

## TRANSFERENCIA EMBRIONARIA IPSILATERAL Y CONTRALATERAL A LA POSICIÓN DEL CUERPO LÚTEO Y SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA EN LLAMAS

### EMBRYO TRANSFER IPSILATERAL AND CONTRALATERAL TO THE POSITION OF THE CORPUS LUTEUM AND EMBRYO SURVIVAL IN LLAMAS

Sylvia Carnero S.<sup>1</sup>, Wilfredo Huanca L.<sup>1,2</sup>, Aída Cordero R.<sup>3</sup>, Martha Vásquez E.<sup>1</sup>, Teodosio Huanca M.<sup>4</sup>

#### RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar el efecto de la transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a la posición del cuerpo lúteo (CL), así como el tamaño del CL sobre la tasa de supervivencia embrionaria en llamas. Se utilizaron 43 llamas receptoras, adultas, distribuidas aleatoriamente en 4 grupos: G1 (n=10): CL en ovario derecho y transferencia ipsilateral, G2 (n=10): CL en ovario derecho y transferencia contralateral, G3 (n=15): CL en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral y G4 (n=8): CL en ovario izquierdo y transferencia contralateral. Se usaron 10 llamas como donadoras de embriones, que fueron sincronizadas con LH (1 ml) (Día 0=D0), superovuladas con 1000 UI de eCG en el D3, a las que se les provocó luteólisis con PGF<sub>27</sub> en el D7 y se les empadró en el D8. Ese día, las receptoras se trataron con LH para sincronizarlas con las donadoras. En el D14 se colectó, evaluó y transfirió los embriones. El 60 (G1) y 75% (G3) de las hembras preñaron con transferencia ipsilateral derecha e izquierda, respectivamente, mientras solo el 30 (G2) y 25% (G4) preñaron con transferencia contralateral derecha e izquierda, respectivamente. Sin embargo, solo se encontró diferencia significativa entre el grupo G3 con los grupos G2 y G4 ( $p<0.05$ ). Los resultados indican una mayor tasa de supervivencia embrionaria en llamas al realizar la transferencia en el cuerno ipsilateral a la posición del CL ubicado en el ovario izquierdo.

**Palabras clave:** transferencia embrionaria, cuerpo lúteo, ipsilateral, contralateral, preñez, llamas

<sup>1</sup> Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

<sup>2</sup> E-mail: whuanca2002@yahoo.com

<sup>3</sup> Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. E-mail: aidacordero@gmail.com

<sup>4</sup> Programa Nacional de Investigación en Camélidos – ILLPA, Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA), Puno

## ABSTRACT

The study was carried out to evaluate the effect the embryo transfer to the uterine horn ipsilateral and contralateral to the side of the corpus luteum (CL) and the size of CL on the embryo survival in llamas. It was used 43 recipient adult females randomly assigned to 4 groups: G1 (n=10): CL in right ovary and ipsilateral embryo transfer, G2 (n=10): CL in right ovary and contralateral transfer, G3 (n=15): CL in left ovary and ipsilateral transfer, and G4 (n=8): CL in left ovary and contralateral transfer. Ten llamas were used as embryo donors. They were synchronized with LH (1 ml) on Day 0 (D0), superovulated with 1000 UI eCG on D3, luteolysis was induced with PGF<sub>2α</sub> on D7, and mated on D8. Recipients were treated on D7 with LH to get synchrony with the donors. On D14 embryos were collected, evaluated and transferred. The results showed that 60 (G1) and 75% (G3) recipients conceived when embryo transfer was right and left ipsilateral respectively, while only 30 (G2) and 25% (G4) conceived when embryo transfer was right and left contralateral respectively. However, statistical difference was only observed between G3 with G2 and G4 (p<0.05). These results indicate that pregnancy rate is higher in llamas when the embryo transfer was done in to the uterine horn ipsilateral to the CL in the left ovary.

