (Día 6) fue por método no quirúrgico y se empleó la anestesia a nivel del espacio sacro-coccígeo (2 ml de Lidocaína al 2 %).

Se procedió a realizar el lavado del CU ipsilateral al CL, mediante flujo discontinuo descrito en bovinos (Palma, 2008), empleando una sonda Foley de 2 vías (N^o 18, AB Technology). Se insufló 10 a 12 ml de aire, para asegurar pérdida del medio de lavado. Luego se procedió a lavar el cuerno ipsilateral al CL con 80 ml de PBS, aplicados en forma creciente y recuperando el contenido. La solución recuperada se colocaba en el filtro EmCon (Agtech Inc.), para facilitar la separación del embrión.

Se procedió a coleccionar los 10 ml iniciales del lavado uterino, luego de la búsqueda del embrión y fue centrifugado a 3000 r.p.m. por 10 minutos para separar los restos celulares. El sobrenadante, en el menor tiempo posible, fue colocado en crioviales de 2 ml y almacenado en nitrógeno líquido hasta su análisis bioquímico.

3.3.3.3 Evaluación de la calidad embrionaria en el estereoscopio

La solución colectada del oviducto (Día 3) se llevó al estereoscopio NIKON SMZ645 y se procedió a realizar la búsqueda del embrión. Luego de identificar al embrión, se trasladó a una placa Petri pequeña (35x10mm) con solución de PBS a temperatura de 37^oC para evaluar la etapa de desarrollo embrionario y calidad.

La solución obtenida del útero (Día 6), se colocó en el filtro EmCon con el fin de facilitar la separación del embrión y se procedió a colocar en una placa Petri para realizar la búsqueda del embrión por medio del estereoscopio.

La etapa de desarrollo embrionario fue clasificada de acuerdo al número de células o blastómeras, para embriones tempranos (Picha *et al.*, 2013), considerándose de buena calidad cuando concuerden con el día y estadio de desarrollo.

3.3.3.4 Análisis bioquímico

Las muestras de fluido oviductal y uterino fueron descongeladas para proceder al análisis bioquímico, determinándose los niveles de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol, a través de Kits comerciales (FAR Diagnostics, Italia) específicos para cada uno de ellos, siguiendo las indicaciones del fabricante (Anexo 2). La lectura se determinó utilizando un analizador bioquímico semiautomático URIT-810.

El procedimiento consistió en depositar 1 ml del reactivo y 10 μ l de muestra (de fluido oviductal o uterino) en un tubo de ensayo de 3 ml y esta mezcla se incubó por 5 minutos a 37°C. Finalmente, el analizador bioquímico aspiró el contenido y se realizó la lectura de los resultados, con 3 repeticiones.

En este estudio no se usó factores de dilución, en base a diferentes investigaciones en mamíferos (Velazquez *et al.*, 2010; Drews *et al.*, 2018).

3.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los valores obtenidos se realizó con el programa SPSS statistics versión 22, verificando previamente que los valores presenten una distribución normal.

El análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor, se utilizó para comparar las medias de los tratamientos (PBS, hCG y PS) por cada componente bioquímico del FO y del FU.

En el caso de los resultados de colesterol del FU no presentaron una distribución normal y se realizó la prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes.

Los datos obtenidos de la composición bioquímica del FO y FU, respectivamente con PBS, hCG y PS, fueron representados con media aritmética y desviación estándar.

El nivel de significancia empleado para el análisis de los resultados fue de $p < 0.05$.

IV. RESULTADOS

4.1 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS sobre la composición bioquímica del fluido oviductal al 3er día post cópula.

El cuadro 4 muestra la composición bioquímica obtenida en cada grupo experimental (T₁, T₂ y T₃) del FO al 3er día post cópula.

En los valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol no se encontró una diferencia significativa entre los inductores de ovulación en el FO.

Ciertamente, los resultados eran variados en algunos casos, pero estadísticamente no se encontró diferencia entre los grupos.

Cuadro 4. Valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el fluido oviductal según su grupo experimental

Grupo experimental	Componente Bioquímico				
	Glucosa mg/dl	PT g/dl	Albúmina g/dl	Triglicéridos mg/dl	Colesterol mg/dl
T ₁	62.28 ± 12.01	0.96 ± 0.19	0.47 ± 0.09	13.83 ± 5.76	13.85 ± 3.56
T ₂	75.09 ± 5.74	1.08 ± 0.28	0.53 ± 0.12	15.3 ± 9.79	16.4 ± 5.61
T ₃	77.73 ± 9.22	1.34 ± 0.33	0.59 ± 0.1	17.53 ± 9.42	18.6 ± 6.38

4.2 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS sobre la composición bioquímica del fluido uterino al 6to día post cópula.

El cuadro 5 muestra la composición bioquímica obtenida en cada grupo experimental (T₁, T₂ y T₃) del FU al 6to día post cópula.

Las concentraciones de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol no difirieron significativamente entre los inductores de ovulación en el FU. Los resultados fueron un poco variados, pero no se encontró una diferencia significativa entre los grupos.

Cuadro 5. Valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el fluido uterino según su grupo experimental

Grupo experimental	Componente Bioquímico				
	Glucosa mg/dl	PT g/dl	Albúmina g/dl	Triglicéridos mg/dl	Colesterol mg/dl
T ₁	46.13 ± 4.36	1.09 ± 0.22	0.57 ± 0.17	14.75 ± 8.04	12.89 ± 1.65
T ₂	49.71 ± 5.88	1.02 ± 0.38	0.44 ± 0.15	10.54 ± 10.43	12.83 ± 1.48
T ₃	53.16 ± 4.37	1.16 ± 0.33	0.46 ± 0.08	13.8 ± 7.86	15.47 ± 4.02

4.3 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS en el desarrollo embrionario al 3er día post cópula.

El cuadro 6 muestra los resultados obtenidos de 12 embriones en total. El desarrollo embrionario en los grupos: T₁ (n=4): 3 embriones con 4 blastómeras y 1 embrión con 6 blastómeras; T₂ (n=4): 2 embriones con 6 blastómeras y 2 embriones con 8 blastómeras; T₃ (n=4): 1 embrión con 6 blastómeras y 3 embriones con 8 blastómeras.

Cuadro 6. Desarrollo embrionario al día 3 según su grupo experimental

Grupo experimental	Desarrollo embrionario			
	Nº de embriones (porcentajes)			
	4 blastómeras	6 blastómeras	8 blastómeras	Total
T ₁	3 (75%)	1 (25%)	0 (0%)	4 (100%)
T ₂	0 (0%)	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)
T ₃	0 (0%)	1 (25%)	3 (75%)	4 (100%)

4.4 Efecto de la aplicación de PBS, hCG y PS en la calidad embrionaria al 6to día post cópula.

Luego de la colección del fluido uterino y de realizar una búsqueda minuciosa en el fluido, no sé logro encontrar a ningún embrión al día 6.

V. DISCUSIÓN

Esta investigación nos permitió evaluar la composición bioquímica del FO y del FU y el estado de desarrollo embrionario con dos inductores de ovulación (hCG y PS), al 3er y 6to día post cópula en alpacas.

