



Efecto de dos Métodos de Colección sobre la Cantidad y Calidad Ovocitaria de Alpacas (*Vicugna pacos*) y Llamas (*Lama glama*) POST MÓRTEM

Noemi F. Vasquez Turpo¹, Manuel G. Perez Durand^{1,2}, Luis V. Olivera Marocho² y Uri H. Perez Guerra²

¹Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.

²Docente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno

INFORMACIÓN DEL ARTICULO

Art. Recibido 02/setiembre/2015

Art. Aceptado 24/diciembre/2015

online: 30/diciembre/2015

PALABRAS CLAVE:

- * aspiración folicular
- * alpacas
- * corte
- * llamas
- * ovario
- * ovocitos

ARTICLE INFO

Article Received 02/september/2015

Article Accepted 24/december/2015

online:30/december/2015

KEY WORDS:

- * follicular aspiration
- * alpacas
- * slicing
- * llamas
- * ovary
- * oocytes

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la cantidad y calidad de ovocitos obtenidos por dos métodos de ovarios de alpacas y llamas, se utilizaron 40 ovarios de alpacas y 40 de llamas. Para el método de aspiración folicular, se aspiraron folículos de 2 mm de diámetro con aguja 20G x 1 y en método corte los ovarios fueron cortados en forma longitudinal y transversal con bisturí. Los ovocitos fueron categorizados de acuerdo a las células del cumulus y apariencia citoplasmática. El promedio de ovocitos por ovario para métodos fue altamente significativo ($P \leq 0.01$), siendo por aspiración folicular de 4.50 ± 2.06 y 3.10 ± 1.68 y por corte de 10.00 ± 7.01 y 8.25 ± 4.96 en alpacas y llamas, respectivamente. El promedio de ovocitos por ovario fueron similares ($P > 0.05$) para alpacas de 7.25 ± 5.81 y llamas de 5.67 ± 4.49 y según ubicación topográfica del ovario derecho e izquierdo fueron 6.75 ± 4.70 , 7.75 ± 6.84 y 6.45 ± 5.02 , 4.90 ± 3.86 para alpacas y llamas, respectivamente ($P > 0.05$). La tasa de recolección ovocitaria fue superior por corte (102.04% y 81.68%) que aspiración folicular (62.07% y 68.13%) para alpacas y llamas, respectivamente. En la evaluación de ovocitos fueron similares entre métodos ($P > 0.05$). Los porcentajes de ovocitos aptos y no aptos para la maduración son similares ($P > 0.05$) entre aspiración folicular (71.11%, 28.89% y 69.35%, 30.65%) y corte (61.00%, 39.00% y 64.85%, 35.15%) para alpacas y llamas, respectivamente. En conclusión la mayor cantidad de ovocitos recuperados fue por el método de corte que por aspiración folicular y con respecto a la calidad no se encontró el efecto del método sobre la categoría de los ovocitos.

EFFECT OF TWO METHODS OF COLLECTION ON THE QUANTITY AND QUALITY OOCYTE OF ALPACAS (*Vicugna pacos*) AND LLAMAS (*Lama glama*) POST MORTEM

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the quantity and quality of oocytes obtained by two methods ovaries alpacas and llamas, alpacas ovaries 40 and 40 llamas were used. For the method of oocyte recovery follicles 2mm diameter needle 20G x 1 and cutting method in the ovaries were cut longitudinally and transversely with a scalpel were aspirated. The oocytes were categorized according to the cumulus cells and cytoplasmic appearance. The average of eggs per ovary to methods was highly significant ($p \leq 0.01$), being oocyte 4.50 ± 2.06 and 3.10 ± 1.68 and 10.00 ± 7.01 cut and 8.25 ± 4.96 in alpacas and llamas, respectively. The average of eggs per ovary were similar ($P > 0.05$) for alpacas 7.25 ± 5.81 and flames of 5.67 ± 4.49 and as topographical location of the right and left ovary were 6.75 ± 4.70 , 7.75 ± 6.84 and 6.45 ± 5.02 , 4.90 ± 3.86 for alpacas and llamas, respectively ($P > 0.05$). Oocyte collection rate was higher shear (102.04% and 81.68%) than follicular aspiration (62.07% and 68.13%) for alpacas and llamas, respectively. In evaluating oocytes were similar between methods ($P > 0.05$). The percentages of oocytes fit and unfit for maturation are similar ($P > 0.05$) between oocyte (71.11%, 28.89% and 69.35%, 30.65%) and cut (61.00%, 39.00% and 64.85%, 35.15%) for alpacas and llamas, respectively. In conclusion as many oocytes were obtained by the cutting method by follicular aspiration and quality regarding the effect of the method on the category of oocytes we were not found.

