

## Comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en ondas sucesivas de llamas (*Lama glama*)

### Transvaginal and transrectal ultrasonographic comparison of follicular dynamics in successive waves of llamas (*Lama glama*)

Uri Perez G.<sup>1,4</sup>, David Pari P.<sup>1</sup>, Fidel Gutierrez Y.<sup>1</sup>, Julio Málaga A.<sup>2</sup>,  
Natalio Luque M.<sup>3</sup>, Rolando Rojas E.<sup>3</sup>, Manuel Pérez D.<sup>1</sup>

#### RESUMEN

La dinámica folicular ovárica monitoreada por vía transrectal (TR) y transvaginal (TV) en ondas sucesivas en llamas fue estudiada en 10 llamas con más de 4 años, multíparas, sin cría, estado corporal de 3.0, durante un periodo de 90 días en la época reproductiva. Se utilizó el ecógrafo Sonostar SS8® con un transductor lineal para el examen transrectal y transductor microconvexo endocavitario para el examen transvaginal, ambos con frecuencia de 6.5 MHz. El intervalo inter-onda fue de  $20 \pm 4.4$  y  $22.5 \pm 5.3$  por vía TR y TV, respectivamente; el número de folículos por cohorte fue  $5.21 \pm 0.92$  y  $6.38 \pm 1.26$  para TR y TV, respectivamente ( $p=0.0011$ ); el diámetro máximo de folículos fue  $12.49 \pm 3.57$  mm para TR y  $13.56 \pm 3.91$  mm para TV; la tasa de crecimiento fue de  $0.70 \pm 0.35$  y  $0.67 \pm 0.32$  mm/día para TR y TV, respectivamente. La ecuación de regresión para relación del diámetro máximo folicular y duración de onda folicular para la vía TR fue de  $y=0.89766x+6.5554$  ( $R^2=0.423$ ) y para la vía TV de  $y=0.8466x+10.184$  ( $R^2=0.479$ ). La duración de las fases foliculares fue similar entre ambas técnicas con excepción de la fase de dominancia ( $10.2 \pm 3.19$  días para TR y  $8.67 \pm 2.46$  para TV,  $p=0.0418$ ). La relación entre el diámetro folicular y número de folículos detectados presentó una correlación negativa baja ( $R^2=-0.0827$  para TV y  $R^2=-0.0876$  para TR). En conclusión, el transductor endocavitario transvaginal permite determinar con mayor precisión las características de dinámica folicular en llamas en sus fases de reclutamiento, dominancia y regresión con sobreposición de ondas foliculares como característica importante.

**Palabras clave:** fase folicular, llama, transrectal, ultrasonografía

<sup>1</sup> Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano de Puno, Perú

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Producción La Raya, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú

<sup>3</sup> Laboratorio de Sanidad Animal, Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú

<sup>4</sup> E-mail: [harguer19@hotmail.com](mailto:harguer19@hotmail.com); [uperez@unap.edu.pe](mailto:uperez@unap.edu.pe)

Recibido: 13 de mayo de 2020

Aceptado para publicación: 17 de noviembre de 2020

Publicado: 23 de febrero de 2021

## ABSTRACT

The ovarian follicular dynamics monitored by transrectal (TR) and transvaginal (TV) routes in successive waves was studied in 10 llamas older than 4 years, multiparous, without calves at foot, body condition of 3.0, during a period of 90 days in the reproductive season. The Sonostar SS8® ultrasound equipment was used with a linear transducer for transrectal examination and endocavitary microconvex transducer for transvaginal examination, both with a frequency of 6.5 MHz. The inter-wave interval was  $20 \pm 4.4$  and  $22.5 \pm 5.3$  via TR and TV, respectively; the number of follicles per cohort was  $5.21 \pm 0.92$  and  $6.38 \pm 1.26$  for TR and TV, respectively ( $p=0.0011$ ); the maximum diameter of follicles was  $12.49 \pm 3.57$  mm for TR and  $13.56 \pm 3.91$  mm for TV; the growth rate was  $0.70 \pm 0.35$  and  $0.67 \pm 0.32$  mm/day for TR and TV, respectively. The regression equation for the ratio of the maximum follicular diameter and duration of follicular wave for the TR route was  $y=0.89766x+6.5554$  ( $R^2=0.423$ ) and for the TV route  $y=0.8466x+10.184$  ( $R^2=0.479$ ). The duration of the follicular phases was similar between both techniques except for the dominance phase ( $10.2 \pm 3.19$  days for TR and  $8.67 \pm 2.46$  for TV,  $p=0.0418$ ). The relationship between the follicular diameter and the number of follicles detected showed a low negative correlation ( $R^2=-0.0827$  for TV and  $R^2=-0.0876$  for TR). In conclusion, the transvaginal endocavitary transducer makes it possible to determine with greater precision the characteristics of llama follicular dynamics in their recruitment, dominance and regression phases with overlapping of follicular waves as an important characteristic.

