



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE
MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**EFFECTO DE LA ESTACIÓN DEL AÑO SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE ALPACAS
(*Vicugna pacos*) CRIADAS EN COSTA CENTRAL**

JUAN CARLOS VILLANUEVA MORI

Lima – Perú

2016



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE
MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**EFFECTO DE LA ESTACIÓN DEL AÑO SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE ALPACAS
(*Vicugna pacos*) CRIADAS EN COSTA CENTRAL**

JUAN CARLOS VILLANUEVA MORI

Lima – Perú

2016

i DEDICATORIA

A Dios y a mi hermano Dante, que desde el cielo me guía y protege en este camino tan largo de la vida, por haberme dado salud y fuerzas para poder realizar mi sueño.

A mis padres Betty y Cesar por el gran esfuerzo que realizaron para poder estudiar y el ejemplo que siempre me han inculcado. Las metas que uno se propone no tienen obstáculo que te detenga y el único límite lo ponemos nosotros. Gracias por todo el apoyo que me dan, a pesar de estar lejos.

A mi hermano Paulo Cesar, por el apoyo que durante todo este tiempo, me mostro.

A mis tíos y primos que con su incansable apoyo moral, han hecho que este logro sea realidad, el anhelar algo y el esfuerzo son virtudes que uno tiene que preservar siempre, para poder realizar tus metas.

A todos mis amigos de ayer, hoy y siempre de la escuela de veterinaria de la Universidad Alas Peruanas, con quienes pase momentos de alegrías y tristezas. Gracias por el apoyo.

ii AGRADECIMIENTO

Al Doctor Wilfredo Huanca López, maestro y amigo, por su apoyo incondicional.

A los amigos y colegas del Laboratorio de Biotecnologías Reproductivas de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Nathalie, Jesús, Camilo, Marco, Fahrid, ¡Gracias por su amistad y apoyo!

Al Médico Veterinario Antonio Ampuero bustillo, por su apoyo moral del día a día.

A mis tíos, gracias por el apoyo, alegrías y muestras de cariño.

Al Dr. Francisco Rodríguez Gavancho, por su apoyo y su paciencia.

iii RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto estacional (verano e invierno) sobre las características seminales de alpacas criadas bajo condiciones de la costa Peruana. El estudio se realizó entre enero a setiembre del 2015, en el departamento de Lima. Muestras de semen de 4 alpacas machos de 7 años de edad aproximadamente, alimentadas con heno de alfalfa fueron colectadas. La colección se realizó mediante la técnica del uso de vagina artificial (VA), usando hembra receptiva en lugar de maniquí. Por estación; verano (enero a marzo) e invierno (julio a septiembre), se realizaron 5 colecciones por animal, con intervalos de 5 días entre colección. Cada muestra obtenida se evaluó al instante, con la finalidad de determinar las siguientes características: a) macroscópicas (volumen, pH, filancia, color) y b) microscópicas (concentración, motilidad, vitalidad, porcentaje de anormalidades, anormalidades de cola y cabeza, gota citoplasmática proximal y distal, y test de endosmosis). Los resultados obtenidos en la época de invierno, nos muestra una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), respecto a la época de verano, con un aumento de la concentración, motilidad, vitalidad y disminuyendo la filancia y el porcentaje de anormalidades. Sin embargo, no se observó diferencias significativas ($P > 0.05$) en el análisis de pH, volumen, test Host y el porcentaje de anormalidades de cabeza. En conclusión, los resultados obtenidos sugieren que podemos encontrar la mejor calidad de semen en la época de invierno.

iv ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the seasonal effect (summer and winter) on the seminal characteristics of alpacas bred under conditions of the Peruvian coast. The study was conducted among January to September 2015, in the department of Lima. Semen from 4 male alpacas of 7 years old were collected, these animals were fed with alfalfa hay. The collection was made through the Artificial Vagina (AV) technique, using receptive female instead a mannequin. For each season; summer (from January to March), and winter (from July to September), five collections took place per animal, with intervals of 5 days between collection. The samples were evaluated immediately, to determine the following characteristics a) macroscopic; volume, pH, filancia, colour, and b) microscopic; concentration, motility, viability, average of abnormalities, abnormalities in tail and head, proximal and distal cytoplasmic droplet, endosmosis test. The results obtained in the winter time, it show us a statistically significant difference ($P < 0.05$), regarding the summer, with increased concentration, motility, vitality and decreasing filancia and the percentage of abnormalities. However, no significant differences ($P > 0.05$) were observed in the analysis of pH, volume, Test Host and the average of head abnormalities. In conclusion, the results obtained suggest that we can find the best semen quality at the winter season.

INDICE	Pág.
Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iii
Abstract	vi
I. Introducción	1
II. Marco teórico	3
2.1 Camélidos sudamericanos	3
2.2 Sistemas de producción	4
2.3 Anatomía reproductiva de la alpaca	5
2.3.1 pene y prepucio	5
2.3.2 Testículos	6
2.3.3 Epidídimo y conducto deferente	7
2.3.4 Próstata, glándulas bulbo uretrales y accesorias	7
2.3.5 Pubertad	7
2.3.6 Espermatogénesis	8
2.3.7 Endocrinología reproductiva	9
2.4 Características reproductivas en la alpaca	9
2.4.1 Estacionalidad	9
2.4.2 Copula y eyaculación	10