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos, como la alpaca y la llama, son especies económicamente importantes en las zonas altoandinas, principalmente por la producción de su fibra y carne. Sin embargo, existen factores que afectan a la producción de estos camélidos entre los que se puede señalar la baja eficiencia reproductiva como una importante limitante (Andrade, 2007).

En las diversas especies domésticas se emplean biotecnologías reproductivas para mejorar los índices reproductivos y productivos. En camélidos sudamericanos los estudios sobre biotecnología reproductiva son limitados (Novoa, 1991). Sin embargo, al igual que en el resto de especies domésticas, la colección de ovocitos para la maduración *in vitro*, la fecundación *in vitro* y la transferencia de embriones podrían apoyar los programas de mejoramiento y aprovechar al máximo el potencial genético del animal (Wood and Wildt, 1997). En tal sentido, la obtención de ovarios provenientes de alpacas y llamas hembras beneficiadas en el camal es una fuente importante para la recuperación de complejos ovocito-cúmulo (COCs), facilitando gran disponibilidad de ovocitos a bajo costo, los que podrían ser madurados, fertilizados y cultivados *in vitro* hasta estados avanzados del desarrollo embrionario (Del Campo *et al.*, 1992; Del Campo *et al.*, 1994; Ratto *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 2007). Es así que los primeros embriones de llama fueron producidos *in vitro* utilizando COCs colectados por punción de ovarios obtenidos en el camal (Del Campo *et al.*, 1994) y del mismo modo en alpacas (Ruiz *et al.*, 2007).

La razón del presente trabajo de investigación fue aportar mayor conocimiento en la eficiencia del método de recolección y categorización de ovocitos provenientes de ovarios de alpacas y llamas, que posteriormente servirá como tecnología para maduración, fertilización *in vitro* y transferencia de embriones respectivamente, lo que permitirá recuperar animales valiosos. Por lo tanto, el objetivo fue determinar la cantidad, rendimiento y calidad de ovocitos colectados de ovarios de alpacas y llamas post *mórtem*, aplicando el método de aspiración folicular y corte.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar experimental

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que se encuentra en la ciudad universitaria de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

Metodología

Material experimental y recolección de ovarios

Se utilizaron 40 ovarios de alpacas y 40 de llamas, distribuidos en dos grupos (métodos) de 20 ovarios para cada especie, dentro de cada grupo se tuvo dos sub grupos (derecho e izquierdo) de 10 ovarios que fueron obtenidos inmediatamente después del beneficio del animal en el camal municipal del distrito de Nuñoa de la provincia de Melgar. Los ovarios fueron colectados en bolsas de polietileno que contenían solución salina (0.9% NaCl) a 35°C dentro de un termo, que fue transportado al laboratorio por 5 a 6 h.

En laboratorio, se observaron la presencia de cuerpo lúteo y el número de folículos mayores a 2 mm de diámetro que son visibles en la superficie del ovario, las cuales fueron registrados en la planilla. Posteriormente los ovarios se lavaron tres veces con solución fisiológica a 35°C.

Recolección de ovocitos por aspiración

Los ovocitos fueron aspirados de los folículos visibles (mayores a 2 mm de diámetro) de la superficie ovárica con ayuda de una aguja de 20G x 1 adosado a una jeringa de 5 mL en donde contenía 1 mL de Tampon Fosfato Salino (PBS), el contenido de la aspiración fue vertida a una placa petri (10 x 36 mm) y mantenido a 35°C sobre la platina térmica por 5 min para la sedimentación de los ovocitos.