Los fluidos del oviducto y del útero son fundamentales para la reproducción, porque brindan el ambiente necesario para la maduración de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario antes de la implantación (Velazquez *et al.*, 2010). El epitelio del oviducto y del útero sintetizan estas secreciones y su formación está controlada por la progesterona y el estradiol (Drews *et al.*, 2018), aun cuando no se ha demostrado el mecanismo de control (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

El uso de dos inductores de ovulación, PS y hCG, adicionales a la cópula, buscaba evaluar su efecto sobre la composición bioquímica del fluido oviductal, uterino y el desarrollo embrionario temprano. El uso de hCG en protocolos de superovulación, provoca un aumento del número de glándulas endometriales (López *et al.*, 2014) y esto podría provocar una mayor actividad secretoria en el útero y en el caso del oviducto aún no se han descrito cambios.

En el caso del PS, se sabe que el β -NGF presenta un efecto luteotrófico y en llamas se asocia a un aumento de la vascularización de CL y con ello brinda una mayor secreción de progesterona en comparación a la GnRH (Silva *et al.*, 2017) y con ello se podría inferir que el PS tendría un control indirecto en la secreción del FO y FU que está bajo el control de la progesterona. Además, el FIO del PS actúa indirectamente en la concentración periférica de estradiol (Silva *et al.*, 2020) y este estrógeno también interviene en el control de la formación de estos fluidos reproductivos. Cabe mencionar que cuando los animales son empadrados se absorbe el FIO del PS del macho y su acción es vía sistémica (Páñez *et al.*, 2009).

Quispe *et al.* (2019) demostró que las gonadotropinas FSH, LH afectan positivamente a la maduración de ovocitos *in vitro*, repercutiendo en el clivaje de embriones de alpacas y de igual manera la hCG y el PS también podrían intervenir en estos procesos, pero se necesitan mayores investigaciones.

En los resultados de esta investigación no se encontró una diferencia significativa entre los grupos experimentales (T₁, T₂ y T₃) en el FO, FU y se reportó una tasa de ovulación del 100%. Sin embargo, se encontraron mayores concentraciones en los componentes bioquímicos de los fluidos reproductivos y una mejor calidad embrionaria en los grupos con PS y hCG, basado en las etapas de desarrollo embrionario al día 3 (Picha *et al.*, 2013).

En base a los resultados, es posible que la aplicación de una segunda dosis de PS pueda contribuir a obtener embriones en etapa temprana, de mejor calidad, basado en el número de blastómeras. Por tanto, el embrión podría llegar con mejor desarrollo al útero y ser capaz de producir la señal de RMP respecto a otro embrión de menor desarrollo embrionario.

Existe una gran variabilidad en las concentraciones de los componentes bioquímicos del FO o FU en diferentes estudios para una misma especie. Esto puede estar asociado a los diferentes métodos de colección, que incluye la aspiración *in vivo* o *ex vivo* de FO o FU de los tractos genitales, la canulación crónica o aguda de oviductos o útero *in situ*, los lavados con medios acondicionados o cultivo de las células epiteliales (Saint-Dizier *et al.*, 2019). Por ello se necesitan nuevas metodologías experimentales para poder respaldar estos estudios, porque existen numerosos protocolos para la colección de estos fluidos y es un desafío debido a las limitaciones éticas y técnicas.

5.1 Composición bioquímica del FO al 3er día post cópula

En los animales donde se evaluó la composición bioquímica del FO pasaron por un proceso de ayuno y de estrés porque eran destinadas para el consumo de carne y posiblemente estos factores alteraron nuestros resultados (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

Los valores hallados para glucosa en el FO no indican una diferencia significativa entre los grupos experimentales. Sin embargo, en los grupos T₂ y T₃ presentaron valores un poco más elevados (T₁: 62.28 ± 12.01 mg/dl, T₂: 75.09 ± 5.74 mg/dl y T₃: 77.73 ± 9.22 mg/dl). Los resultados fueron un poco más elevados a los reportados en bovinos que también se realizó post ovulación, pero estos resultados eran variados (43.2 ± 30.2 mg/dl) e incluso solo usaban 200 ul de medio de lavado (Jordaens *et al.*, 2017). De igual manera, son superiores a los resultados reportados post ovulación en ovinos (28.5 ± 0.5 mg/dl) donde hacían uso de cánulas para aspirar el FO (Hamner, 1971). En alpacas no gestantes (control), con folículos menores a 7 mm (65 ± 4.7 mg/dl) también reportaron valores bajos, pero hubo una mayor diferencia cuando tenían una gestación de 34 a 37 días (25 ± 1.4 mg/dl ipsilateral al CL) e inclusive en su metodología solo aspiraba el FO (Apichela *et al.*, 2015). Esta variación podría estar asociado al lado de ovulación o en el oviducto se metabolizan a otros sustratos energéticos, pero se requieren mayores investigaciones. Esta fase de la investigación se desarrolló en época húmeda y se ha reportado que los niveles de glucosa en sangre incrementan durante este tiempo (Siguas *et al.*, 2007) y con ello se podría inferir que los niveles de glucosa en el FO también pudo verse afectado porque está formado de un trasudado sérico (Saint-Dizier *et al.*, 2019).

Los resultados obtenidos de triglicéridos entre los grupos experimentales no presentaron diferencias significativas (T₁: 13.83 ± 5.76 mg/dl, T₂: 15.3 ± 9.79 mg/dl y T₃: 17.53 ± 9.42 mg/dl) y cabe mencionar que son sustancias de reserva y se pueden almacenar en grandes cantidades en la sangre (Couto, 2010). En los bovinos se han reportado mayores valores de triglicéridos en el FO (43.8 ± 20.6 mg/dl) post ovulación, sin embriones (Jordaens *et al.*, 2017) y nuestros resultados bajos podrían estar asociados a la fecundación y la primera escisión, como sucede en bovinos (Ferguson y Leese, 1999).

Los lípidos son una fuente potencial de energía que se acumulan tanto en el ovocito y en el embrión, que tienen roles claves en la proliferación y diferenciación celular (Saint-Dizier *et al.*, 2019) y su secreción es mayor cuando aumentan las concentraciones de progesterona (Mokhtar, 2015) y al estar compuesto el FO por un trasudado sérico también podría alterarse por los factores que varían los niveles de lípidos en sangre de alpacas.

Los valores hallados para colesterol entre los grupos experimentales no presentaron diferencias significativas, a pesar de que los valores encontrados en los grupos T₂ y T₃ fueron mayores (T₁: 13.85 ± 3.56 mg/dl, T₂: 16.4 ± 5.61 mg/dl y T₃: 18.6 ± 6.38 mg/dl). El colesterol es importante porque es un precursor de las hormonas esteroideas que están relacionadas con la formación del FO (Pineda, 1989). En bovinos se han reportado valores superiores post ovulación, sin embrión (33.7 ± 16.5 mg/dl) y esto podría estar asociado por la fecundación y la primera escisión, como sucede en los triglicéridos de bovinos (Ferguson y Leese, 1999). Aún no se han reportado valores anteriores de colesterol en el FO de CSA, por ello se requiere mayores investigaciones.

Las concentraciones de proteína total entre los grupos experimentales no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, los valores encontrados en los grupos T₂ y T₃ fueron mayores (T₁: 0.96 ± 0.19 g/dl, T₂: 1.08 ± 0.28 g/dl y en T₃: 1.34 ± 0.33 g/dl). En porcinos los resultados post ovulación fueron mayores (1.68 ± 1.23 g/dl), pero no presentaban embriones y colectaban el FO por aspiración (Carrasco *et al.*, 2008). En alpacas no gestantes, con folículos menores a 7 mm (4.67 ± 0.33 g/dl) y con 34-37 días (4.34 ± 0.72 g/dl) o 60-64 días de gestación (5.00 ± 0.58 g/dl) (Apichela *et al.*, 2015) presentaron valores superiores y esto conlleva a mayores investigaciones, porque los niveles de proteína varían de acuerdo a los cambios hormonales (Bazer *et al.*, 2010). Pese a ello, nuestros resultados fueron menores y puede estar asociado a la diferente metodología de recolección empleada (Saint-Dizier *et al.*, 2019) o al tiempo de gestación, pero es necesario mayores estudios.