	Pág.
2.5 Métodos de colección de semen	10
2.5.1 Fundas Vaginales	10
2.5.2 Esponjas vaginales	11
2.5.3 Electro eyaculación	11
2.5.4 Fistula uretral	12
2.5.5 Aspiración vaginal post-coital	12
2.5.6 Vagina artificial	12
2.5.7 Desviación de los conductos deferentes	13
2.5.8 Bulbourectomía	14
2.6 Factores relacionados con la colección	15
2.6.1 Frecuencia de colección	15
2.6.2 Duración de la copula	15
2.6.3 Época	15
2.6.4 Edad	16
2.7 Evaluación de semen características físicas	16
2.7.1 Macroscópicas	16
2.7.1.1 Volumen	17
2.7.1.2 Color	17
2.7.1.3 Viscosidad(Filancia)	17
2.7.1.4 pH	17
2.7.2 Microscópicas	17
2.7.2.1 Concentración	18
2.7.2.2 Motilidad	18
2.7.2.3 Vitalidad(Vivos/muertos)	18
2.7.2.4 Anormalidades primarias	19
2.7.2.5 Test de endosmosis(HOST)	19

	Pág.
III. Materiales y métodos	21
3.1 Espacio y tiempo	21
3.2 Población y muestra	21
3.3 Diseño de la investigación	21
3.4 Equipos y materiales	22
3.5 Procedimientos	26
3.5.1 Fase de identificación y selección animal	26
3.5.2 Fase de secado del animal	26
3.5.3 Fase de colección	26
3.5.4 Fase de análisis de muestras	27
3.5.5 Macroscópicos	27
3.5.5.1 Volumen	27
3.5.5.2 Color	27
3.5.5.3 pH	27
3.5.5.4 Viscosidad/filancia	27
3.5.6 Microscópicos	27
3.5.6.1 Motilidad	27
3.5.6.2 Test de endosmosis	28
3.5.6.3 Concentración	28
3.5.6.4 Vivos/muertos	28
3.5.6.5 Anormalidades	28
3.6 Diseño estadístico	29

	pág.
IV. Resultados	30
V. Discusión	35
VI. Conclusiones	38
VII. Recomendaciones	39
VIII. Referencias Bibliográficas	40

Anexos

I. INTRODUCCIÓN

El hábitat natural de los camélidos son los ecosistemas alto andinos, ubicados por encima de los 3800 msnm con bajas temperaturas y pastos de mala calidad, proporcionando difíciles condiciones medio ambientales; pese a ello, los camélidos sudamericanos han sido capaces de adaptarse para producir fibra de gran calidad y carne de alto contenido proteico.(1)

La crianza de los camélidos sudamericanos constituye una actividad económica importante para el sostenimiento del poblador alto andino. Desde el tiempo del Incanato estas especies han sido utilizadas para la producción de carne y fibra, también como medio de transporte de carga y la llama también se usa como medio de protección de otros animales (ovinos y caprinos).(2)

En las crías de toda especie animal, el macho cumple un rol importante, tanto en el proceso reproductivo como en el mejoramiento genético, la correcta selección y los cuidados dependen el éxito de la explotación.(1)

Los camélidos sudamericanos presentan ciertas características reproductivas propias, especialmente en lo referente al manejo y evaluación del semen, por lo que es considerada una especie diferente en lo referente al manejo del semen.(3)

El semen por su alta viscosidad, representa un problema para el manejo bajo las condiciones del laboratorio, pero esta cumple un papel de proteger a los espermatozoides en el tracto reproductivo de la hembra.(4)

Los camélidos sudamericanos, como mamíferos homeotermos o endotermos regulan su temperatura corporal por un equilibrio permanente entre producción y pérdida de calor al ambiente por medio de conducción, radiación, evaporación y convección.(5) La temperatura testicular normal está por debajo de la temperatura corporal con rangos de 2° a 8°C. (6)

El efecto de las altas temperaturas hace que la espermatogénesis se vea afectada, siendo los más afectados los espermatozoides y espermatozoides, por el efecto del estrés oxidativo.(7)

Las dificultades en el manejo y evaluación de las características físico-químicas del semen de los camélidos sudamericanos, sugiere que estas características pueden estar asociadas a ciertos hábitos, reportándose en trabajos realizados en llamas, que las características seminales varían entre estaciones. En nuestro país, un trabajo realizado con alpacas en Puno, sobre los 3800 msnm, demuestra que la estación (época seca y época de lluvia) afecta ciertas características del semen.(8)

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar el efecto de la estación sobre las características seminales de semen de alpacas, criadas en costa central a nivel del mar.

II.MARCO TEÓRICO

2.1 Camélidos sudamericanos

Los camélidos sudamericanos derivan de especies prehistóricas desaparecidas hace más de 11 millones de años. Desde hace más de seis mil años los Camélidos Sudamericanos forman parte del ambiente físico y cultural de la región.(9, 10) Antes de su desaparición algunos camélidos ancestrales migraron hacia el sur del continente para evolucionar en los camélidos sudamericanos actuales, de las cuatro especies presentes actualmente, dos son domesticas (alpaca y llama), y dos son silvestres (vicuña y guanaco).(9-11)

Estudios de ADN mitocondrial sugieren que la vicuña y el guanaco fueron los antecesores de las alpacas y las llamas, respectivamente, en un proceso de domesticación que se inició en los Andes Centrales de Sudamérica hace 6000 años.(10-12)

Con la llegada del hombre europeo a américa, comenzó una era de persecución y marginación de estos animales y sus criadores. Rápidamente se les fue desplazando de las zonas más favorables, forzándolos cada vez más hacia el ambiente Alto-Andino. Encontraron allí refugio, en áreas en que las especies pecuarias introducidas por los europeos no prosperaban. En un ambiente muy poco flexible en términos de uso agropecuario, alpacas y llamas brindaron (y aún brindan) al poblador andino fibra para vestimenta y otros útiles, pieles, alimento a través de su carne, y transporte en el caso

de la llama. El estiércol de los animales es usado como fertilizante y combustible. A diferencia de otras especies pecuarias, la información disponible indica que alpacas y llamas nunca fueron utilizadas para la producción de leche para consumo humano.(13)