Una vez sedimentado los ovocitos en la placa petri (10 x 36 mm) se procedió a la búsqueda de los ovocitos con el estereoscopio a 25X en el cual con ayuda de la pipeta capilar unida a una jeringa de tuberculina se aspiraron los ovocitos para luego

trasladarlos a otra placa petri (10 x 36 mm) que contenía 2 mL de PBS para su posterior evaluación.

Recolección de ovocitos por corte

El ovario fue colocado a una placa petri de vidrio (14 x 93 mm) que contenía 2 mL de Tampon Fosfato Salino (PBS), para realizar el corte del ovario fue fijado con una pinza hemostática curva y los cortes se realizaron en forma longitudinal y transversal con un bisturí, realizando cortes a 2 mm de distancia aproximadamente, posteriormente se procedió a retirar los trozos del ovario cortado con ayuda de una pinza realizando antes un previo lavado con PBS y mantenido a 35°C sobre la platina térmica.

El contenido de la placa petri (14 x 93 mm) donde se realizó el corte, fue vertida a otra placa petri (12 x 56 mm) dejando en reposo por 10 min a 35°C sobre la platina térmica para su posterior búsqueda de los ovocitos con el estereoscopio a 25X en el cual con ayuda de la pipeta capilar unida a una jeringa de tuberculina se aspiraron los ovocitos para luego trasladarlos a otra placa petri (10 x 36 mm) que contenía 2 mL de PBS para su posterior evaluación.

Evaluación de ovocitos

La placa petri (10 x 36 mm) con los ovocitos fueron expuestos al microscopio a 400X en el cual se categorizo de acuerdo al número de capas de células del cumulus y la apariencia del citoplasma y la categorización empleada fue de acuerdo a recomendación por Lonergan *et al.* (1991).

- Categoría I correspondió a un ovocito con células del cumulus con número de capas múltiples (mayor a 4) y compactas, con citoplasma homogéneo y transparente.
- Categoría II contenía capas múltiples del cumulus (de 1 a 3) y un citoplasma homogéneo con zonas periféricas oscuras.
- Categoría III se caracterizó por poseer un cumulus desnudado y un citoplasma irregular con zonas oscuras.
- Categoría IV tenía un cumulus con células expandidas y un citoplasma irregular con zonas oscuras.

Diseño estadístico

Los datos fueron analizados por un análisis de varianza (ANVA) conducido como Diseño Completamente al Azar bajo un arreglo factorial de 2 x 2 x 2 para la cantidad de ovocitos y para calidad mediante la prueba de Ji-cuadrado.

RESULTADOS

Determinación de la cantidad de ovocitos colectados por dos métodos de ovarios de alpacas y llamas.

Los promedios de ovocitos por ovario colectados de alpacas y llamas utilizando dos métodos de colección ovocitaria, cuyo promedio son: 7.25 ± 5.81 y 5.67 ± 4.49 , respectivamente no mostraron diferencia estadística ($P > 0.05$) entre ambas especies domésticas, tal como se muestra en la tabla

1. **Tabla 1.** Número promedio de ovocitos por ovario en alpacas y llamas.

	ALPACAS	LLAMAS
N° de ovarios	40	40
N° de ovocitos $X \pm D.S./$ ovario	7.25 ± 5.81	5.67 ± 4.49

Según la ubicación topográfica del ovario (derecho e Izquierdo) por los dos métodos de colección ovocitaria no mostraron diferencia estadística entre ambos ovarios, los promedios de ovocitos en alpacas fueron: 6.75 ± 4.70 para el ovario derecho y 7.75 ± 6.84 para el ovario izquierdo. Por otro lado en llamas fue de 6.45 ± 5.02 para el ovario derecho y 4.90 ± 3.86 para el ovario izquierdo, se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Número promedio de ovocitos por ovario, según ubicación topográfica del ovario en alpacas y llamas.

	ALPACAS		LLAMAS	
	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
N° de ovarios	20	20	20	20
N° de ovocitos				
X±D.S./ovario	6.75 ± 4.70	7.75 ± 6.84	6.45 ± 5.02	4.90 ± 3.86

Los promedios de ovocitos por ovario obtenidos por dos métodos de colección, cuyos promedios en alpacas por el método de aspiración folicular fue de: 4.50 ± 2.06 y por el método de corte fue de 10.00 ± 7.01 . Mientras que en llamas los promedios de ovocitos por ovario fue 3.10 ± 1.68 y 8.25 ± 4.96 para los métodos de aspiración folicular y corte, respectivamente tal como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Número promedio de ovocitos por ovario, colectados por los métodos de corte y aspiración folicular en alpacas y llamas.