En los valores de albúmina de los grupos experimentales no se observó diferencias significativas entre ellos (T₁: 0.47 ± 0.09 g/dl, T₂: 0.53 ± 0.12 g/dl y T₃: 0.59 ± 0.1 g/dl) y sus niveles entre los grupos fueron similares. Apichela *et al.* (2015) reportó mayores niveles de albúmina en alpacas no preñados (2.23 ± 0.18 g/dl) y esta diferencia puede estar asociada a la capacitación espermática (Abou-haila and Tulsiani, 2009) que pudo haber disminuido nuestras concentraciones de albúmina. Nuestros niveles fueron muy similares a los valores de alpacas con 34-37 días de gestación (0.50 ± 0 g/dl) y con 60-64 días de gestación (0.45 ± 0.03 g/dl) (Apichela *et al.*, 2015), pese a la diferente metodología y esto podría ser por el tipo

de alimentación o por la importancia de otras proteínas en alpacas, pero requiere mayores estudios.

5.2 Composición bioquímica del FU al 6to día post cópula

En los niveles de glucosa de los grupos experimentales no se encontró diferencias significativas entre ellos (T₁: 46.16 ± 4.36 mg/dl, T₂: 49.71 ± 5.88 mg/dl y T₃: 53.16 ± 4.37 mg/dl). Los valores reportados en alpacas no preñadas, con folículos menores a 7 mm (0.33 ± 0.58 mg/dl) y con 9 semanas de gestación (3.00 ± 1.41 mg/dl) (Argañaraz *et al.*, 2014) son menores a nuestros resultados, pese a que usaron 5 ml de PBS para el lavado de cada CU, pero sus animales pasaron por un proceso de ayuno y su colección del FU fue *post mortem*, por ello es probable que sus niveles sean menores. Los niveles de glucosa post ovulación en porcinos (18.4 ± 7.2 mg/dl) que fueron canulados para la colección del FU (Iritani *et al.*, 1974) fueron menores a nuestros resultados y estas diferencias pueden estar asociadas a la metodología o a la misma especie. Así mismo, es importante mencionar que probablemente los niveles de glucosa al 6to día post cópula son bajos porque se metabolizan a otros sustratos energéticos como el lactato o piruvato (Saint-Dizier *et al.*, 2019), pero luego aumentan estas concentraciones para cubrir la demanda energética de la gestación (Lane and Gardner, 2007).

En este estudio se reporta que las concentraciones de triglicéridos entre los grupos fueron variables, pero no existen diferencias significativas entre ellos. Presentaron niveles para los grupos de T₁: 14.75 ± 8.04 mg/dl, T₂: 10.54 ± 10.53 mg/dl y T₃: 13.8 ± 7.86 mg/dl. También se han reportado resultados en alpacas no gestantes (0.50 ± 0.65 mg/dl) y con 5 semanas de gestación (2.50 ± 2.38 mg/dl), pero sus concentraciones eran variables entre los grupos (Argañaraz *et al.*, 2014) y son menores a nuestros resultados, probablemente por su metodología o el tipo de alimentación, pero es probable que requieran de otros sustratos energéticos, como los ácidos grasos (Drews *et al.*, 2018) previo a la implantación.

En el caso del colesterol se encontraron concentraciones en los grupos de T₁: 12.89 ± 1.65 mg/dl, T₂: 12.83 ± 1.48 mg/dl y T₃: 15.47 ± 4.02 mg/dl), pero no se observa una diferencia significativa entre ellos. Argañaraz *et al.* (2014) también intento determinar niveles de colesterol en el FU de alpacas, pero sus niveles no fueron detectados, porque posiblemente

fueron tan bajos que no se logró cuantificar. Es importante mencionar que los lípidos han sido poco investigados (Ménézo *et al.*, 2015). Sin embargo, el FU está formado por un trasudado de suero sanguíneo (Drews *et al.*, 2018) y los valores de colesterol en suero sanguíneo de alpacas y llamas se encuentran entre 0-128 mg/dl, según Fowler (1998), citado por Sigwas *et al.* (2007). Con ello se podría mencionar que los valores de colesterol en el FU podrían ser menores a los de suero sanguíneo en alpacas.

La concentración de PT entre los grupos experimentales no presentó diferencias significativas (T₁: 1.09 ± 0.22 g/dl, T₂: 1.02 ± 0.38 g/dl y T₃: 1.16 ± 0.33 g/dl). En bovinos, los niveles de PT aumentan su concentración cuando los niveles de progesterona ascienden (Mullen *et al.*, 2012) y posiblemente es de acuerdo a las necesidades del feto. Alavi *et al.* (2006) reportó en bovinos valores superiores en todas sus etapas del ciclo estral (Pro-estro: 9.30 ± 0.7 g/dl, Estro: 9.05 ± 0.74 g/dl, Meta-estro: 7.11 ± 0.65 g/dl y Diestro: 7.20 ± 0.44 g/dl) y su colección del FU fue producto de raspados en el endometrio y esto pudo afectar las concentraciones. En alpacas se reportaron valores en animales no preñadas (616.67 ± 678.85 ug/l) y con 9 semanas de gestación (1125.00 ± 530.33 ug/l) (Argañaraz *et al.*, 2014), pero sus concentraciones eran menores a los nuestros y podría estar asociado a la colección *post mortem*, técnica de colecta, ayuno, estrés, alimentación, estado reproductivo o método de conservación de las muestras, pero es necesario más estudios.

Los resultados de albúmina entre los grupos experimentales no mostraron diferencias significativas (T₁: 0.57 ± 0.17 g/dl, T₂: 0.44 ± 0.15 g/dl y T₃: 0.46 ± 0.08 g/dl) y fueron similares a los resultados del FO. Sin embargo, fueron menores a los valores reportados en yeguas (0.4 - 3.3 g/dl) donde colectaron el fluido con tapones de humano y mencionan que la edad puede influenciar en la composición (Tunón *et al.*, 1998). En bovinos se reportó valores superiores en todas las etapas del ciclo estral (Pro-estro: 0.98 ± 0.1 g/dl, Estro: 0.91 ± 0.52 g/dl, Meta-estro: 0.91 ± 0.13 g/dl y Diestro: 0.88 ± 0.11 g/dl) y no presentó diferencia significativa entre ellas (Alavi *et al.*, 2006), pero nuestros valores bajos podrían ser por una inflamación en el tejido (Thomas, 2000) o se podría sugerir que la albúmina no se transfiere fácilmente a la luz uterina.

5.3 Calidad embrionaria al 3er día post cópula con inductores de ovulación

En la investigación se obtuvo una tasa de recuperación embrionaria del 100 % al día 3 con los grupos experimentales (T₁, T₂ y T₃). La etapa de desarrollo embrionario en los grupos, T₁: 3 embriones con 4 blastómeras (75 %) y 1 embrión con 6 blastómeras (25 %), T₂: 2 embriones con 6 blastómeras (50 %) y 2 embriones con 8 blastómeras (50 %), y T₃: 1 embrión con 6 blastómeras (25 %) y 3 embriones con 8 blastómeras (75 %). La variación en el desarrollo embrionario podría deberse a la variabilidad en el momento de la ovulación y otros factores que influyen en la velocidad del desarrollo (Picha *et al.*, 2013). Así mismo, con el uso PS de alpacas se induce a la ovulación a las 26 horas de su aplicación IM (Huanca *et al.*, 2014) y con hCG también se presenta una mejor respuesta ovulatoria en comparación con la monta natural (Bravo *et al.*, 1995) y posiblemente esto influyo en el desarrollo embrionario.