**Key words:** follicular phase, llama, transrectal, ultrasound

## INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos se caracterizan por tener una actividad ovárica que ocurre en ondas de crecimiento y regresión folicular; es decir, la onda folicular presenta fases de emergencia, selección, crecimiento, estática y regresión. Se reportan periodos variables de la onda folicular en llamas que van desde 12 hasta 24 días (Tibary, 2017), lo cual es un indicio de la inconsistencia de la información sobre la dinámica folicular y crea la necesidad de realizar trabajos de investigación para consolidar y utilizar el conocimiento generado en la aplicación de biotecnologías reproductivas (Adams *et al.*, 1990; Bravo *et al.*, 1990; Cancino *et al.*, 2011; Miragaya *et al.*, 2004; Vaughan *et al.*, 2004).

Las biotecnologías reproductivas como inseminación artificial, transferencia de embriones y aspiración folicular para la producción de embriones *in vitro* requieren de co-

nocimientos profundos de dinámica folicular y factores que rigen la actividad ovárica. Estudios iniciales sobre actividad ovárica en camélidos se basaban en la observación conductual y análisis hormonal. Actualmente el uso de la ultrasonografía reproductiva permite caracterizar *in situ* la dinámica folicular, ovulación y monitoreo de respuestas a tratamientos hormonales en camélidos sudamericanos (Chaves *et al.*, 2002; Miragaya *et al.*, 2004; Tibary, 2017).

Los transductores de uso común en ultrasonografía reproductiva en humanos como en otras especies domésticas son los lineales (transrectal) y microconvexos endocavitarios (transvaginal). Ambos tienen la disposición lineal de los cristales piezoeléctricos; sin embargo, los microconvexos se caracterizan por presentar un campo de visión más amplia, además que generan imágenes de mayor calidad, utilizados principalmente para la aspiración folicular en vacunos y equinos. Esta característica de ultra-

sonografía transvaginal permitiría evaluar eficientemente los fenómenos y comportamientos de la dinámica folicular en llamas (Berland *et al.*, 2011; Bols, 2008; Trasorras *et al.*, 2013; Wachsberg, 2003). Por este motivo, el objetivo del estudio fue la comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en llamas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ámbito de Estudio y Animales

La investigación se realizó durante la época reproductiva en las instalaciones del Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, en Puno, Perú. Se utilizaron 10 llamas hembras de 4 años, multíparas, sin cría y con estado corporal de 3.0 (Australian Alpaca Association, 2008). Los animales se alimentaban con pastos naturales, agua *ad libitum*, y se les suplementaba con heno de avena.

### Evaluación Ultrasonográfica

La sujeción y preparación de las llamas se hizo siguiendo las recomendaciones de Hanco *et al.* (2015). La zona perineal y órganos genitales externos se lavaron e higienizaron con agua y jabón carbólico y solución de gluconato de clorhexidina 2%. Se introdujo la mano enguantada en el recto y se extrajo las heces para facilitar la evaluación ultrasonográfica.

La evaluación ultrasonográfica se hizo con un ecógrafo Sonostar SS8® (Sonostar Technologies, China) equipado con un transductor lineal rectal E7140 multifrecuencia para el examen transrectal y transductor microconvexo endocavitario V6S9 multifrecuencia para el examen transvaginal, ambos programados a la frecuencia de 6.5 MHz. Se hizo el examen transrectal y transvaginal de ambos ovarios en dos planos para cada animal en días alternos

por un periodo de 90 días. Las imágenes se analizaron en modo 4B y almacenaron en forma digital para su posterior evaluación (Parraguez *et al.*, 2010; Berland *et al.*, 2011; Cancino *et al.*, 2011; Hanco *et al.*, 2015).