	ALPACAS		LLAMAS	
	ASPIRACIÓN	CORTE	ASPIRACIÓN	CORTE
N° de ovarios	20	20	20	20
N° de ovocitos				
X±D.S./ovario	4.50 ± 2.06^b	10.00 ± 7.01^a	3.10 ± 1.68^b	8.25 ± 4.96^a

Los resultados obtenidos se analizaron por un análisis de varianza (ANVA) que mostraron una diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) y a la prueba de Duncan el método de corte fue superior al método de aspiración folicular tanto en alpacas y llamas.

Determinación de la tasa de recolección de ovocitos, colectados por dos métodos de ovarios de alpacas y llamas

La tasa de recolección de ovocitos indica que hay una diferencia estadística entre métodos en alpacas y llamas (tabla 4).

Tabla 4. Tasa de recolección ovocitaria por dos métodos de colección en alpacas y llamas (%).

	ALPACAS		LLAMAS	
	ASPIRACION	CORTE	ASPIRACION	CORTE
N° de folículos	145	196	91	202
N° de ovocitos recuperados	90	200	62	165
Tasa de colección ovocitaria (%)	62.07^b	102.04^a	68.13^b	81.68^a

En alpacas, por el método de corte se obtuvo 102.04%, resultado superior que el método de aspiración folicular 62.07%. Asimismo, en llamas fue mejor el método de corte (81.68%) que el método de aspiración folicular (68.13%).

Determinación de la calidad de ovocitos colectados por dos métodos de ovarios de alpacas y llamas.

Los porcentajes de ovocitos recuperados en alpacas por dos métodos de colección, fueron evaluados de acuerdo a la calidad morfológica (tabla 5).

Tabla 5. Categorización de ovocitos según la calidad morfológica, obtenidos por dos métodos de colección en alpacas y llamas (%).

CATEGORÍA	ESPECIES									
	ALPACAS					LLAMAS				
	MÉTODOS				TOTAL	MÉTODOS				TOTAL
	ASPIRACIÓN		CORTE			ASPIRACIÓN		CORTE		
I	36	40.00%	60	30.00%	96	23	37.10%	45	27.27%	68
II	28	31.11%	62	31.00%	90	20	32.26%	62	37.58%	82
III	8	8.89%	47	23.50%	55	10	16.13%	25	15.15%	35
IV	18	20.00%	31	15.50%	49	9	14.52%	33	20.00%	42
TOTAL	90	100%	200	100%	290	62	100%	165	100%	227

En alpacas, los porcentajes de ovocitos para las categorías I, II, III y IV obtenidos por el método de aspiración folicular fueron 40.00%, 31.11%, 8.89% y 20.00% respectivamente y por el método de corte se obtuvieron 30.00%, 31.00%, 23.50% y 15.50% para las categorías I, II, III y IV respectivamente, según la prueba de Ji – cuadrado no mostraron diferencia estadística ($P > 0.05$) los métodos de colección sobre las categorías de ovocitos. Mientras en llamas, los porcentajes de ovocitos para las categorías I, II, III y IV obtenidos por el método de aspiración folicular fueron 37.10%, 32.26%, 16.13% y 14.52%, respectivamente y por el método de corte se obtuvieron 27.27%, 37.58%,

15.15% y 20.00% para las categorías I, II, III y IV, respectivamente y según la prueba de Ji – cuadrado no mostraron diferencia estadística ($P > 0.05$) los métodos de colección sobre las categorías de ovocitos.

Los porcentajes de ovocitos considerados aptos (categorías I y II) y no aptos (categorías III y IV) para la maduración (Leibfried *et al.*, 1989; Lonergan *et al.* 1991; Ratto *et al.*, 2005; Huanca *et al.*, 2007), obtenidos por dos métodos de colección ovocitaria de ovarios de alpacas y llamas se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de ovocitos aptos y no aptos para la maduración en alpacas y llamas (%).