Las alpacas habitan la zona alto-andina, por encima de 3000 msnm, del Perú, Bolivia, Argentina y Chile. Estos ambientes incluyen mesetas (altiplano) y laderas cordilleranas con alta incidencia de heladas y precaria disponibilidad de agua. Las alpacas también fueron llevadas a otros países, donde son criadas en condiciones más favorables que las de su ambiente de origen, para servir como mascotas o producir fibra; por ejemplo en los Estados Unidos (120.000 ejemplares), Australia (100.000 ejemplares), Canadá, Nueva Zelanda y países europeos.(14)

2.2 Sistemas de producción

A grandes rasgos pueden distinguirse dos tipos de establecimientos dedicados a la cría de alpacas. En primer lugar tenemos un tipo bastante tecnificado, con subdivisiones del campo que permiten la separación de las distintas categorías de animales, y una alimentación que incluye acceso a pasturas mejoradas.(13)

En estos establecimientos los rebaños son grandes, alcanzando a menudo tamaños del orden de 3 000 a 25 000 o más animales. En segundo lugar tenemos los establecimientos de pequeños productores. En estos, los animales se crían con un mínimo de insumos, mano de obra casi siempre familiar, y alimentación exclusivamente en base a pasturas naturales. Los rebaños son de menor tamaño que en el caso anterior, con frecuencia del orden de 15 a 80 animales.(13)

Se estima que alrededor del 90 por ciento de las alpacas de la región alto-andina está en manos de pequeños productores.(13)

2.3 Anatomía reproductiva de la alpaca

Es importante conocer los órganos del macho involucrados en el proceso de la reproducción, ya que los camélidos sudamericanos presentan ciertas características propias de la especie.

2.3.1 Pene y prepucio

El pene es fibroelástico, en su extremo forma un gancho curvo con dirección a la derecha, con un pequeño proceso con divertículo uretral de 1cm de longitud aproximado; el tamaño del pene erecto es de 35-40 cm y la flexura sigmoidea es preescrotal.(15)

El prepucio es pequeño y orientado hacia la cola, la micción es hacia atrás entre las patas traseras.(15)

En el nacimiento el pene está completamente adherido al prepucio, pero esta desaparece gradualmente con el crecimiento bajo la influencia de la testosterona.(15, 16)

A año de edad, algunos machos muestran interés sexual en las hembras, mas no pueden copular ya que el 92 por ciento no tienen completa la liberación de la adherencia pene-prepucio.(15)

A los dos años de edad el 70 por ciento de los machos ya tiene libre la adherencia pene-prepucio, el 100 por ciento lo tiene a los 3 años de edad. Una alpaca macho alcanza la madurez sexual a los 5 años de edad.(16)

Si se hace antes debe prestarse especial atención a que estén libres de adherencias. La primera vez que se usa un macho joven debe evitarse exponerlo a hembras agresivas que puedan inhibirlo. Es importante elegirle hembras sumisas para que vaya adquiriendo confianza.(13)

2.3.2 Testículos

En el macho los testículos están localizados debajo del ano a nivel del arco isquiático próximo a la región perineal.(17)

Son de forma ovoide y se encuentran en el escroto en posición perineal, como el perro y el cerdo,(18) no son pendulados como en ovinos o vacunos, sino que se encuentra bien adosado y mantiene los testículos junto al cuerpo del macho, por su posición ligeramente protuberante, es propenso a sufrir golpes y heridas en peleas.(13) En los camélidos los testículos no se encuentran en el escroto al nacer, estos descienden a los 6 meses de edad.(18)

El peso de cada testículo varía entre el 0.02% y el 0.03% del peso corporal, el tamaño de los testículos puede variar entre 4 y 5 cm de longitud y 2.5 a 3.0 centímetros de ancho, el peso de un testículo plenamente desarrollado es de aproximadamente 15 gramos.(15)

Los testículos cumplen un papel fundamental, siendo responsables de la producción de esperma (células reproductivas masculinas) y de las hormonas que determinan el aspecto y comportamiento de macho.(13)

2.3.3 Epidídimo y conducto deferente

El epidídimo está firme y conectado a los testículos siendo de pequeño tamaño y visible. El conducto deferente es delgado, 1 milímetro en su comienzo y 2mm cuando llega a la cavidad abdominal y termina cerca de la vejiga formando lo que en otras especies son las ampollas deferentes sin las características de esta estructura(19), la longitud total del conducto deferente es de aproximadamente 40cm.(15)

Actúa como depósito y lugar de maduración del espermatozoide. Durante la eyaculación el espermatozoide pasa del epidídimo al conducto deferente. De allí pasará a la uretra y finalmente al exterior.(13)

2.3.4 Próstata, glándulas bulbo-uretrales y accesorias

Están localizadas en la pelvis y por encima del resto del tracto genital masculino. Estas glándulas segregan fluidos que dan volumen, nutrientes y estabilidad al semen.(13)

La próstata está en forma de H y se encuentra sobre el cuello de la vejiga, las glándulas bulbo-uretrales son de forma oval se encuentran a ambos lados de la uretra a la salida pélvica(15, 20); los camélidos sudamericanos no presentan vesícula seminal.(15, 19-21)

2.3.5 Pubertad

En términos generales la pubertad se da cuando el macho, tiene la capacidad de producir espermatozoide.(22)