### Morfología y Dinámica Folicular

La evaluación de las características morfométricas se hizo siguiendo las recomendaciones de la literatura científica (Bravo *et al.*, 1990; Cavilla *et al.*, 2013; Hanco *et al.*, 2015) e incluyeron los siguientes parámetros:

- Número de folículos por cohorte: Se contabilizaron al momento que existía en uno de los ovarios folículos con tamaños entre 2 y 3 mm. Folículos de este tamaño indican, además, el inicio de la fase de reclutamiento y se considera como el día 0 o inicio de la onda folicular.
- Intervalo inter-onda: Número de días entre el momento en que se diferencian los folículos reclutados y uno de ellos (folículo dominante – FD) alcanza 6.5 mm aproximadamente y termina cuando el FD disminuye su diámetro hasta los 5-6 mm.
- Diámetro máximo del folículo: El diámetro máximo del FD alcanzado durante la onda folicular (en mm).
- Tasa de crecimiento: Se consideró como la diferencia del diámetro máximo folicular del FD en una onda folicular menos el tamaño del folículo al momento de diferenciarse (folículo seleccionado) del grupo de folículos reclutados entre el número de días que duró el acontecimiento. Se expresa en mm/día.
- Fases de la dinámica folicular: Se inicia con el desarrollo sincrónico de un número determinado de folículos pequeños de 2-3 mm (fase de reclutamiento), continúa cuando uno de ellos aumenta su tamaño de forma diferenciada (fase de desviación folicular) y se hace dominante aumentando su diámetro (fase de dominancia), momento en que se hace el registro para su evaluación. Luego, el folí-

culo comienza una fase de regresión donde disminuye su diámetro hasta alcanzar aproximadamente los 6.5 mm (fase de regresión) (Bravo *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002; Manjunatha *et al.*, 2012).

### Relación entre el Diámetro Máximo Folicular y la Duración de la Onda Folicular

La relación entre el diámetro máximo (mm) folicular y la duración de la onda folicular (días) fue evaluada mediante una ecuación de regresión, siendo la variable predictora o independiente el diámetro máximo folicular y la variable respuesta o dependiente la duración de la onda folicular.

### Análisis Estadístico

Las características morfométricas foliculares y fases de la dinámica folicular fueron evaluadas mediante estadística descriptiva (promedio, desviación estándar) según las técnicas de ultrasonografía transrectal y transvaginal mediante la prueba de t Student. La relación del diámetro máximo folicular y duración de onda folicular para ambas técnicas fue evaluada mediante regresión lineal ( $y=a+bx$ ). La relación con número de folículos detectados mediante las técnicas transrectal y transvaginal fue sometida a una correlación de Pearson (Cavilla *et al.*, 2013;

Hanco *et al.*, 2015). Los análisis estadísticos fueron procesados mediante el programa estadístico R 3.5.1 (R Core, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características Morfométricas Foliculares

Las características morfométricas de intervalo inter-onda (días), diámetro máximo del folículo (mm) y tasa de crecimiento (mm/día) fueron similares tras la evaluación ultrasonográfica vía transrectal y transvaginal. Sin embargo, se registró un mayor el número de folículos/cohorte (folículos reclutados) al realizar la ecografía vía transvaginal ( $p<0.01$ ).

Los patrones del desarrollo folicular en llamas en ausencia de un estímulo de ovulación se caracterizan por ser continuas con ondas sobrepuestas (*overlapping*) entre ellas, con duraciones de  $20 \pm 4.4$  días, determinado por vía transrectal y de  $22.5 \pm 5.3$  días por vía transvaginal (intervalo inter-onda), resultados diferentes a los reportados por Bravo *et al.* (1990) y similares con la mayoría de los estudios reportados en llamas (Adams *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002; Cavilla *et al.*, 2013). Estas ondas corresponden a la renovación continua en el desarrollo de folículos, tal y como ha sido reportado en

Cuadro 1. Características morfométricas foliculares determinadas mediante ultrasonografía transrectal y transvaginal en 10 llamas