CALIDAD	ALPACAS				LLAMAS			
	ASPIRACIÓN		CORTE		ASPIRACIÓN		CORTE	
Aptos	64	71.11%	122	61.00%	43	69.35%	107	64.85%
No aptos	26	28.89%	78	39.00%	19	30.65%	58	35.15%
TOTAL	90	100%	200	100%	62	100%	165	100%

Los porcentajes obtenidos en alpacas por el método de aspiración folicular fue de: 71.11% de ovocitos aptos, 28.89% de ovocitos no aptos y por el método de corte 61.00% de ovocitos aptos, 39.00% de ovocitos no aptos. Mientras que en llamas los promedios de ovocitos por ovario fue 69.35%, 30.65% y 64.85%, 35.15% de ovocitos aptos y no aptos para madurar por los métodos de aspiración folicular y corte, respectivamente.

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados con respecto a promedio de ovocitos por ovario colectados de alpacas y llamas, la diferencia numérica podría deberse a que el intervalo de dos oleadas de crecimiento folicular consecutivas son diferentes en las distintas especies de camélidos tal como reporta Vaughan *et al.* (2004) de 12 a 16 días en alpacas y Adams *et al.* (1990) reporta de 18 días en llamas, también podría variar con la localización geográfica, la estación del año, la situación fisiológica de la hembra tal como indica Adams *et al.* (1990).

Los resultados encontrados respecto a promedio de ovocitos en alpacas y llamas entre ambos ovarios no mostraron diferencia estadística debido a que el desarrollo de la onda folicular se da de manera alterna entre los dos ovarios en un 85% de casos tal como indican Fernández-Baca (1993), Bravo y Sumar (1989). Mientras la diferencia numérica entre ambos ovarios de las dos especies podría deberse a lo indicado por Adams *et al.* (1990) y Vaughan *et al.* (2004) a que no siempre se

produce alternancia entre ambos ovarios de una oleada a otra.

Los resultados obtenidos respecto al número promedio de ovocitos por ovario para el método de aspiración folicular en alpacas es superior comparado con lo reportado por Huanca *et al.* (2007) que fue de 3.5 ovocitos por ovario. Mientras que en llamas por aspiración folicular guiada por ultrasonografía es inferior al resultado obtenido por Berland *et al.* (2011) con 4.91 ovocitos por ovario.

La superioridad de los resultados en alpacas comparado a los obtenidos por Huanca *et al.* (2007) se debe probablemente a la estación del año, la situación fisiológica de la hembra (Adams *et al.*, 1990). Sin embargo en llamas esta superioridad del resultado de Berland *et al.* (2011) es debido a la administración de hormonas (FSH y eCG) que estimulan un mayor número de desarrollo folicular.

Los resultados obtenidos del número promedio de ovocitos por ovario para los dos métodos son similares a los comparados con los reportes de Wani *et al.* (2000) en ovinos con 9.5 ± 0.40 y 6.8 ± 0.30 , de Wang *et al.* (2007) en bovinos con 9.6 ± 0.4 y de Hernandez *et al.* (2010) con 5.8 ± 0.3 , 7.03 ± 3.34 y 4.58 ± 1.05 para el método de corte y aspiración folicular, respectivamente. Así mismo, el método de corte muestra superioridad a comparación al método de aspiración folicular para la obtención de mayor cantidad de ovocitos en el presente estudio, tal como reportan en bovinos Gonzales *et al.* (1992), Seneda *et al.* (2001) y Velarde *et al.* (2005).

La superioridad del método de corte en colección de ovocitos por ovario frente al método de aspiración folicular se podría explicar tal como indica Hamano and Kuwayama (1993) que por el método de corte se recuperan ovocitos provenientes de folículos menores de 2 mm de diámetro que están en el interior del ovario.

Los resultados encontrados respecto a la tasa de recolección ovocitaria para el método de aspiración folicular, son inferiores a lo descrito por Huanca *et al.* (2007) en alpacas que fue 68.6%. Mientras en llamas por aspiración folicular guiada por ultrasonografía son similares a los resultados de Berland *et al.* (2011) con 68.56%.