Los machos pueden mostrar el interés sexual a los 12 meses de edad, pero la erección y penetración solo se puede dar cuando el pene está libre de la adherencia prepucial.(2, 15, 23)

2.3.6 Espermatogénesis

Proceso que se lleva durante todo el año y se lleva a cabo en gónadas masculinas por el que se da inicio a la formación de los espermatozoides, específicamente en los túbulos seminíferos.(1, 24, 25)

Los túbulos seminíferos están cubiertos por células epiteliales, están compuestos de 2 tipos básicas de células, las células de sertoli y las células germinales. Las células germinales experimentan una serie de cambios y divisiones celulares que se inicia en la periferia y avanza hacia la luz del túbulo.(26)

Las espermatogonias sufren divisiones antes de formar espermatoцитos, luego reducen su contenido de DNA a la mitad, experimentando una meiosis; a estas divisiones se le llama espermatocitogenesis (26), las espermátidas resultantes de este proceso son células haploides, las cuales pasan por amplios cambios estructurales y desarrollo para llegar a formar espermatozoides.(26)

Hay 3 elementos que en conjunto constituyen la espermatogénesis, células germinales renovables por los procesos de mitosis (espermatocitogenesis), reducción del número de cromosomas por meiosis y proceso de metamorfosis denominado espermiogénesis (27); la maduración de los espermatozoides se realiza en la cabeza y el cuerpo del epidídimo y se almacena en la cola del epidídimo (28, 29); se puede utilizar la longitud testicular para estimar la producción espermática (30); la producción individual de cada macho, es proporcional al tamaño del testículo (1).

Se ha reportado que la espermatogénesis en camélidos sudamericanos se divide en 8 estadios y esta se da en los túbulos seminíferos, observando la forma y distribución de los núcleos de las células germinales, localización de las espermátidas, la presencia de figuras meioticas y la liberación de espermatozoides de la pared tubular; en el epitelio

seminífero se encuentran presentes espermatogonias del tipo A y B se ha observado doce pasos espermiogénicos, las células de Leydig demuestran una marcada reacción a la testosterona.(31)

No hay información que indique el ciclo espermatogénico en los camélidos sudamericanos ni de la producción por masa testicular.

2.3.7 Endocrinología reproductiva

Por niveles séricos de testosterona determinaron que a los once meses de edad, la producción promedio de testosterona aumenta y alcanza rangos normales considerándolas de un adulto. A los 20 meses de edad en la mayoría de machos los niveles de testosterona llega a ser mayores de 1000 pg/ml.(15, 18)

2.4 Características reproductivas en la alpaca

El comportamiento sexual varía de acuerdo a las características de la especie, en el caso de los camélidos sudamericanos, se observan características únicas.

2.4.1 Estacionalidad

La naturaleza y la duración de la temporada sexual de cualquier especie se relaciona con su domesticación, su origen geográfico y la biología de la especie; la variación de la capacidad de especies en domesticación para adaptarse al ritmo de reproducción autónoma, al nuevo entorno, es revelada por los hábitos la reproducción se ajusta a la cautividad;(32) la alpaca en su hábitat natural es considerada una especie de estación, en los meses de noviembre a abril, en donde hay la mayor cantidad de forraje.(15, 33, 34)

Los camélidos sudamericanos y silvestres, son capaces de reproducirse en todas partes del mundo en cautiverio, durante todo el año;(15, 35-37) cuando hembras y machos se mantienen separados y se los permite copular esporádicamente (una vez al mes), ambos son sexualmente activos durante todo el año;(15) los camélidos sudamericanos son animales que habitan en la sierra peruana sobre los 3000 msnm.

2.4.2 Copula y eyaculación

Los camélidos sudamericanos tienen inconvenientes en la colección de semen como, la posición de la copula, la duración, el lugar del depósito del semen (intra-cornual), el tipo de eyaculación (continuo), las características propias del eyaculado como la viscosidad, lo que hace que se investigue para poder encontrar una técnica adecuada para poder extraer semen sin alterar a esta.(38)

La posición coital y su nerviosismo hacen que la colección de semen sea dificultoso;(39) las características que presentan los camélidos sudamericanos en su reproducción los hacen especies *sui generis*, (3)

2.5 Métodos de colección de semen

2.5.1 Fundas vaginales.- Utilizando una funda de látex colocada intra-vaginalmente antes de realizarse la copula en 1952 Mogrovejo realizó el primer ensayo de colección de semen en alpacas por este método, después de la copula se retira la funda que sirve de recolector de semen; la colocación de la funda dentro de la vagina hasta la cervix, es dificultosa y provocaban lesiones que hasta a veces eran irreversibles para el animal pudiendo dejarla inhabilitada para el uso posterior también se hace tedioso ya que prolonga el tiempo de la copula e interfiere en la copula normal,(40)

Palomino y Jhonson también realizaron otros intentos de colección por el método de funda vaginal.(41, 42)

Se realizó estudio de colección de semen en alpacas mediante la técnica del preservativo, obteniendo pequeños volúmenes de semen y bajas condiciones espermáticas.(43)

2.5.2 Esponjas vaginales.- Se utilizaron esponjas introducidas en la parte anterior de la vagina que absorbe el semen y otros fluidos vaginales, el inconveniente de este método es la obtención de semen muy contaminado y mezclado con los fluidos del tracto genital femenino, diluyendo y contaminando el semen con bacterias, dificultando así su evaluación, por lo que no se recomienda su uso para fines de inseminación artificial.(44)

2.5.3 Electro-eyaculación.- Se reportó el uso de este método utilizando un equipo de fabricación nacional, es un método en el que no se necesita una hembra o el uso de un maniquí, acorta el tiempo de colección y se puede realizar durante todo el año, pero el único inconveniente es que el animal debe ser tranquilizado o anestesiado y se necesita varios operarios para poder realizarlo.(45)

Los resultados muestran alta variabilidad entre animales y en el mismo animal, el semen obtenido es diluido con las secreciones de las glándulas anexas, con baja concentración también esta puede estar contaminado con orina.