**Key words:** embryo transfer, corpus luteum, ipsilateral, contralateral, pregnancy, llamas

## INTRODUCCIÓN

La crianza de llamas es una actividad de gran importancia socioeconómica en las zonas altoandinas debido a que constituyen una fuente de carne y fibra; sin embargo, tienden a presentar una baja tasa de natalidad (50%) (Novoa y Leyva, 1996), la cual está asociada a la presentación de altas tasas de mortalidad embrionaria, similar a lo encontrado en alpacas (Fernández-Baca *et al.*, 1970b). Los factores causantes de la mortalidad embrionaria en los camélidos no son bien conocidos; sin embargo, podría ser ocasionada por desbalances hormonales, respuesta inmunológica, aberraciones cromosómicas y ambiente uterino poco favorable, entre otros factores (Hafez B y Hafez E, 2002).

Fernández-Baca *et al.* (1973) reportaron que el mayor porcentaje de gestación en alpacas se encontró en el cuerno uterino izquierdo. Asimismo, se encontró que el cuerno uterino izquierdo vacío puede causar luteólisis en el ovario derecho y terminar con

la preñez, siendo esa la razón que el embrión migre del cuerno derecho hacia el cuerno izquierdo para sobrevivir (Fernández-Baca *et al.*, 1979).

Los camélidos sudamericanos presentan una baja tasa reproductiva que podría mejorarse con técnicas de reproducción asistida. La transferencia de embriones es una alternativa tecnológica que puede contribuir a mejorar su productividad. Los reportes sobre transferencia embrionaria en camélidos son limitados y, por lo general, están basados en estudios realizados en otras especies. Arthur (1991) señaló el lugar de depósito del embrión como factor que influye sobre la supervivencia embrionaria en vacas, toda vez que los porcentajes de gestación fueron menores si los embriones no se dejaban en la luz del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo (CL). Por otro lado, el cuerno uterino izquierdo es el indicado como lugar de transferencia en camélidos sudamericanos (Taylor *et al.*, 2000; Aller, 2002; Huanca *et al.*, 2004). En base a estas informaciones, el presente trabajo plantea como objetivo determinar si existe influencia del cuerno usado para la trans-

ferencia embrionaria en relación a la ubicación del CL sobre la supervivencia embrionaria en llamas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de Estudio

El experimento se realizó en la Estación Experimental Quimsachata, del Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA), ubicada a 4200 msnm, entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas, provincias de Lampa y San Román, Puno, respectivamente. Esta es una zona agroecológica de puna seca durante los meses de enero y marzo.

### Animales

Se utilizaron 10 llamas como donadoras y 43 como receptoras, de 4 a 6 años de edad, y con historial reproductivo de haber tenido al menos un parto previo. Todos los animales fueron sometidos a las mismas condiciones de manejo productivo y alimentación a base de pastos naturales.

### Procedimiento Experimental

Se hizo una evaluación mediante ultrasonografía transrectal para determinar la presencia de un folículo  $\geq 7$  mm. A las donadoras se les aplicó 1 ml de LH (equivalente a 5 mg de LH porcina) vía im (Día 0: D0) para sincronizar la nueva onda folicular. La respuesta ovulatoria se evaluó en el D2 mediante la desaparición del folículo previamente observado. En el D3 se aplicó 1000 UI de eCG vía im a las que llegaron a ovular. En el D7 se les administró 1 ml de PGF<sub>2?</sub> (0.150 mg de Triaprost) vía im para producir la luteólisis de los CLs. En el D8 se realizó la monta.

En el D8 se seleccionó a las receptoras (con folículos  $\geq 7$  mm) y se les aplicó 1 ml de LH vía im para inducir ovulación. En el D10

se verificó la ovulación mediante ecografía. En el D15 se colectó los embriones mediante la técnica no quirúrgica de lavado uterino transcervical (Huanca *et al.*, 2004), utilizando un catéter Foley de 2 vías. Para el lavado de cada cuerno uterino se empleó 250 ml de solución salina bufferada con fosfato (PBS). Los embriones se evaluaron según la escala de clasificación embrionaria de la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (IETS, 2003).