Los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a lo reportado por Hernandez *et al.* (2010) quienes obtuvieron 76.77% y 63.85% para el método de corte y aspiración folicular respectivamente en bovinos. Mientras los resultados encontrados para el método de aspiración folicular del presente trabajo, es superior a lo descrito por Nowshari (2005) quien obtuvo una tasa de recuperación de 42.74% en camellos.

La inferioridad del resultado obtenido en el presente trabajo frente a Huanca *et al.* (2007) y la superioridad frente a Nowshari (2005) se debe probablemente a la habilidad y experiencia del investigador.

Los resultados obtenidos para la calidad de ovocitos en alpacas y llamas por categoría en el presente trabajo son diferentes a lo descrito por Wang *et al.* (2007) quienes indican que para obtener ovocitos de categoría I es más eficiente el método de corte (44.1%) en comparación con el método de aspiración folicular (21.1%). Sin embargo para la obtención de ovocitos de categoría II los resultados son lo contrario que fue de: 20.5% y 41.4% para el método de corte y aspiración folicular respectivamente en la especie bovina, estas diferencias pueden ser debido a la diferencia entre especies, factor medio ambiental, tiempo y temperatura de transporte del ovario desde el lugar de recolección de ovarios al laboratorio.

Estos resultados obtenidos para porcentaje de ovocitos en alpacas y llamas para el método de aspiración folicular son similares a lo reportado por Nowshari (2005) quien obtuvo 76.63%, 23,3% de ovocitos aptos y no aptos para madurar respectivamente en camellos.

Así los reportes obtenidos por Hernandez *et al.* (2010) con porcentajes parecidos a los obtenidos del presente trabajo con 76.77%, 23.23% y 63.85%, 31.15% de ovocitos aptos y no aptos para aspiración folicular y corte respectivamente en bovinos. También se muestra similar los porcentajes obtenidos en ovinos por Wani *et al.* (2000) que fue 64.4% y 54.3% de ovocitos de buena calidad o aptos para madurar la maduración por el método de aspiración folicular y por corte respectivamente.

Huanca *et al.* (2007) reporta en alpacas 54% de ovocitos aptos (I y II) y 46% de ovocitos no aptos (III y IV) para el método de aspiración folicular que son proporciones poco variables entre calidades aptos y no aptos para la maduración, mientras los resultados en el presente trabajo tienen una alta proporción entre calidades. Estas diferencias pueden variar por el tiempo de transporte de los ovarios del lugar de recolección al laboratorio para su respectivo proceso.

CONCLUSIONES

El número de ovocitos recuperados fue superior por el método de corte (10.00 ± 7.01 y 8.25 ± 4.96) comparando con el método de aspiración folicular (4.50 ± 2.06 y 3.10 ± 1.68) para alpacas y llamas respectivamente.

La tasa de recuperación de ovocitos es más eficiente por el método de corte en comparación al método de aspiración folicular.