En base al criterio de calidad, basado en el desarrollo embrionario, se puede señalar que los grupos T₂ y T₃ presentan un 50% y 75 % de embriones con etapas de mejor calidad al día 3 respectivamente, en tanto que los embriones en el grupo T₁ presentaron un 75% de buena calidad. También se encontró embriones con 6 blastómeras en el grupo T₁ y T₂, como ha sido reportado en alpacas (Bravo *et al.*, 1996), pero esta deficiencia demanda mayores investigaciones. Recordemos que se requiere embriones con buen desarrollo y aptos para superar la etapa del reconocimiento maternal de la preñez (Campbell *et al.*, 2017), y embriones con deficiente desarrollo y, por consiguiente, de mala calidad, no van a tener capacidad de superar la fase del reconocimiento maternal de la preñez y posiblemente podría explicar las pérdidas embrionarias que suceden en los camélidos.

5.4 Calidad embrionaria al 6to día post cópula con inductores de ovulación

Al día 6 post cópula no se logró encontrar a los embriones en los grupos experimentales T₁, T₂ y T₃. Diferentes investigaciones nos ayudan a determinar el día aproximado que podemos encontrar al embrión eclosionado en el útero de alpacas (Cervantes *et al.*, 2011; Picha *et al.*, 2013), pero no se sabe con claridad el momento exacto y los factores que pudieron alterar esta migración embrionaria en nuestro estudio. El descenso del embrión al útero pudo verse afectado por la variabilidad en el momento de la ovulación en nuestros grupos experimentales

y otros factores que influyen en la velocidad de desarrollo, así como, edad de la hembra, condición nutricional, calidad espermática y embrionaria (Picha *et al.*, 2013) o posiblemente podría haber ocurrido muerte embrionaria temprana porque los niveles de analitos fueron bajos y esto no está en relación con el nivel de metabolismo que presenta el embrión (Drews *et al.*, 2018). También es probable que existieran fallas en la aplicación de la técnica de recuperación embrionaria.

VI. CONCLUSIONES

- No existen diferencias significativas al aplicar PBS, hCG y PS sobre los valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el FO al 3er día post cópula.
- No existen diferencias significativas al aplicar PBS, hCG y PS sobre los valores de glucosa, proteína total, albúmina, triglicéridos y colesterol en el FU al 6to día post cópula.
- Se registró que un 50% y 75% de embriones resultaron con mejor calidad de desarrollo embrionario al día 3, para los grupos con hCG y PS respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar una investigación similar sin el efecto de la monta natural, con un mayor número de muestra y utilizar otras técnicas de colección de los fluidos.
- Evaluar el nivel de progesterona y estradiol en una investigación similar.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Aba, M. 2014. Anatomy and physiology of reproduction in the female llama and alpaca. En: Cebra C, Anderson D, Tibary A, Van Saun, R and Jhonson L. Llama and Alpaca care. Elsevier, St Louis, MO. USA.
2. Swelum A, Saadeldin I, Abdelnour S, Ba-Awadh H, Abd El-Hack, M, Sheiha A. 2020. Relationship between concentrations of macro and trace elements in serum and follicular, oviductal, and uterine fluids of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Tropical animal health and production*. 52(3):1315–1324. DOI:10.1007/s11250-019-02137-0
3. Abou-haila A, Tulsiani D. 2009. Signal transduction pathways that regulate sperm capacitation and the acrosome reaction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 485:72–81. DOI: 10.1016/j.abb.2009. 02.003.
4. Adams G, Ratto M., Huanca W, Singh J. 2005. Ovulation- inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biol Reprod*. 73: 452 – 457. DOI: 10.1095/biolreprod.105.040097.
5. Alavi S, Asri S, Abshenas J. 2006. A study of the uterine protein variations during the estrus cycle in the cow: a comparison with the serum proteins. *Animal reproduction science*. 96:1-20.
6. Ambruosi B, Lacalandra GM, Iorga AI, De Santis T, Mugnier S, Matarrese R. 2009. Cytoplasmic lipid droplets and mitochondrial distribution in equine oocytes: implications on oocyte maturation, fertilization and developmental competence after ICSI. *Theriogenology*. 71:1093-104.

7. Andrade J. 2007. Métodos de sincronización de la onda folicular en base a GnRH y LH y su efecto en la respuesta ovárica y tasa de preñez en alpacas y llamas. Tesis de Maestría. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.70p.
8. Apichela S, Jiménez M, Roldan M, Valz J, Miceli D. 2009. In Vivo y en la interacción vitro espermatozoides con oviductal las células epiteliales de la llama, *Reprod Domest Anim* 44: 943-951.DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01125 x
9. Apichela S, Argañaraz M, Zampini R, Vencato J, Miceli D, Stelletta C. 2015. Biochemical composition and protein profile of alpaca (*Vicugna pacos*) oviductal fluid. *Animal Reproduction Science* 154:79–85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.12.013>
10. Argañaraz M, Apichela S, Zampini R, Vencato J, Stelletta C.2014. Biochemical and protein profile of alpaca (*Vicugna pacos*) uterine horn fluid during early pregnancy. *Reprod Dom Anim*.DOI: 10.1111/rda.12460.
11. Bazer F, Wu G, Spencer T, Johnson G, Burghardt R, Bayless K.2010. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol. Human.Reprod.*16:135-152.
12. Bravo P, Sumar J. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *J Anim Reprod Sci.* 21(3-4): 271-281.
13. Bravo W, Moscoso J, Ordoñez C, Alarcón V. 1996. Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* 43: 173 - 179.
14. Bravo P, Tsutsu T, Lasley L. 1995. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. *Small Rum Res* 18(2): 157-163.
15. Brüßow K, Átky R, Schneider F, Torner H, Kanitz W, Solti L. 1999. Effects of Follicular Fluid on the Transport of Porcine Oocytes into the Oviduct at Ovulation. *Reproduction in Domestic Animals.* 34: 423-429. DOI: 10.1111/j.1439-0531.1999.tb01396.x
16. Buhi W, Alvarez I, Kouba A.2000. Secreted proteins of the oviduct. *Cells Tissues Organs.*166.165-179.
17. Campbell A, Ciccarelli M, Tibary A. 2017. Early Embryonic development and maternal recognition of pregnancy in camelids: A review. *Spermova* 7: 67-76.