Un estudio comparativo de colección de semen mediante las técnicas de electro-eyaculación y vagina artificial, el semen obtenido por este método tuvo características diferentes a las muestras obtenidas mediante vagina artificial.(46)

2.5.4 Fístula uretral.- De por sí, este método ya es dificultoso al realizar una fístula quirúrgica en la uretra peniana entre el ano y el escroto es un poco difícil; el semen es colectado durante la copula natural, utilizando anestesia epidural y anestesia local para colocar un catéter plástico en la uretra desde el pene hasta la vejiga, el cual sirve para guiar la cirugía y ayuda a identificar la uretra; la incisión se realiza en la piel, el músculo bulbocavernoso aislado y se separa la uretra del cuerpo cavernoso; este método no interfiere en la copula y las secuelas post operatorias parecen no afectar al animal.(47)

2.5.5 Aspiración vaginal post-coital.- Técnica en el que las muestras de semen son extraídas del fondo de la vagina por aspiración después del coito, la desventaja es que el semen colectado es incompleto, contaminado y mezclado con los fluidos de la hembra.

Se puede utilizar este semen para realizar la evaluación de espermatozoides como motilidad, vitalidad, morfología; pero al obtenerse con residuos sanguinolentos y se ve de un color rosado ya que el endometrio se encuentra inflamado y lacerado por la cópula; la técnica es introducir un espejito por la vulva previamente desinfectada y con la ayuda de una fuente de luz se ubica la cervix, inmediatamente se aspira con una pipeta adosada a una jeringa. La utilización de esta técnica para evaluar la fertilidad del macho es muy cuestionada.(48, 49)

2.5.6 Vagina artificial.- Con la ayuda de un maniquí en forma de una alpaca hembra en posición de cópula; se coloca la vagina artificial, que es una modificación de la vagina artificial que se usa para vacunos y ovinos, consta de un tubo rígido de 7 cm de diámetro por 25 cm. de largo con una funda interna de látex, un cono de látex al que envolvía un alambre en espiral simulando la cervix de la alpaca y un tubo de centrifuga, el agua a 45° C se coloca por una válvula; los machos tuvieron un corto periodo de entrenamiento y aceptaron al maniquí; la copula se interrumpía cada 10 minutos aproximadamente para renovar el agua caliente, se pudo observar la variación que hay

entre machos, el color del eyaculado, independientemente del volumen, fue de un blanco lechoso a blanco claro, este semen no muestra motilidad masal por la alta viscosidad que tiene.(50)

Se buscó mejorar la técnica de vagina artificial, en combinación con una hembra receptiva es la técnica más óptima de obtener semen de buena calidad, se puede utilizar para inseminación artificial, usando una fuente de calor continuo y la característica anatómicas que imite a la cervix.(51)

También se utilizó una hembra receptiva al lado del maniquí, incrementaba la calidad del eyaculado obtenido mediante vagina artificial a comparación de solo utilizar el maniquí, incrementando el tiempo de cópula a 17 minutos aproximadamente.(52)

En Bolivia se trató de mejorar la técnica de la vagina artificial utilizando un maniquí de grupa, el cual es un aditamento que se le coloca a la hembra sin necesidad de contar con un maniquí de cuerpo completo, la técnica es similar a la del maniquí con vagina artificial, además se evaluó otra técnica, que es la de colocar la vagina artificial por desviación del pene en el momento de la penetración, tal como se realiza en vacunos, al comparar las tres técnicas se tuvo una aceptación por parte del macho del 20 % para la técnica del maniquí completo sin hembra receptiva, 80 % para la técnica del maniquí de grupa y un 90 % para la técnica de la desviación del pene al inicio de la cópula, según el autor la última técnica es la más recomendable pues evita la contaminación del eyaculado.(53)

2.5.7 Desviación de los conductos deferentes.- Con el fin de coleccionar espermatozoides libres de la secreción de las glándulas anexas en alpacas, se desarrollaron las técnicas de la desviación de los conductos deferentes y la extirpación de la próstata; la primera técnica intenta coleccionar espermatozoides directamente de su

reservorio, la cola del epidídimo, sin que estos tengan contacto con las secreciones de las glándulas anexas, desviando quirúrgicamente los conductos deferentes hacia la región ventral del animal o la cara interna del muslo, formando una fístula permanente en la piel desde donde se puedan coleccionar continuamente sin la necesidad de tener hembra receptiva ni someter a los espermatozoides a la acción de enzimas proteolíticas que intenten licuefactar el coágulo del eyaculado para un mejor manejo espermático.(54, 55)

2.5.8 Bulbourectomía.- Técnica que realizaron con el fin de obtener semen sin las secreciones de las glándulas bulbo uretral, que según la literatura son las encargadas de producir el material viscoso del semen. Las características del semen se asemejan al de la técnica por vagina-artificial, la técnica empleada para la cirugía es muy dificultosa por la ubicación anatómica del órgano, lo que no ayudo posible realizarla, haciendo una prostatectomía.(54)

Para posibilitar la colección de semen en llamas con un bajo nivel de viscosidad se realizó la técnica de bulbourectomía para lo cual realizan una cirugía, realizando una incisión en la piel a nivel perianal hasta visualizar la uretra pélvica y las glándulas bulbouretrales, estas fueron extirpadas, técnica con un tiempo prolongado de duración 3 horas y una recuperación total del animal a 17 días.(56)