	Ultrasonografía		p valor
	Transrectal	Transvaginal	
Intervalo inter-onda (días)	$20 \pm 4.44$	$22.5 \pm 5.29$	0.5271
Nro. de folículos/cohorte	$5.21 \pm 0.92$	$6.38 \pm 1.26$	0.0011
Diámetro máximo del folículo (mm)	$12.49 \pm 3.57$	$13.56 \pm 3.91$	0.4327
Tasa de crecimiento (mm/día)	$0.70 \pm 0.35$	$0.67 \pm 0.32$	0.4439

estudios en alpacas, vicuñas y guanacos (Vaughan, 2001; Miragaya *et al.*, 2004; Riveros *et al.*, 2010; Hanco *et al.*, 2015). La variabilidad en la duración del intervalo inter-onda en las llamas evaluadas se debe a que mientras un FD está en fase de regresión, otro grupo de folículos está desarrollando para convertirse en el nuevo FD. Este fenómeno provoca que las hembras sean receptivas la mayor parte del tiempo (Bravo *et al.*, 1990; Cavilla *et al.*, 2013; Vaughan y Tibary, 2006).

La onda folicular se inicia con el desarrollo de folículos reclutados. En este caso, el N° de folículos/cohorte fue de  $5.21 \pm 0.92$  y  $6.38 \pm 1.26$  (Cuadro 1) para las evaluaciones vía transrectal y transvaginal respectivamente ( $p=0.0011$ ). Mediante el uso del transductor endocavitario transvaginal se pudo observar un mayor número de folículos dado su mayor área de contacto, imágenes más amplias y de mayor calidad (Tenório Filho *et al.*, 2007); resultados diferentes a otros reportes que indican entre 8 a 10 folículos/cohorte de 2 a 3 mm en llamas y alpacas (Adams *et al.*, 1990; Vaughan *et al.*, 2004). El desarrollo de folículos pequeños está asociado a un aumento y disminución inmediata de FSH, en tanto que el número de folículos reclutados depende del tamaño de la reserva ovárica, por lo menos en el bovino (Adams *et al.*, 1992; Cushman *et al.*, 1998). Sin embargo, no se dispone de información precisa sobre la secreción de gonadotropinas durante las ondas foliculares en camélidos sudamericanos.

El diámetro máximo del folículo fue de  $12.49 \pm 3.57$  mm para la ecografía transrectal y de  $13.56 \pm 3.91$  mm para ecografía transvaginal, sin diferencias significativas entre estos procedimientos (Cuadro 1). Los valores obtenidos fueron ligeramente superiores a los obtenidos en otros estudios (Bravo *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002; Cavilla *et al.*, 2013) y similar al reportado por Adams *et al.* (1990) realizados por ecografía transrectal. Algunas características que me-

recen resaltarse son la alternancia del funcionamiento ovárico, siendo de 52.6% para el ovario derecho y 47.4% para el izquierdo; la presencia de folículos de mayor tamaño ( $>20$  mm) con relación al total de folículos dominantes fue de 10.5%, y la sobreposición de ondas foliculares estuvo presente en 36.8% del total de ondas evaluadas. Asimismo, el 10.5% de las ondas tuvieron un comportamiento de codominancia (crecimiento de dos folículos diferenciados de los demás al mismo tiempo), característica también reportada en otros estudios en camélidos (Bravo *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002; Vaughan, 2011; Cavilla *et al.*, 2013; Hanco *et al.*, 2015).

El diámetro máximo del folículo sigue un proceso de crecimiento (fase de dominancia) que se relaciona directamente con el incremento de concentraciones de  $17\beta$ -estradiol (Bravo *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002). Sin embargo, otros estudios indican un periodo de transición en que la relación entre el desarrollo folicular y la producción de estrógenos es variable (Cavilla *et al.*, 2013). Con base a los resultados del presente estudio, se podría relacionar esta variabilidad de relación al porcentaje significativo de las ondas sobrepuestas.