18. Carlson D, Black D, Howe G.1970.Oviduct secretion in the cow. *J Reprod Fertil.*22(3): 549-552.DOI: 10.1530/jrf.0.0220549.
19. Carrasco L, Romar R, Avilés M, Gadea J, Coy P.2008.Determination of glycosidase activity in porcine oviductal fluid at the different phases of the estrous cycle. *Reproduction* .136:833-842.
20. Carrasco R, Singh J, Adams G.2018.The relationship between gonadotropin releasing hormone and ovulation inducing factor/nerve growth factor receptors in the hypothalamus of the llama. *Reprod Biol Endocrinol* 16(1):10.
21. Cervantes M, Huanca W, Gonzales M, Palomino M, Leyva V. 2011. Relación entre el día de colección y la recuperación de embriones en alpacas superovuladas. *Rev Inv Vet Perú.* 22: 125-132.
22. Couto A.2010. Características genéticas y perfil hematológico y bioquímico en ovino de raza “Criolla lanada serrada” del plan alto serrano catarinense-Santa Catarina, Brasil. Tesis de Doctorado. España. Univ. de León.375p.
23. Drews B, Milojevic V, Giller K, Ulbrich S.2018. Fatty acid profile of blood plasma and oviduct and uterine fluid during early and late luteal phase in the horse. *Theriogenology* .114:258-265. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.04.003
24. Ehrenwald E, Foote R., Parks J.1990. Bovine oviductal fluid components and their potential role in sperm cholesterol efflux. *Mol. Reprod. Dev.*25(2):195-204. DOI: /10.1002/mrd.1080250213.
25. El Allali K, El Bousmaki N, Ainani H, Simonneaux V. 2017. Effect of the Camelid's Seminal Plasma Ovulation-Inducing Factor/ β -NGF: A Kisspeptin Target Hypothesis. *Front Vet Sci.*4:99.
26. Engle C, Foley C.1975.Certain physiochemical properties of uterine tubal fluid, follicular fluid, and blood plasma in the mare. *Am J Vet Res.*36(2):149-154.
27. Ferguson E, Leese H. 1999. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. *J Reprod Fertil.* 116:373-8.
28. Fernández-Baca S, Sumar J, Novoa C, Leyva V. 1973. Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca (*Lama pacos*). En: *Rev Inv Pec IVITA Univ San Marcos.* 2(2):131-137.
29. Forde N, Mehta J, Mcgettigan P, Mamo S, Bazer F, Spencer T, Lonergan

- P.2013.Alterations in expression of endometrial genes coding for proteins secreted into the uterine lumen during conceptus elongation in cattle. *BMC Genomics*.14:321-334.
30. Forde N, McGettigan P, Mehta J, O'Hara L, Mamo S, Bazer F.2014.Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. *Reproduction*.147:575-587.
31. Gergioui A, Sostaric E, Wong C, Snijders A, Wright P, Moore H, Fzeli A.2005. Gameres alter the oviductal secretory Proteome.*Moll Cell Proteomics*.4.1785-1796. DOI: 10.1074/mcp.M500119- MCP200.
32. Ghersevich S, Massa E, Zumoffen C.2015.Oviductal secretion and gamete interaction. *Society for Reproduction and Fertility ISSN*.Vol.149.R1-R14. DOI: 10.1530/REP-14-0145.
33. Hamner C.1971. Composition of oviductal and uterine fluids. Division of Reproductive Biology, Department of Obstetrics and Gynecology, Virginia. 143-164.
34. Huanca WF, Mamani C, Huanca W. 2014. 165 Effect of injection of seminal plasma on ovulation rate, corpus luteum development, and sensitivity to prostaglandin in alpacas (*Vicugna pacos*). *Reproduction, fertility and development*. 27(1): 173-174.DOI: 10.1071/RDv27n1Ab165
35. Hugentobler S, Humpherson P, Leese H, Sreenan J, Morris D. 2008. Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle. *Mol. Reprod. Dev*.75: 496-503. DOI:10.1002/mrd.20760
36. Hugentobler S, Sreenan J, Humpherson P, Leese H, Diskin M, Morris D.2010. Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. *Reproduction, Fertility, and Development*.22.684–694. DOI:10.1071/RD09129.
37. Hunter R.2012.Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol Rev Camb Philos Soc*.87.244-255.
38. [INEI]. Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012.IV Censo Nacional Agropecuario 2012. [Internet], [20 agosto 2022]. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
39. Iritani A, Sato E, Nishikawa Y.1974. Secretion rates and chemical composition of

- oviduct and uterine fluids in sows. *J Anim Sci.*39(3):582-588.
40. Jankovic S M, Protic B, Jankovic S V.2004.Contractile effect of acetylcholine on isolated isthmic segment of fallopian tubes. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*26:87-91.
 41. Jordaens L, Van Hoeck V, De Bie J, Berth M, Marei W, Desmet K, Bols P, Leroy J.2017. Non-esterified fatty acids in early luteal bovine oviduct fluid mirror plasma concentrations: An ex vivo approach. *Reprod. Biol.*17: 281-284. DOI: 10.1016/j.repbio.2017.05.009.
 42. Khatchadourian, C, Ménézo Y, Gerard M, Thibault C.1987. Catecholamines within the rabbit oviduct at fertilization time. *Hum. Reprod.* 2 (1):1-5. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136480
 43. Kólle S, Dubielzig S, Reese S, Wehrend A, Kónig P, Kummer W.2009. Ciliary transport, gamete interaction, and effects of the early embryo in the oviduct: ex vivo analyses using a new digital videomicroscopic system in the cow. *Biol Reprod* 81 (2):267-274. DOI: 10.1095/biolreprod.108.073874
 44. Kumaresan A, Ansari M, Garg A.2005.Modulation of post thaw sperm functions with oviductal proteins in buffaloes. *Anim Reprod Sci.*90:73–84. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2005.01.009
 45. Lane M, Gardner D.2007.Embryo culture medium: which is the best? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*21:83–100.
 46. Li T, Rogers A, Dockery P, Lenton E, Cooke L.1988. A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. *Fertility and Sterility.*50:50-60.
 47. Li S, Winuthayanon W.2017. Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. *J Endocrinol.* 232. R1-R26.
 48. López V, Vásquez M, Huanca W, Santiani A, Barbeito C, Canuzzi C, Lira B, Rodríguez J, .2014. Estudio lectinhistoquímico del útero de alpacas (*Vicugna pacos*) bajo tratamiento superovulatorio. *Rev Inv Vet Perú.*25(1): 1-15.
 49. 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* 2013; 24(2): 194-198.DOI: 10.15381/rivep. v27i4.12558
 50. Mamani C, Huanca W, Echevarría L, Cordero A, Huanca WF, Limache T.2016.