En un trabajo realizado, animales fueron sometidos a la técnica de bulbourectomía y luego de post-operatorio, realizaron la colección de semen utilizando el método de vagina artificial con la ayuda del maniquí, con un intervalo de una semana se vio que los eyaculados no tenía viscosidad y facilitaba su manejo, se podía utilizar dilutores de otras especies.(57)

2.6 Factores relacionados con la colección

Además del tipo de colección, también existen varios factores relacionados con la colección y la calidad de semen obtenido, entre los cuales están:

2.6.1 Frecuencia de colección: Un trabajo realizado mediante la colección de semen con el método de vagina artificial, con la ayuda de una hembra receptiva como súcubo, reporta que la colección continua disminuía considerablemente el tiempo de copula, la concentración y la viscosidad (filancia) mas no en la motilidad, el porcentaje de vivos y normales y el test de hipo osmolaridad (host) que sufren una no considerable variación caso contrario del volumen que no muestra variación y se mantiene igual.(58)

Estos estudios podrían indicar que la frecuencia copulatoria en época reproductiva podría ser una causa de baja fertilidad por agotamiento de las reservas espermáticas en los machos.(3)

2.6.2 Duración de la cópula: El semen se relaciona con la duración de la copula, la interrupción de la copula a rangos de tiempos no da cambios considerables o marcados esto en cuanto a volumen pero si hay cambios substanciales en cuanto a concentración y porcentaje de vivos, la concentración se incrementó a los 20 minutos de copula, pero la interrupción de la copula incrementa el porcentaje de espermatozoides muertos cuando la interrupción se da a los 15 minutos para cambiar el tubo colector, al parecer la última parte de la eyaculación lleva la mayor parte de la concentración.(59)

2.6.3 Época: La época así como una buena alimentación juegan un rol importante en la calidad de semen y espermatogénesis, en argentina un trabajo similar en llamas (*Lama glama*), y en la que obtuvieron eyaculados en dos estaciones, verano (febrero-abril) e invierno (julio-septiembre) con el método de vagina artificial y el método de electro eyaculación, obteniendo una mayor concentración de espermatozoides en invierno con

menos anormalidades en la cola de espermatozoides, encontrando también variaciones individuales, la calidad del semen varía entre métodos, obteniendo mejores resultados con el método de electro eyaculación en la estación de invierno.(60)

Un trabajo realizado en alpacas en la Sierra Peruana, reporta una alta variabilidad entre las diferentes características individuales entre machos y entre época, señalando que la época de lluvia (noviembre-abril) muestra mejores resultados para las variables a) espermatozoides normales, anormalidades de la cabeza y cola, mientras que la época seca (mayo-octubre) presenta en menor porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática. Las variables pH, volumen, filancia, motilidad, concentración, recuento, vitalidad y anormalidades de cuello, no muestran variación estacional.(8)

2.6.4 Edad: Se realizó un trabajo en llamas, evaluando las características seminales con el método de la vagina artificial, utilizaron animales de 3, 4 y 5 años de edad y determinaron que la edad no influye en las características seminales.(61)

En alpacas realizaron trabajos, observando que la edad tiene un efecto muy leve en la producción seminal, las características mejoran sutilmente de acuerdo la edad del animal aumenta, pero no es relevante.(48, 62)

2.7 Evaluación de semen características físicas

2.7.1 Macroscópicas.-Las características macroscópicas del semen de camélidos sudamericanos, entre las cuales se consideran:

2.7.1.1 Volumen: Se observa directamente sobre el tubo graduado, Quintano realizo la colecta de semen en alpacas, con el método de desviación de Conductos Deferentes, obteniendo un volumen de 0.2-1.0 ml.(55) Huanca y Gaulty , colectaron semen con el método de vagina artificial, obteniendo un volumen de 0.9 – 1.4.(63)

2.7.1.2 Color: El color fue clasificado como blanco transparente, blanco cristalino, blanco lechoso, blanco claro y blanco amarillento.(64)

Quintano extrajo semen con el método de desviación de conductos deferentes, con un color blanco transparente.(55)

2.7.1.3 Viscosidad (Filancia): La viscosidad del semen varía, en los bovinos, ovinos, caprinos y porcinos es manejable. En el caso de los camélidos sudamericanos el semen se torna visco, es esta una de las principales dificultades en el almacenamiento del semen de camélidos.

2.7.1.4 PH: Un pH neutro o ligeramente alcalino (de 6,9 a 7,5) es propio de las diferentes especies, cae en límites de actividad óptima de la mayoría de las enzimas del espermatozoide. Por lo tanto, si se mantiene un pH neutro (7,0) se espera una tasa metabólica elevada. Si el pH del semen se desvía hacia la alcalinidad o hacia la acidez, se reducirá el índice metabólico.(65)

2.7.2 Microscópicas.-Las características microscópicas más importantes que se evalúan en el semen son:

2.7.2.1 Concentración: La concentración varía entre diferentes especies, un trabajo realizado en alpacas con el método de vagina artificial muestra una concentración de 147,500 espermatozoides/ml en promedio, con rangos que van desde los 82,500 hasta los 250,000 espermatozoides/ml.(66)

En otro trabajo realizado con vagina artificial con maniquí y con una hembra receptiva al costado se encontró resultados que van de 32.8×10^4 /mililitros y 57.5×10^4 /mililitros respectivamente para los dos métodos de colección.(52)

2.7.2.2 Motilidad: No existe “motilidad basal” por la baja concentración relativa de espermatozoides y por una motilidad progresiva individual poco vigorosa.(50) Este por la características del semen, al ser altamente viscoso los espermatozoides no tienen movimientos en grupo si no individuales, y estos no son claro.(67)