La tasa de crecimiento fue de  $0.70 \pm 0.35$  mm/día y  $0.67 \pm 0.32$  mm/día para las evaluaciones transrectal y transvaginal, respectivamente (Cuadro 1) y sin diferencia estadística entre ellas. Estos resultados concuerdan con los valores reportados por Adams *et al.* (1990) y Cavilla *et al.* (2013). Este crecimiento se inició con la desviación del futuro folículo dominante (FD), posiblemente a causa del aumento del estradiol y receptores de LH a nivel de la capa de la granulosa, juntamente con el mantenimiento del factor de crecimiento de insulina tipo I (IGF1) (Ginther *et al.*, 2017); sin embargo, no existe información sobre los patrones generales de la secreción de gonadotropinas (FSH y LH) durante las ondas foliculares de camélidos sudamericanos y camellos (Manjunatha *et al.*, 2012).

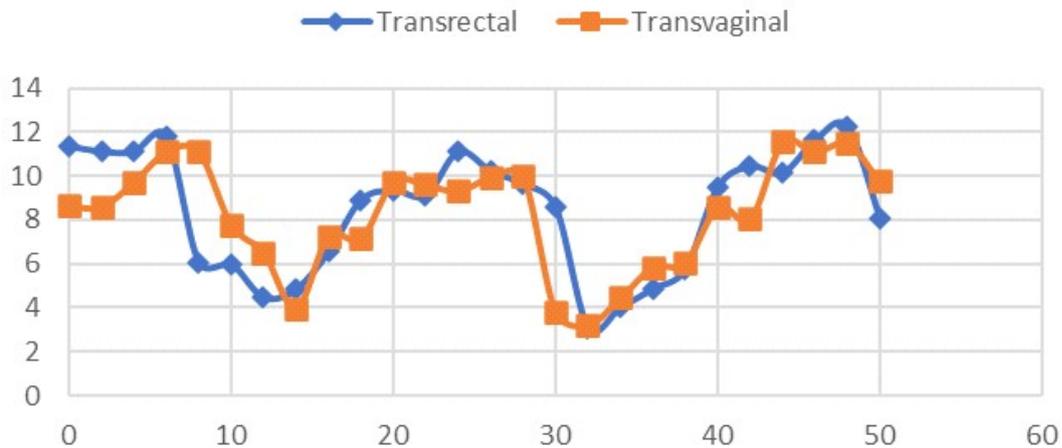


Figura 1. Ondas foliculares en llamas (n=10) con superposición evaluadas mediante ecografía transrectal y transvaginal

### Relación del Diámetro Máximo Folicular y Duración de la Onda Folicular

La relación entre el diámetro máximo (mm) folicular y la duración de la onda folicular (días) fue evaluada mediante una ecuación de regresión, siendo para la evaluación transrectal  $y = 0.89766x + 6.5554$  ( $R^2=0.423$ ) y para la transvaginal de  $y = 0.8466x + 10.184$  ( $R^2=0.479$ ), observándose en ambos casos una pendiente positiva, por lo que al aumentar el diámetro folicular aumentará la duración de la onda folicular. Sin embargo, los datos ultrasonográficos transvaginales muestran una  $R^2=0.479$  mayor en comparación al  $R^2=0.423$  para la vía transrectal, indicando que los datos se alinean con superioridad cuando se realiza la evaluación transvaginal. Es posible, que, al igual que en vacunos, los folículos de mayor tamaño suprimen la liberación de FSH por mayor tiempo, causando un intervalo inter-onda más largo, además que el FD secreta inhibina, que se caracteriza por la supresión en el desarrollo de folículos pequeños provenientes de una nueva onda folicular (Ginther *et al.*, 1996; Ginther, 2016; Tibary, 2018).

### Fases de Dinámica Folicular

En el Cuadro 2 y Figura 1 se presentan la duración de las fases de la dinámica folicular en las 10 llamas del estudio. Se observa una concordancia en la duración de las fases de reclutamiento y regresión al utilizar las vías transrectal y transvaginal, mientras que la fase de dominancia tuvo una duración de casi dos días mayor al ser evaluado vía transrectal ( $p<0.05$ ).