De las 43 receptoras, 20 presentaron folículos  $\geq 7$  mm en el ovario derecho y 23 en el ovario izquierdo, siendo asignadas a los siguientes grupos:

- G1: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral
- G2: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral
- G3: (n = 15) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral
- G4: (n = 8) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral

La transferencia de embriones se hizo con el método no quirúrgico. Se empleó un embrión fresco de grado 1 (excelente calidad) por cada llama receptora. El día de la transferencia se midió el cuerpo lúteo de las receptoras mediante ecografía, para formar dos grupos según el tamaño del CL ( $\leq 10$  mm y  $> 10$  mm).

### Análisis de Datos

Se determinó si existe asociación entre la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia con la tasa de preñez en el día 30 post transferencia embrionaria; además, si existe asociación entre el tamaño y ubicación del CL, así como entre el tamaño del CL y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez. Los datos se analizaron mediante la tabla de contingencia del Chi Cuadrado, a través del paquete estadístico STATA versión 9.2 (Stadistic Data Analysis, 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de preñez al día 30 post transferencia embrionaria fue de 60% (6/10), 30% (3/10), 75% (12/15) y 25% (2/8) en los grupos G1, G2, G3 y G4, respectivamente, habiendo diferencia estadística entre G3 con G2 y G4 ( $p < 0.05$ ). Estos resultados concuerdan con Görlach (1999), quien demostró que la transferencia embrionaria ipsilateral en bovinos era la más adecuada. Estos resultados sugieren que la localización del embrión ejercería un efecto antiluteolítico favorable para su supervivencia.

La mayor tasa de supervivencia embrionaria en el cuerno uterino izquierdo en relación a la ubicación ipsilateral del cuerpo lúteo podría deberse a que el cuerno uterino izquierdo presenta condiciones más favorables para el desarrollo embrionario (Sumar y Leyva, 1979). Por otro lado, Fernández Baca *et al.* (1979) indican que en la alpaca existe actividad luteolítica local del cuerno derecho, así como local y sistémica en el cuerno izquierdo, lo cual puede explicar la menor tasa de preñez registrada en el cuerno uterino derecho con cuerpo lúteo en el ovario izquierdo (G4). Asimismo, la baja tasa de preñez presentada al realizar la transferencia contralateral (G2 y G4) podría atribuirse a una débil señal antiluteolítica del embrión ocasionando una secreción insuficiente de progesterona y regresión prematura del cuerpo lúteo, tal como se reporta en la gata (Arthur, 1991; Feldman, 2000), la coneja (Gadsby y Keyes, 1984) y la vaca (Hansen, 2002).

Los resultados de preñez son similares a trabajos previos de los autores, donde se obtuvo 71.8% con tratamientos superovulatorios similares (Huanca *et al.*, 2005). Por otro lado, Aller (2002) realizó la transferencia de embriones frescos solamente en el cuerno izquierdo en llamas receptoras encontrando una tasa de preñez de 33%, aunque no indica la ubicación del CL.

El tamaño del CL a los 7 días de la inducción de la ovulación en las llamas receptoras fue de  $11.2 \pm 1.9$  mm. La distribución de los animales en base a CLs mayores o menores a 10 mm se hizo en base a los trabajos de Adams *et al.* (1991), quienes señalaron que el diámetro máximo del cuerpo lúteo en llamas el día 6 fue de 12.8 mm y que el diámetro luteal permanece por encima de 10 mm después del día 10 en llamas preñadas. Asimismo, Fernández Baca *et al.* (1970a) indicaron que el CL alcanza su máximo desarrollo el día 8, y el embrión prolonga la vida funcional del CL sin afectar marcadamente su tamaño, masa total o rango de secreción, y Bourke *et al.* (1995) reportaron que los CLs alcanzaron un tamaño máximo de 12 mm en el día 8 luego de la administración de eCG. Sin embargo, en el presente estudio, se llegó a registrar un CL de 16 mm. Esta variación en el tamaño del cuerpo lúteo con relación a estudios anteriores probablemente se debería al uso de la evaluación ecográfica.