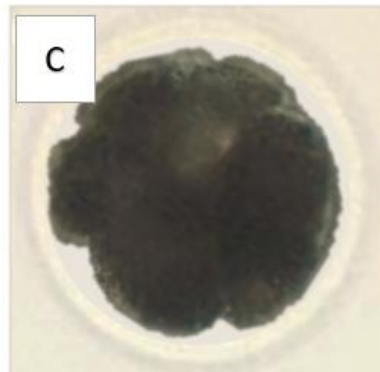
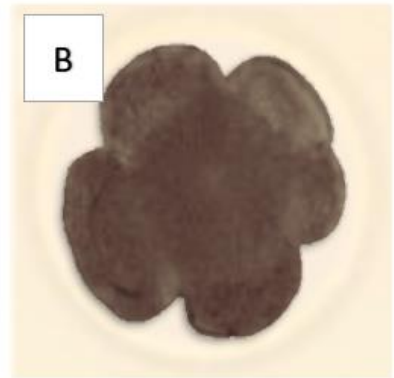
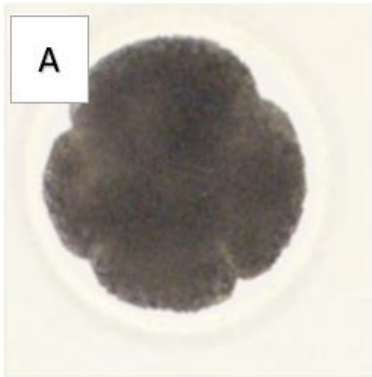
- Susceptibilidad del Cuerpo Lúteo a la Prostaglandina F2 α en Alpacas Inducidas a Ovulación con Plasma Seminal y GnRH. En : Rev Inv Vet Perú. 27(4) : 729-735
DOI : 10.15381/rivep.v27i4.12558.
51. Ménéz Y, Khatchadourian C.1986.Peptides bound to albumin. Life Sci. 39(19): 1751-3. DOI: 10.1016/0024-3205(86)90094-9.
 52. Ménéz Y, Guérin, P, Elder K. 2015. The oviduct: a neglected organ due for re-assessment in IVF. Reproductive biomedicine online.30(3): 233-240. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.11.011
 53. [MINAGRI]. Ministerio de Agricultura y Riego. 2020. “Minagri mejora producción alpaquera con embriones de calidad genética”. [internet], [28 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.inia.gob.pe/2020-nota-087/>.
 54. Mokhtar D.2015. Microscopic and histochemical characterization of the bovine uterine tube during the follicular and luteal phases of estrous cycle. Journal of Microscopy and Ultrastructure.3:44-52. DOI: 10.1016/j.jmau.2014.09.002.
 55. Mullen M, Elia G, Hilliard M, Parr M, Diskin M, Evans A.2012.Proteomic characterization of histotroph during the preimplantation phase of the estrous cycle in cattle. J Proteome Res.11:3004-18.
 56. Nichol R, Hunter R, Gardner D, Leese H, Cooke G.1992.Concentrations of energy substrates in oviductal fluid and blood plasma during the peri-ovulatory period Journal of Reproduction and Fertility 96:699–707.
 57. Nina M. 2021. Evaluación del fluido uterino de llama (*Lama glama*) en el desarrollo embrionario de ganado bovino para cultivos *in vitro*. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnia. La Paz. Universidad Mayor de San Andrés. 98p.
 58. Novoa C. Franco E, García W, Pezo, D.1999.Dosis de gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones en alpacas. Rev. Inv. Vet.10(1): 48-53.
 59. Ozegbe P.2005.Comparative biochemical assessment of the amniotic fluid and maternal plasma of pregnant rabbits. Vet Arh.75:431–437.
 60. Palián J. 2010. Inducción de ovulación con plasma seminal o análogo de GnRH (acetato de buselerina) y su efecto sobre la tasa de concepción en alpacas (*Vicugna pacos*), inseminadas con semen fresco. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ Nacional Mayor de San Marcos. 66p.

61. Palma G. 2008. Biotecnología de la reproducción. 2ª ed. Buenos Aires: Ed Producción Gráfica Integral. 669p.
62. Pan G, Chen Z, Liu X, Li D, Xie Q, Ling F, Fang L. 2001. Isolation and purification of the ovulation-inducing factor from seminal plasma in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Theriogenology*. 55: 1863-1879.
63. Pánez S, Huanca W, Huanca T, Ratto M, Adams G. 2009. Efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas. *Rev Inv Vet Perú*. 20 (1): 21 – 27. doi: 10.15381/rivep. v20i1.526
64. Picha Y, Tibary A, Memon M, Kasimanickam R, Sumar J. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology*. 79:702-708.
65. Pillai V, Weber D, Phinney B, Selvaraj V. 2017. Profiling of proteins secreted in the bovine oviduct reveals diverse functions of this luminal microenvironment. *PLoS ONE*. 12(11): e0188105. DOI: 10.1371/journal.pone.018810
66. Pineda M. 1989. Female Reproductive System. In: McDonald LE, editor. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Fourth Edition. Washington: Lea y Febiger Company. 261-302.
67. Quispe T, Huanca T, Olivera L. 2019. Influencia de las hormonas folículo estimulante, luteinizante y gonadotropina coriónica equina en la maduración in vitro de ovocitos y clivaje de embriones de alpaca. *Revista de Investigaciones*. 8(1): 974-985. DOI: 10.26788/riepg.v8i1.774
68. Ratto M, Cervantes M, Norambuena C, Silva M, Miragaya M, Huanca W. 2011. Effect of location and stage of development of dominant follicle on ovulation and embryo survival rate in alpacas. *Anim Reprod Sci*. 127:100-105.
69. Ratto M, Leduc Y, Valderrama X, Van Straaten K, Delbaere L, Pierson R, Adams G. 2012. The nerve of ovulation-inducing factor in semen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(37):15042-15047.
70. Reyna I, Huanca W, Ampuero A, Huanca T. 2015. Efecto de Cuatro Diluciones de Plasma Seminal sobre la Tasa de Ovulación, Tamaño de Cuerpo Lúteo y Perfil de Progesterona en Alpacas. *Rev Inv Vet Perú*; 26(4): 614-620.
71. Saint-Dizier M, Schoen J, Chen S, C. Banliat C, Mermillod P. 2019. Componiendo el

- microambiente embrionario temprano: fisiología y regulación de las secreciones oviductales. *Int J Mol Sci*, 21 (1):223. DOI:10.3390/ijms21010223.
72. Salamonsen L, Edgell T, Rombauts L, Stephens A, Robertson D, Rainczuck A, Nie G, Hannan N. 2013. Proteomics of the human endometrium and uterine fluid: a pathway to biomarker discovery. *Fertility and Sterility*. 99:1086-1092.
73. Samuelson D. 2007. *Tratado de Histología Veterinaria*. Ed. Elsevier Ltda., Sao Paulo-Brasil.
74. Sato A, Valencia R, Montoya L. 1986. "Revisión anatómica del aparato reproductor de la alpaca hembra (*Lama pacos*)". *Rev Camelidos Sudamericanos* 2:4-8.
75. Sato A, Montoya L. 1990. Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*): Anatomía macroscópica. En: *Revista de camélidos sudamericanos* N° 7. Perú. 7-13.
76. Siguas O, Paucar R, Olazabal J, San Martin F, Vélez V. 2007. Valores bioquímicos sanguíneos en alpacas en dos épocas del año en condiciones de Huancavelica: aportes al perfil metabólico de la especie. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. IVITA. 4p
77. Silva M, Ulloa-Leal C, Valderrama X, Bogle O, Adams G, Ratto M. 2017. Nerve Growth Factor from seminal plasma origin (spb-NGF) increases CL vascularization and level of mRNA expression of steroidogenic enzymes during the early stage of Corpus Luteum development in llamas. *Theriogenology*. 103: 69-75. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.07.041
78. Silva M, Paiva L, Ratto M. 2020. Ovulation mechanism in South American Camelids: The active role of β -NGF as the chemical signal eliciting ovulation in llamas and alpacas. *Theriogenology*. 150: 280-287. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.078
79. Sumar J. 1994. Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. *J Arid Environ*. 26: 39-45.
80. Sumar J, Adams GP. 2007. Reproductive Anatomy and Life Cycle of the Male and Female Llama and Alpaca. In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 2a ed. USA: Elsevier. p. 855-865.
81. Thomas J. 2000. Overview of plasma proteins. *Schalm's Veterinary Hematology*, fifth ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 891-909.