Esta diferencia se ha debido probablemente a que la evaluación con transductor endocavitario transvaginal permite observar con mayor detalle las características de crecimiento, estática e inicio de la regresión, debido a que estos transductores necesitan de un área pequeña de evaluación y por su forma microconvexa (forma triangular de la imagen) permite ampliar el campo de exploración, mientras que el transductor lineal transrectal tiene los cristales distribuidos en una superficie plana produciendo un campo de exploración rectangular, indicado para superficies más grandes (DesCoteaux *et al.*, 2010), tal como se observa en la Figura 2. Resulta-

Cuadro 2. Comparación ultrasonográfica transrectal y transvaginal de la duración de fases de la dinámica folicular en llamas.

Fase	Ultrasonografía		p valor
	Transrectal	Transvaginal	
Reclutamiento (días)	7.2 ± 1.65	7.07 ± 1.67	0.828
Dominancia (días)	10.2 ± 3.19	8.67 ± 2.46	0.0418
Regresión (días)	8.0 ± 2.0	8.89 ± 2.67	0.5291

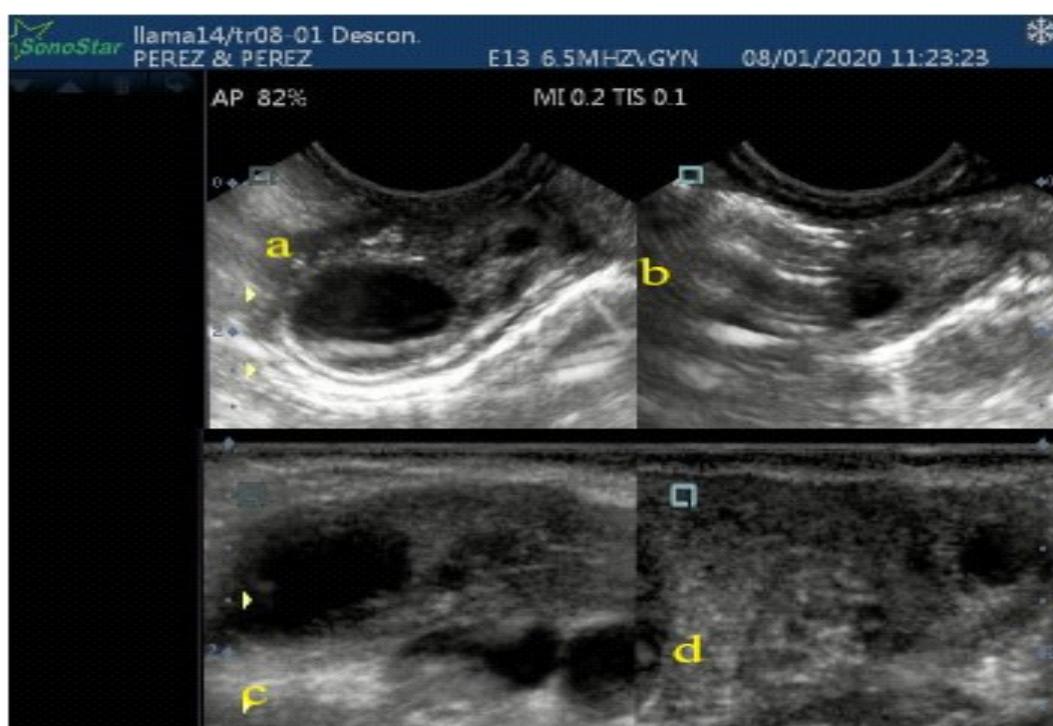


Figura 2. Imágenes ultrasonográficas de ovarios de llama evaluadas vía transvaginal (TV) y transrectal (TR) (a: ovario derecho TV; b: ovario izquierdo TV; c: ovario derecho TR; d: ovario izquierdo TR)

dos similares en la duración de las fases de la dinámica folicular han sido reportados en llamas con evaluaciones transvaginal y transrectal (Chaves *et al.*, 2002; Cancino *et al.*, 2011) e inferiores (Bravo *et al.*, 1990).