Un trabajo comparando dos métodos de colección encontraron motilidad con un porcentaje de 34.2% para el método de colección de vagina artificial usando un maniquí y para el método de vagina artificial usando maniquí y hembra receptiva al costado encontró 57.5% siendo este mejor, (52) en otro trabajo reportado en alpacas usando el método de colección de vagina artificial encontraron motilidad con un promedio de 85%.(66)

2.7.2.3 Vitalidad (vivos/muertos): La vitalidad espermática refleja la capacidad de la membrana protoplasmática del espermatozoide vivo y muerto, de dejar pasar colorante vital si el espermatozoide está muerto por tanto, queda teñido. En cambio los espermatozoides vivos no quedan teñidos.(67)

En un trabajo en alpacas reportaron que la proporción de espermatozoides vivos tiene un rango de 58% a 83%.(66)

2.7.2.4 Anormalidades: Para su determinación, se utilizó los frotis hechos para el porcentaje de vitalidad, prosiguiendo de la siguiente manera: Se contaron todos los espermatozoides encontrados en los cuatro campos microscópicos del frotis; enumerando las formas anormales encontradas. El examen se llevó a cabo, anotando las anormalidades que presenten los espermatozoides en cada campo microscópico. (67); anormalidades primarias: Cabeza gigante, microcéfalo, colas enrolladas, colas rotas, cabezas dobles, doble cola, colas torcidas alrededor de la cabeza de los espermatozoides.(67)

Anormalidades secundarias: Cabeza suelta o sola, cola sola, colas en gancho, cola doblada.(67)

Trabajo reporta porcentajes de anormalidades de cabeza, anormalidades de cola y gotas citoplasmáticas con porcentajes de 2.6 a 12.6, 9.4 a 15.2 y 1.3 a 7.3 respectivamente.(66)

2.7.2.5 Test de endosmosis (HOST): Permite evaluar la funcionalidad de la membrana plasmática de los espermatozoides mediante la observación de alteraciones morfológicas que sufren las células espermáticas al ser expuestas a condiciones hipotónicas (incremento de tamaño y flagelos flectados o curvos). Se ha observado que la suspensión de espermatozoides en un medio hipotónico ocasiona un desequilibrio osmótico entre el medio extracelular y el intracelular, situación que el espermatozoide trata de vencer difundiendo agua al compartimento intracelular y, como consecuencia, la célula aumenta su volumen.(68)

El enrollamiento que se da al exponer el espermatozoide al test solo indica un buen funcionamiento de la membrana pero la motilidad espermática no solo depende del buen funcionamiento de la membrana si no de un adecuado metabolismo espermático en general.(69)

En un trabajo realizado en alpacas compararon diferentes concentraciones de 50 mOsm/kg, 150 mOsm/kg y 275 mOsm/kg, exponiéndolo a incubación en tiempos de 15 y 60 minutos, encontrando que a 150 mOsm/kg a 15 minutos el espermatozoide muestra una sensibilidad mayor que a los demás concentraciones en diferentes tiempos de incubación.(70)

Un trabajo realizado comparando diferentes concentraciones de soluciones hipo osmoticas (50 mOsm/kg, 100 mOsm/kg y 150 mOsm/kg) a 37°C por treinta minutos y comparando dos métodos de colección de semen por vagina artificial y por conductos epididimarios libres de plasma seminal, reporta que encontró una mejor diferencia significativa exponiendo a los espermatozoides de alpacas en solución de 50 mOsm/kg a 37°C por 30 minutos a los dos métodos de colección encontrando 53.37 para 50 mOsm/kg, 38.96 para 100 mOsm/kg, 21.51 para 150 mOsm/kg para el método de conductos epididimarios y para el método de vagina artificial encontró 73.87 para 50 mOsm/kg, 55.80 para 100 mOsm/kg y 18.73 para 150 mOsm/kg.(71)

III.MATERIALES Y METODOS

3.1 Espacio y tiempo

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del “Laboratorio de Reproducción Animal – Sección Biotecnologías Reproductivas, en la Facultad de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos”, ubicada en Av. Circunvalación cdra.28 s/n San Borja, Lima. La zona corresponde a la zona costera del Perú, se encuentra a nivel del mar, con un clima variable, de templado a cálido; con presencia de estaciones marcadas para las épocas de verano, invierno, otoño y primavera, siendo la estación de invierno marcada por las constantes bajas temperaturas, mientras que la estación de verano con el aumento de las temperaturas; la humedad en esta ciudad llega a 100% en las estaciones de otoño e invierno, disminuyendo en la época de verano.

3.2 Muestra

La muestra estuvo conformada por 4 alpacas machos, transportadas desde los Andes Centrales del país hace más de 2 años y con una edad promedio de 7 años. Se realizó 5 colecciones por animal en cada una de las estaciones. La alimentación se basa en heno de alfalfa y agua *ad libitum*.

3.3 Diseño de la investigación

El presente trabajo se realizó en dos estaciones, la época de verano, con evaluaciones realizadas entre febrero a marzo e invierno, con evaluaciones entre agosto a

septiembre. Durante cada estación, se realizaron 5 colecciones por animal con intervalo de 5 días por colección, con un total de 10 colecciones por animal (ver anexo Cuadro 1), para proceder al análisis de las características microscópicas y macroscópicas ya descritas.