82. Tunón A, Rodríguez H, Hultón I, Nummijilrvi A, Magnusson U. 1998. Concentrations of total protein, albumin and immunoglobulins in undiluted uterine fluid of gynecologically healthy mares. *Theriogenology*.50:821-831.
83. Turín J, Huanca W, Huanca T, Sapaná R.2015. Efecto de la Aplicación Intramuscular de Plasma Seminal sobre la Supervivencia Embrionaria en Alpacas Postcópula. *Rev Inv Vet Perú*.26(3): 444-450.
84. Velazquez M, Parrilla I, Soom A, Verberckmoes S, Kues W, Niemann H.2010.Sampling techniques for oviductal and uterine luminal fluid in cattle. *Theriogenology*. 73(6):758-67.
85. Wathes D, Reynolds T, Robinson R, Stevenson K.1998.Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. *J Dairy Sci*.81: 1778-89.
86. Wrapp D, De Vlioger D, Corbett KS, Torres GM, Wang N, Van Breedam W, Roose K. 2020. Structural basis for potent neutralization of betacoronavi-ruses by single-domain camelid antibodies. *Cell*. DOI: 10.1016/j.cell.2020.-04.031.
87. Zampini R, Apichela S, Sari L, Angiono G, Lombardo D, Miceli D, Argañaraz M. 2017. SegmentSpecific Expression of MMP/TIMP in the Oviduct of Llama (*Lama glama*) and Gelatinolytic Activity in the Oviductal Fluid. *International Journal of Morphology*.35(2): 615-623. DOI: 10.4067/S0717-95022017000200038
88. Zegarra N.2014. Histología normal del aparato reproductor masculino y femenino de alpacas (*Vicugna pacos*) en etapa reproductiva, en la provincia de Caylloma-Arequipa 2012.Tesis de Médico Veterinario. Arequipa: Universidad Católica de Santa María.170p.

IX. ANEXOS



Anexo 1: Embriones de 3 días **A.** Embrión con 4 blastómeras **B.** Embrión con 6 blastómeras **C.** Embrión con 8 blastómeras

Anexo 2: Parámetros de Kits comercial- FAR Diagnostics, Italia

	Glucosa	PT	Albúmina	Triglicéridos	Colesterol
Método	Punto final	Punto final	Punto final	Punto final	Punto final
Longitud de onda	510 nm	550nm	628nm	550nm	510nm
Temperatura	37 °C	37°C	37°C	37 °C	37 °C
Tiempo de reacción	5-10 minutos	5 minutos	inmediato	5 minutos	5 minutos
Cantidad de reactivo	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
Cantidad de blanco	10ul	10ul	10ul	10ul	10ul
Cantidad de estándar	10ul	10ul	10ul	10ul	10ul
Cantidad de muestra	10ul	10ul	10ul	10ul	10ul
Valor estándar	100mg/dl	6g/dl	4g/dl	200mg/dl	200mg/dl

Anexo 3: Grupo de animales que se le aplicó PS, hCG y PBS y se evaluó la composición bioquímica del FO

Nº	Ident.	Tamaño del folículo (mm) Día 0	Oviducto	Glucosa mg/dl	PT g/dl	Albúmina g/dl	Triglicéridos mg/dl	Colesterol mg/dl
1	1-PBS	8.0	Izquierdo	53.19	0.86	0.56	20	10.65
2	2-PBS	7.4	Derecho	60.08	1.23	0.52	8.24	12.06
3	3-PBS	7.9	Izquierdo	56.04	0.95	0.41	17.4	13.87
4	4-PBS	9.1	Izquierdo	79.79	0.79	0.38	9.66	18.81
5	5-hCG	7.6	Izquierdo	80.26	1.07	0.48	16.89	10.85
6	6-hCG	9.0	Derecho	77.35	1.47	0.61	4.54	12.29
7	7-hCG	8.3	Izquierdo	66.94	0.85	0.39	11.9	21.47
8	8-hCG	8.6	Derecho	75.79	0.91	0.64	27.85	20.98
9	9-PS	8.5	Derecho	68.02	1.29	0.63	11.94	15.69
10	10-PS	9.4	Derecho	88.79	1.78	0.53	31.17	24.32
11	11-PS	7.0	Izquierdo	81.39	1.32	0.71	10.61	23.39
12	12-PS	8.1	Derecho	72.71	0.98	0.49	16.39	10.98

Anexo 4: Grupo de animales que se le aplicó PS, hCG y PBS y se evaluó la composición bioquímica del FU

Nº	Ident.	Tamaño del folículo (mm)	Cuerno uterino	Glucosa mg/dl	PT g/dl	Albúmina g/dl	Triglicéridos mg/dl	Colesterol mg/dl
Día 0								
13	13-PBS	7.5	Izquierdo	46.37	1.24	0.74	17.41	12.31
14	14-PBS	8.0	Izquierdo	42.28	1.04	0.67	20.13	15.21
15	15-PBS	8.2	Derecho	52.15	1.29	0.36	18.65	11.34
16	16-PBS	9.0	Derecho	43.72	0.82	0.52	2.81	12.71
17	17-hCG	7.8	Derecho	56.88	1.57	0.49	7.574	12.29
18	18-hCG	8.8	Derecho	51.61	0.93	0.24	3.64	13.24
19	19-hCG	7.9	Izquierdo	47.13	0.71	0.59	25.98	11.14
20	20-hCG	9.1	Derecho	43.22	0.88	0.42	4.95	14.63
21	21-PS	7.7	Izquierdo	56.14	0.82	0.36	17	13.65
22	22-PS	8.3	Izquierdo	49.89	1.35	0.48	22.20	11.84
23	23-PS	8.6	Derecho	57.64	1.52	0.55	12.3	15.26
24	24-PS	9.0	Derecho	48.95	0.96	0.45	3.69	21.12

Anexo 5: Grupo de animales que se aplicó PS, hCG y PBS y se evaluó el desarrollo embrionario al 3er día post cópula

Número	Identificación	Lado de ovulación	Tto.	Nº de blastómeras
1	1-PBS	Izquierdo	PBS	4
2	2-PBS	Derecho	PBS	4
3	3-PBS	Izquierdo	PBS	4
4	4-PBS	Izquierdo	PBS	6
5	5-hCG	Izquierdo	hCG	6
6	6-hCG	Derecho	hCG	6
7	7-hCG	Izquierdo	hCG	8
8	8-hCG	Derecho	hCG	8
9	9-PS	Derecho	PS	6
10	10-PS	Derecho	PS	8
11	11-PS	Izquierdo	PS	8
12	12-PS	Derecho	PS	8

Anexo 6: Grupo de animales que se aplicó PS, hCG y PBS y se evaluó la calidad embrionaria al 6to día post cópula

Número	Identificación	Lado de ovulación	Tratamiento	Calidad embrionaria
13	13-PBS	Izquierdo	PBS	-
14	14-PBS	Izquierdo	PBS	-
15	15-PBS	Derecho	PBS	-
16	16-PBS	Derecho	PBS	-
17	17-hCG	Derecho	hCG	-
18	18-hCG	Derecho	hCG	-
19	19-hCG	Izquierdo	hCG	-
20	20-hCG	Derecho	hCG	-
21	21-PS	Izquierdo	PS	-
22	22-PS	Izquierdo	PS	-
23	23-PS	Derecho	PS	-
24	24-PS	Derecho	PS	-

Anexo 7: Prueba de ANOVA para composición bioquímica del FO con PBS, hCG y PS

ANOVA

Glucosa

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	546,478	2	273,239	3,125	,093
Dentro de grupos	786,958	9	87,440		
Total	1333,436	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Glucosa

HSD Tukey

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-12,81000	6,61210	,184	-31,2710	5,6510
	PS	-15,45250	6,61210	,101	-33,9135	3,0085
hCG	PBS	12,81000	6,61210	,184	-5,6510	31,2710
	PS	-2,64250	6,61210	,917	-21,1035	15,8185
PS	PBS	15,45250	6,61210	,101	-3,0085	33,9135
	hCG	2,64250	6,61210	,917	-15,8185	21,1035

Subconjuntos homogéneos

Glucosa

HSD Tukey^a

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	62,2750
hCG	4	75,0850
PS	4	77,7275
Sig.		,101