En cuanto a la calidad, no se encontró el efecto de métodos de colección (aspiración folicular o corte) sobre la categoría de los ovocitos tanto en alpacas como en llamas.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Adams, G., J. Sumar and O. Ginther. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 90, 535-45.
- Andrade, S. 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 FMV-Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima.
- Berland, M. A., A. Bear, J. Ruiz, V. H. Parraguez, P. Morales, G. P. Adams and M. H. Ratto. 2011. *In vitro* fertilization and development of cumulus oocytes complexes collected by ultrasound-guided follicle aspiration in superstimulated llamas. *Theriogenology* 75, 1482-1488.
- Bravo, W. and Sumar, J. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 30, 271-281.
- Del Campo, M. R., M. X. Donoso, C. H. Del Campo, R. Rojo, C. Barros, J. J. Parrish and R. J. Mapletoft. 1992. In Vitro maturation of llama (*Lama glama*) oocytes IN: Procc.12th International Congress on Animal Reproduction. Vol. 1. 324-326.
- Del Campo, M., C. Del Campo, M. Donoso, M. Berland and R. Mapletoft. 1994. In vitro fertilization and development of *Lama glama* oocytes using epididymal spermatozoa and oviductal cell co-culture. *Theriogenology* 41, 1219-1229.
- Fernández-Baca, S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 307-323.
- González, R., E. Soto, N. Delgado, G. Portillo, A. Ondiz y J. Velarde. 1992. Comparación de dos métodos de recolección de oocitos de ovarios de bovinos mestizos sacrificados. *Revista Científica, FCV de Luz.* 2, 11-13.
- Hamano, S. and Kuwayama, M. 1993. In vitro fertilization and development of bovine oocytes recovered from the ovaries of the individual donors a comparison between the cutting and aspiration method, *Theriogenology.* 39, 703-712.
- Hernández, F. A., T. H. Nava y V. Vílchez. 2010. Comparación de dos métodos de recolección de ovocitos bovinos para maduración *in vitro*. *Producción Agropecuaria/ Sanidad Animal*, vol. 3, 41 – 44.
- Huanca, W., J. Palomino, M. Cervantes, A. Cordero y T. Huanca. 2007. Efecto de temperatura de transporte (35° y 4°C) sobre la calidad morfológica de ovocitos colectados desde ovarios de camal. Procc. XX Reunión ALPA y XXX Reunión APPA- Cusco, Perú.
- Leibfried, M. L., E. S. Critser, J. L. Parrish and N. L. Fist. 1989. *In vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology.* 31, 6174.
- Lonergan, P., H. Sharif, P. Monagan, H. Wahid, A. Gallagher and I. Gordon. 1991. The effect of recovery method on the types of fameless oocytes obtained for in vitro maturation. *Theriogenology.* 35, 231.
- Novoa, C. 1991. Fisiología de la reproducción de la hembra; In: Fernández-Baca S. editor. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile.

- Nowshari, M. A. 2005. The effect of harvesting technique on efficiency of oocyte collection and different maturation media on the nuclear maturation of oocytes in camels (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology*. 63, 2471-2481.
- Ratto, M., M. Wolter, C. Gomez, M. Berland and G.P. Adams. 1999. In vitro maturation of llama oocytes. Libro de resúmenes. *II Congreso Mundial sobre Camélidos*. Cuzco-Perú.
- Ratto, M.H., M. Berland, W. Huanca, J. Singh and G.P. Adams. 2005. In Vitro and In Vivo maturation of llama oocytes. *Theriogenology*. 63, 2445 –2457.
- Ruiz, J. A., J.E. Correa, G. Ayuque, L. Landeo, M. Yarang and A. Zacarías. 2007. Producción in vitro de embriones partenogénéticos de alpaca y llama. *I Simposio Internacional de Biotecnología Aplicada en Camélidos Sudamericanos*. Universidad Nacional de Huancavelica, Perú.
- Seneda, M. M., C. R. Esper, J. M. Garcia, J. A. Olivera and R. Vantini. 2001. Relationship between follicle size and ultrasound-guided transvaginal recovery. *Anim Reprod Sci*. 67, 37-43
- Velarde, N. y Espezúa, D. 2005. Recuperación de ovocitos recolectados de vacas criollas post mórtem del sur del Perú.
- Vaughan, J., K. Macmillan, M. D’Occhio. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod. Sci*. 80, 353–361.
- Wang, Z., S. Yu and Z. Xu. 2007. Effects of Collection Methods on Recovery Efficiency, Maturation Rate and Subsequent Embryonic Developmental Competence of Oocytes in Holstein Cow. *J. Anim. Sci*. 20, 496-500
- Wani, N. A., G. M. Wani, M. Z. Khan and S. Salahudin. 2000. Effect of oocyte harvesting techniques on in vitro maturation and in vitro fertilization in sheep. *Small Ruminant Research* vol. 36, 63- 67.
- Wood, T. and Wildt, D. 1997. Effect of the quality of the cumulus-oocyte complex in the domestic cat on the ability of oocytes to mature, fertilize and development into blastocysts in vitro. *J. Reprod. Fert*. 110, 355-360.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO	
CENTRO PREUNIVERSITARIO (CEPREUNA)	
N°	AREAS
1	SOCIALES
2	BIOMEDICAS
3	INGENIERIAS
Fuente:	http://cepreunap.edu.pe/

direccion: Jr. acora #. Tel:051363684