La organización estructural y funcional del cuerpo lúteo se da por acción de la LH (Hafez B y Hafez E, 2002). Un mayor estímulo en la hipófisis se refleja en una mayor liberación de LH, reforzando el establecimiento y desarrollo del CL para una eficiente secreción de progesterona (England, 1969; Leyva y García, 1999).

La asociación entre el tamaño del CL y su localización en el ovario derecho o izquierdo con relación a las tasas de preñez no fue estadísticamente significativa (Cuadro 2), a diferencia de lo sugerido por Fernández Baca *et al.* (1970b) que el CL en el ovario derecho regresiona más rápido, sugiriendo su influencia sobre la supervivencia embrionaria. Por otro lado, estudios en bovinos coinciden en señalar que la medición del CL y la concentración de progesterona plasmática de las receptoras al momento de la transferencia embrionaria están relacionadas positivamente, aunque sin observar diferencias significativas en preñez post transferencia embrionaria (Niemann *et al.*, 1985; Spell *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2003).

Cuadro 1. Asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo con el ovario en que se encuentra y el cuerno uterino donde se hizo la transferencia embrionaria en términos de tasa de preñez

		Tamaño del cuerpo lúteo			
		≤10 mm		>10mm	
		Total (n)	Preñez (%)	Total (n)	Preñez (%)
Ovario					
	Derecho	8	25.0	12	58.3
	Izquierdo	8	75	15	53.3
Cuerno uterino					
	Derecho	5	40.0	13	46.2
	Izquierdo	11	54.6	14	64.3

La asociación entre el tamaño del CL y la deposición del embrión en el cuerno uterino derecho o izquierdo con relación a las tasas de preñez tampoco fue estadísticamente significativa (Cuadro 2). En dromedarios tampoco se ha encontrado un efecto similar, probablemente a que el embrión es altamente móvil y puede migrar fácilmente al cuerno uterino izquierdo (Skidmore, 2005); asimismo Fernández Baca *et al.* (1970b, 1973) observaron en alpacas una migración de embriones, mayormente hacia el cuerno izquierdo. Esto podría estar relacionado con la mayor respuesta contráctil del miometrio en los cuernos uterinos de alpacas con respecto al cuerpo del útero, ya que en esas áreas se podrían localizar mayor número de receptores de PGF<sub>27</sub>, ayudando al embrión a movilizarse y acomodarse apropiadamente para su implantación (Pajuelo, 2000), y al posterior proceso de gestación en el cuerno uterino que ofrece mejores condiciones para el desarrollo embrionario.

#### CONCLUSIONES

- ? La tasa de preñez fue significativamente mayor cuando el embrión se depositó

ipsilateral a la posición del cuerpo lúteo en el ovario izquierdo.

- ? No existe asociación entre la ubicación y tamaño del cuerpo lúteo, ni el cuerno donde se deposita el embrión con la tasa de preñez a los 30 días post transferencia embrionaria en llamas.

#### LITERATURA CITADA

1. **Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. 1991.** Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim Reprod Sci* 24: 127-138.
2. **Aller J, Rebuffi G, Cancino A, Alberio E. 2002.** Successful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. *Anim Reprod Sci* 73: 121-127.
3. **Arthur G. 1991.** Reproducción y obstetricia veterinaria. Madrid: Ed Interamericana. 549 p.
4. **Bourke DA, Kyle CE, McEvoy TG, Young P, Adam CL. 1995.** Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology* 44: 255-268.