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

PT

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,311	2	,156	2,086	,180
Dentro de grupos	,672	9	,075		
Total	,983	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: PT

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-,11750	,19320	,819	-,6569	,4219
	PS	-,38500	,19320	,170	-,9244	,1544
hCG	PBS	,11750	,19320	,819	-,4219	,6569
	PS	-,26750	,19320	,388	-,8069	,2719
PS	PBS	,38500	,19320	,170	-,1544	,9244
	hCG	,26750	,19320	,388	-,2719	,8069

PT

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	,9575
hCG	4	1,0750
PS	4	1,3425
Sig.		,170

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

Albumina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,030	2	,015	1,461	,282
Dentro de grupos	,092	9	,010		
Total	,122	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Albumina

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-,06250	,07168	,670	-,2626	,1376
	PS	-,12250	,07168	,254	-,3226	,0776
hCG	PBS	,06250	,07168	,670	-,1376	,2626
	PS	-,06000	,07168	,691	-,2601	,1401
PS	PBS	,12250	,07168	,254	-,0776	,3226
	hCG	,06000	,07168	,691	-,1401	,2601

Albumina

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	,4675
hCG	4	,5300
PS	4	,5900
Sig.		,254

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

Trigliceridos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	27,805	2	13,902	,192	,829
Dentro de grupos	653,302	9	72,589		
Total	681,107	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Trigliceridos

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-1,47000	6,02450	,968	-18,2904	15,3504
	PS	-3,70250	6,02450	,816	-20,5229	13,1179
hCG	PBS	1,47000	6,02450	,968	-15,3504	18,2904
	PS	-2,23250	6,02450	,928	-19,0529	14,5879
PS	PBS	3,70250	6,02450	,816	-13,1179	20,5229
	hCG	2,23250	6,02450	,928	-14,5879	19,0529

Trigliceridos

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	13,8250
hCG	4	15,2950
PS	4	17,5275
Sig.		,816

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

Colesterol

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	45,160	2	22,580	,798	,480
Dentro de grupos	254,617	9	28,291		
Total	299,777	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Colesterol

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-2,55000	3,76103	,782	-13,0508	7,9508
	PS	-4,74750	3,76103	,449	-15,2483	5,7533
hCG	PBS	2,55000	3,76103	,782	-7,9508	13,0508
	PS	-2,19750	3,76103	,832	-12,6983	8,3033
PS	PBS	4,74750	3,76103	,449	-5,7533	15,2483
	hCG	2,19750	3,76103	,832	-8,3033	12,6983

Colesterol

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	13,8475
hCG	4	16,3975
PS	4	18,5950
Sig.		,449

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Anexo 8: Prueba de ANOVA para composición bioquímica del FU con PBS, hCG y PS

ANOVA

Glucosa

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	98,713	2	49,357	2,037	,186
Dentro de grupos	218,092	9	24,232		
Total	316,805	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Glucosa

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-3,58000	3,48083	,579	-13,2985	6,1385
	PS	-7,02500	3,48083	,163	-16,7435	2,6935
hCG	PBS	3,58000	3,48083	,579	-6,1385	13,2985
	PS	-3,44500	3,48083	,601	-13,1635	6,2735
PS	PBS	7,02500	3,48083	,163	-2,6935	16,7435
	hCG	3,44500	3,48083	,601	-6,2735	13,1635

Glucosa

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PBS	4	46,1300
hCG	4	49,7100
PS	4	53,1550
Sig.		,163

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

PT

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,039	2	,020	,198	,824
Dentro de grupos	,889	9	,099		
Total	,929	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: PT

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	,06750	,22228	,951	-,5531	,6881
	PS	-,07250	,22228	,943	-,6931	,5481
hCG	PBS	-,06750	,22228	,951	-,6881	,5531
	PS	-,14000	,22228	,808	-,7606	,4806
PS	PBS	,07250	,22228	,943	-,5481	,6931
	hCG	,14000	,22228	,808	-,4806	,7606

PT

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
hCG	4	1,0225
PBS	4	1,0900
PS	4	1,1625
Sig.		,808

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

Albumina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,043	2	,021	1,140	,362
Dentro de grupos	,169	9	,019		
Total	,212	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Albumina

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	,13750	,09700	,373	-,1333	,4083
	PS	,11250	,09700	,504	-,1583	,3833
hCG	PBS	-,13750	,09700	,373	-,4083	,1333
	PS	-,02500	,09700	,964	-,2958	,2458
PS	PBS	-,11250	,09700	,504	-,3833	,1583
	hCG	,02500	,09700	,964	-,2458	,2958

Albumina

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
hCG	4	,4350
PS	4	,4600
PBS	4	,5725
Sig.		,373

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

ANOVA

Trigliceridos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	473,787	2	236,894	,563	,588
Dentro de grupos	3786,242	9	420,694		
Total	4260,029	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Trigliceridos

HSD Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
PBS	hCG	-12,82750	14,50334	,663	-53,3209	27,6659
	PS	,95250	14,50334	,998	-39,5409	41,4459
hCG	PBS	12,82750	14,50334	,663	-27,6659	53,3209
	PS	13,78000	14,50334	,624	-26,7134	54,2734
PS	PBS	-,95250	14,50334	,998	-41,4459	39,5409
	hCG	-13,78000	14,50334	,624	-54,2734	26,7134

Trigliceridos

HSD Tukey^a

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
PS	4	13,7975
PBS	4	14,7500
hCG	4	27,5775
Sig.		,624

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

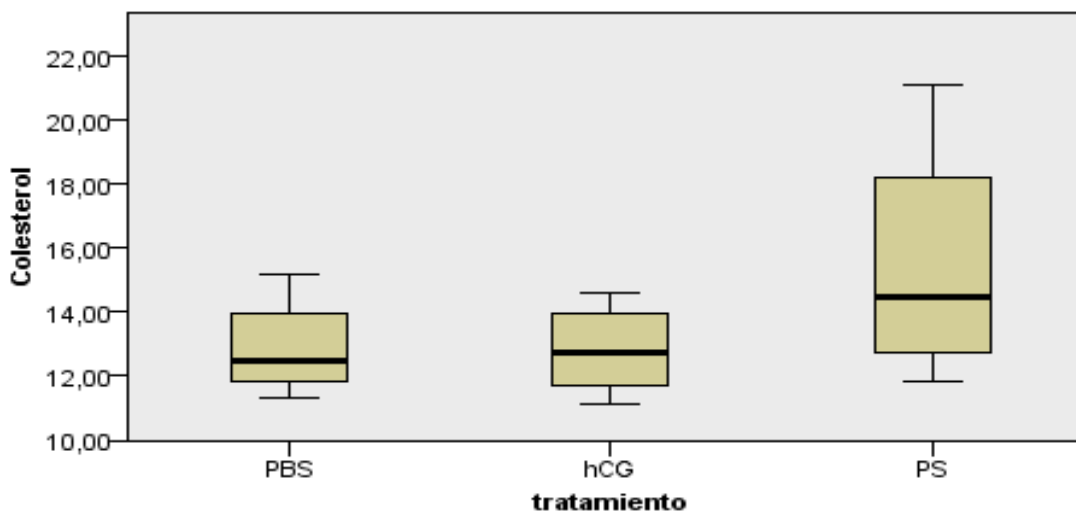
Anexo 9: Prueba de Kruskal-Wallis para colesterol del FU con PBS, hCG y PS.

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Colesterol es la misma entre las categorías de tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,390	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



N total	12
Estadístico de contraste	1,885
Grados de libertad	2
Significación asintótica (prueba bilateral)	,390

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.
2. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.