#### Relación entre Diámetro Folicular y Número de Folículos

La relación entre el diámetro del FD y el número de folículos detectados por las téc-

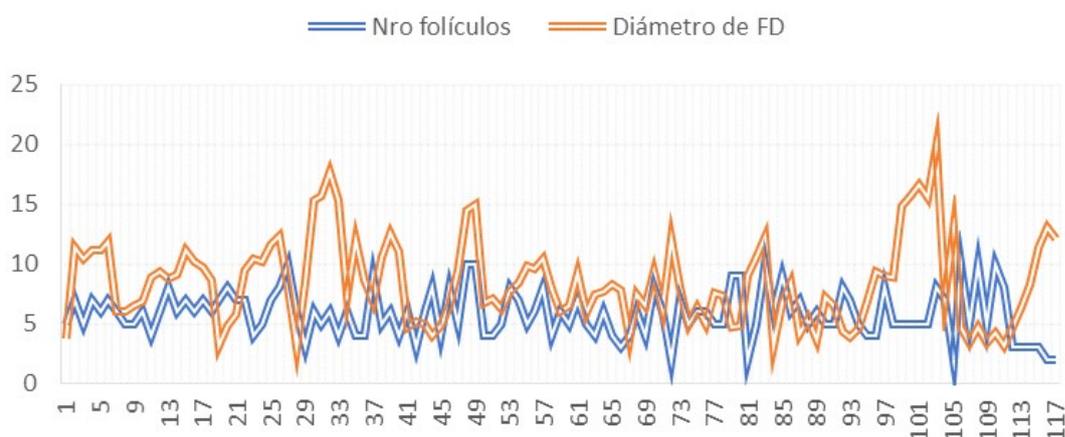


Figura 3. Relación inversa entre el número de folículos y diámetro del folículo dominante (FD) en llamas (n=10)

nicas transvaginal y transrectal muestran una correlación negativa baja ( $R^2=-0.0827$  y  $R^2=-0.0876$ , respectivamente), determinando que no existe una relación entre la presencia de mayor número de folículos detectados en ausencia de un FD o viceversa (Figura 3).

La relación inversa determinada en el estudio es similar a lo reportado en guanacos (Riveros *et al.*, 2010), vicuñas (Miragaya *et al.*, 2004) y camellos (Manjunatha *et al.*, 2012). Estas similitudes respaldan la hipótesis de que el FD suprime, en cierta medida, el crecimiento de folículos subordinados en la onda existente (Manjunatha *et al.*, 2012). Sin embargo, es necesario manifestar que los coeficientes de correlación que se obtuvieron fueron de baja intensidad, debido probablemente a la presencia de elevado número de ondas sobrepuestas que se desarrollan antes de que el FD termine su dominio.

Se puede concluir que la evaluación ultrasonográfica de los ovarios con transductor endocavitario transvaginal permite determinar con mayor precisión las características de la dinámica folicular en llamas en sus fases de reclutamiento, dominancia y regresión con la sobreposición de ondas foliculares como característica importante.

### Agradecimientos

Esta investigación fue subvencionada por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) - CONCYTEC; parte del proyecto de investigación básica «Monitoreo y control de la actividad folicular y su aplicación en la producción de embriones *in vitro* en camélidos sudamericanos en el Altiplano Peruano» mediante el convenio 000399-2019-FONDECYT-DE y la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

### LITERATURA CITADA

1. Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ. 1992. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J Reprod Fertil* 96: 627-640. doi: 10.1530/jrf.0.0960627
2. Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J Reprod Fertil*. 90: 535-545. doi: 10.1530/jrf.0.0900535