5. **England BG, Foote WC, Matthews DH, Cardozo A, Riera S. 1969.** Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *J Endocr* 45: 505-513.
6. **Feldman E. 2000.** Endocrinología y reproducción en perros y gatos. 2ª ed. México DF: McGraw Hill. 825 p.
7. **Fernández Baca S, Hansel W, Novoa C. 1970a.** Corpus luteum function in the alpaca. *Biol Reprod* 3: 252-261.
8. **Fernández Baca S, Hansel W, Novoa C. 1970b.** Embryonic mortality in the alpaca. *Biol Reprod* 3: 243-251.
9. **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. *Rev Inv Pec, IVITA* 2(2): 131-135.
10. **Fernández Baca S, Hansel W, Saatman R, Sumar J, Novoa C. 1979.** Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca. *Biol Reprod* 20: 586-595.
11. **Gadsby JE, Keyes PL. 1984.** Control of corpus luteum function in the pregnant rabbit: role of the placenta ("placental luteotropin") in regulating responsiveness of corpora lutea to estrogen. *Biol Reprod* 31: 16-24.
12. **Görlach A. 1999.** Transferencia de embriones en el ganado vacuno. Zaragoza: Acribia. 144 p.
13. **Hafez B, Hafez E. 2002.** Anatomía del aparato reproductor de la hembra. En: Hafez E, Hafez B (eds). Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. Cap II. 7ª ed. México DF: McGraw Hill. p 13-29.
14. **Hansen PJ. 2002.** Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *J Anim Sci* 80(Suppl 2): E33-E44.
15. **Huanca W, Huanca T, Ratto M, Cordero A, Cardenas O, Apaza N. 2004.** Transferencia de embriones. *Rev Estación Exp ILLPA, Puno* 3(8): 2-5.
16. **Huanca W, Ratto M, Cordero A, Santiani A, Huanca T, Adams G. 2005.** Evaluación de un tratamiento de superovulación en la respuesta ovárica y tasa de preñez en llamas. En: Res XIX Reunión ALPA. Tampico, México: Asociación Latinamericana de Producción Animal.
17. **[IETS] International Embryo Transfer. 1998.** Manual of the International Embryo Transfer Society. Stringfellow DA., Seidel SM (eds). USA: Ed. Savoy. 170 p.
18. **Leyva V, García W. 1999.** Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. En: Res II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco, Perú.
19. **Moreno O, Cutaia L, Tribulo R, Caccia M, Videla Dorna I, Aba MA, Bo GA. 2003.** Concentración plasmática de progesterona, área del cuerpo lúteo e índices de preñez en vacas receptoras de embriones. En: V Simposio Inter Reproducción Animal. Córdoba, Argentina: IRAC.
20. **Niemann H, Sacher B, Elsaesser F. 1985.** Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non surgical transfer of frozen / thawed bovine embryos. *Theriogenology* 23: 631-639.
21. **Novoa C, Leyva V. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. *Publ Cien IVITA* 26: 30 p.
22. **Pajuelo G. 2000.** Actividad *in vitro* de la prostaglandina F<sub>2γ</sub> en el miometrio de alpacas (*Lama pacos*) adultas no gestantes. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 36 p.
23. **Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC. 2001.** Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 56: 287-297.
24. **Skidmore L. 2000.** Embryo transfer in the dromedary camel (*Camel dromedarius*). In: Skidmore L, Adams GP (eds). Recent advances in camelid reproduction. Ithaca NY: International Veterinary Information Service.

25. **Skidmore JA. 2005.** Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim Reprod* 2: 161-171.
26. **Stata Corp LP. 2007.** Intercooled Stata 9.2 (Statistic Data Analysis) for Windows. Texas, USA: Stata.
27. **Taylor S, Taylor PJ, James AN, Godke RA. 2000.** Successful commercial embryo transfer in the llama (*Lama glama*). *Theriogenology* 53: 344 (Abstr).