3. **Australian Alpaca Association. 2008.** Alpaca fact body condition score (BCS) of alpacas. Fact further reading. 4 p.
4. **Berland MA, von Baer A, Ruiz J, Parraguez VH, Morales P, Adams GP, Ratto MH. 2011.** *In vitro* fertilization and development of cumulus oocytes complexes collected by ultrasound-guided follicle aspiration in superstimulated llamas. *Theriogenology* 75: 1482-1488. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.11.047
5. **Bols P. 2008.** Punción folicular (ovum pick-up) en la vaca. In: *Biotecnología de la reproducción*. 2° ed. Mar del Plata, Argentina: Ed ReproBiotec. p 289-308.
6. **Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH, Lasley BL. 1990.** Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biol Reprod* 43:579-85. doi: 10.1095/biolreprod43.4.579
7. **Cancino AK, Aller JF, Rebuffi G, Alberio R. 2011.** Control de la dinámica folicular ovárica en llamas (*Lama glama*) en posparto temprano. *Arch Zootec* 60: 1009-1020. doi: 10.4321/S0004-05922011000400017
8. **Cavilla MV, Bianchi CP, Maistruarena C, Aba MA. 2013.** Ultrasonographic and endocrine characterization of follicular waves in llamas with a special reference to the overlapping phenomenon during successive waves. *Reprod Domest Anim* 48: 923-930. doi: 10.1111/rda.12187
9. **Chaves MG, Aba M, Agüero A, Egey J, Berestín V, Rutter B. 2002.** Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Anim Reprod Sci* 69: 37-46. doi: 10.1016/S0378-4320(01)00173-7
10. **Cushman RA, Hedgpeth VS, Echternkamp SE, Britt JH. 2000.** Evaluation of numbers of microscopic and macroscopic follicles in cattle selected for twinning. *J Anim Sci* 78: 1564-1567. doi: 10.2527/2000.7861564x
11. **DesCoteaux L, Gnemmi G, Colloton J. 2010.** *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. Blackwell Publishing. 244 p.
12. **Ginther OJ. 2016.** The theory of follicle selection in cattle. *Domest Anim Endocrin* 57: 85-99. doi: 10.1016/j.domaniend.2016.06.002
13. **Ginther OJ, Domingues RR, Siddiqui MAR, Dangudubiyam SV. 2017.** Blood flow and echotextural differences between the future dominant and subordinate follicles before the beginning of diameter deviation in heifers. *Theriogenology* 100:42-49. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.05.028
14. **Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. 1996.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod* 55: 1187-1194. doi: 10.1095/biolreprod55.6.1187
15. **Hanco EG, Llacsá J, Quispe YM, Pérez MG, Luque N, Perez U. 2015.** Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (*Vicugna pacos*). *Spermova* 5: 51-54. doi: 10.18548/aspe/0002.11
16. **Manjunatha BM, Pratap N, Al-Bulushi S, Hago BE. 2012.** Characterization of ovarian follicular dynamics in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology* 78: 965-973. doi: 10.1016/j.theriogenology.-2012.05.011
17. **Miragaya MH, Aba MA, Capdevielle EF, Ferrer MS, Chaves MG, Rutter B, Agüero A. 2004.** Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuña (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology* 61: 663-671. doi: 10.1016/S0093-691X(03)-00238-3
18. **Parraguez VH, Adams G, Ratto M, Raggi L. 2010.** *Camelids*. In: *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. Blackwell Publishing. p 211-223.
19. **R Core T. 2018.** R: a language and environment for statistical computing R. R Foundation for Statistical Computing. <http://r-project.org/>

20. **Riveros JL, Schuler G, Bonacic C, Hoffmann B, Chaves MG, Urquieta B. 2010.** Ovarian follicular dynamics and hormonal secretory profiles in guanacos (*Lama guanicoe*). *Anim Reprod Sci* 119: 63-67. doi: 10.1016/j.anireprosci.2009.11.005
21. **Tenório Filho F, Santos MHB, Carrazoni PG, Lopes FF, Neves JP, Bartolomeu CC, Lima PF, et al. 2007.** Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. *Small Ruminant Res* 72: 51-56. doi: 10.1016/j.smallrumres.2006.08.007
22. **Tibary A. 2017.** Monitoring and controlling follicular activity in camelids. *Theriogenology* 109: 22.30. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.12.011
23. **Trasorras V, Giuliano S, Miragaya M. 2013.** *In vitro* production of embryos in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 136: 187-193. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.009
24. **Vaughan J. 2011.** Ovarian function in South American camelids (alpacas, llamas, vicunas, guanacos). *Anim Reprod Sci* 124: 237-243. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.031
25. **Vaughan JL. 2001.** Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*). Australia: Central Queensland University. 654 p.
26. **Vaughan JL, Macmillan KL, D'Occhio MJ. 2004.** Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim Reprod Sci* 80: 353-361. doi: 10.1016/j.anireprosci.2003.08.002
27. **Vaughan JL, Tibary A. 2006.** Reproduction in female South American camelids: a review and clinical observations. *Small Ruminant Res* 61: 259-281. doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.07.015
28. **Wachsberg RH. 2003.** Ultrasonography of the female internal reproductive tract. *Tech Advance* 22: 1349-1356.