3.4 Equipos y materiales

Equipos
Termómetro
digital
Frazadilla eléctrica
Microscopio
Platina térmica
Estufa eléctrica
Estufa- Horno de secado
Termo Eléctrica
Computadora
Impresora
Reloj
Termómetro Higrómetro
Equipo de disección menor
Contador de laboratorio

Micro pipetas de 0,5-10 μ l

Micro pipetas de 20-200 μ l

Micro pipetas de 100-1000 μ l

vagina artificial

Implementos

Botas

Mandiles

Guantes de exploración

Mameluco

Materiales

Agujas hipodérmica N° 21

Agujas hipodérmica N° 18

Jeringas Estériles 1ml

Jeringas Estériles 3ml

Jeringas Estériles 5ml

Yodo

Tubos falcón 50ml

Laminas porta objetos

Laminas Cubre objetos

Papel aluminio

Folder

Tiras de PH

Papel toalla

Papel A4

Cuaderno

Alcohol 96°

Tinción eosina

Tinción Nigrosina

Eppendorf 1.5

Eppendorf 2

Tips de 0.1-10 μ l

Tips de 10-200 μ l

Tips de 200-1000 μ l

Papel nikon

Vial 1.5

Vial 2

Vial 3

Pabilo

Funda de látex

Formol 40%

plumón rojo

plumón negro

3.5 Procedimientos

3.5.1 Fase de identificación y selección animal:

En la fase previa del trabajo se identificó a los animales aptos, procediendo a confirmar con la liberación de la adherencia pene-prepucio y la presencia de alguna anomalía a nivel testicular, pene o testículos.

3.5.2 Fase de secado del animal

La fase de secado consideró un periodo de 7 días, con colecciones diarias, con el propósito de eliminar espermatozoides defectuosos. Posteriormente se procedió a un descanso por 9 días antes de iniciar la colección de semen.

3.5.3 Fase de colección

Para la colección se utilizó el método de vagina artificial (50) y presencia de una hembra receptiva (ver anexo Imagen 2 y 3). Para este fin, se procedió a armar la vagina artificial, regulando el agua a una temperatura de 41-44°C y realizando una medición de la presión. Posteriormente se procedió a traer a la hembra para usarla como maniquí, y realizar la colecta.(51) Para efectos de evitar un efecto del tiempo de colección, se estandarizó la colección por un tiempo de 10 minutos de monta por animal.

3.5.4 Fase de análisis de muestras

Una vez colectada la muestra se trasladó al laboratorio, evitando la exposición a la luz solar y se procedió a las correspondientes evaluaciones macroscópicas y microscópicas.

3.5.5 Macroscópico:

3.5.5.1 Volumen: Se midió con la cantidad de semen extraído, con la ayuda de un tubo falcón graduado.(72)

3.5.5.2 Color: Se consideraron 4 tonalidades, que van desde el Blanco lechoso, blanco cristalino, blanco amarillento, blanco rojizo.(73)

3.5.5.3 pH: El PH se midió con tiras reactivas que se tiñen de color, la que se realizó en la misma lámina que se realiza el test de filancia. Para ello se procede a medir el PH, derramando una gota en la tira y observando la coloración que toma.(74)

3.5.5.4 Viscosidad/filancia: La viscosidad es capacidad que tiene el semen de estirarse. Para ello se extrajo con una jeringa de 1ml (tuberculina), 0.05ml de semen con la jeringa sin aguja, a continuación colocamos la aguja N°18, luego procedimos en una lámina porta objetos a derramar una gota, de ahí con la ayuda de una regla, se procedió a estirar hacia arriba midiendo la distancia (ver anexo imagen n 1).(8)

3.5.6 Microscópico:

3.5.6.1 Motilidad: Evaluación subjetiva que se realizó colocando 10 µl de semen en una lámina porta objetos y luego en la platina térmica y se procedió a observar al microscopio con aumento de 40X, y se observó el movimiento en 10 campos y se sacó un porcentaje.(72)

3.5.6.2 Test de endosmosis: Se añadió 25 µl de semen a un vial conteniendo 500 µl de la solución endosmótica en una concentración de 50 mOsm/kg, luego se dejó incubar a 37°C por un tiempo de 20 minutos, terminado el tiempo de incubación se colocó 130 µl de fijador host (3 µl de formol al 40% y 1000 µl de host), con el fin de frenar la reacción y realizar la lectura, se colocó 10 µl del licor, en una lámina portaobjetos observando 100 espermatozoides, al microscopio con aumento de 40X.(69)

3.5.6.3 Concentración: En un vial de 2ml, previamente se colocó 0.9ml (900 µl) de agua, se colocó 0.1ml (100 µl) de semen, se homogeniza y se coloca 10 µl en la cámara de Neubauer, y se observa al microscopio a 40X, y se procedió a contar 5 de los 25 cuadros que hay. Cada cuadro consta de una dimensión de 4x4, procedimos a contar todos los espermatozoides del cuadro.(75)

3.5.6.4 Vivos/muertos (Vitalidad): En una lámina porta objetos se colocó 10 µl de semen y a continuación se coloca encima 10 µl de eosina-nigrosina; luego procedimos a hacer el frotis (extendido). Se dejó en la estufa eléctrica que seque por unos 10 minutos, luego se procedió a realizar las lecturas correspondientes observando al microscopio a aumento de 40X, a los que están teñidos eran aquellos que están muertos y los que no son aquellos que están vivos. Se contaron 100 para sacar un porcentaje.(76)

3.5.6.5 Anormalidades: En el mismo frotis de vivos y muertos se procedió a realizar la lectura observando al microscopio con aumento de 40X, contando 100 espermatozoides que se clasifican en normales y anormales, en los anormales se dividían en: cola, cabeza, gota citoplasmática proximal y gota citoplasmática distal.(76)

3.6 Diseño estadístico

Los resultados obtenidos para las diferentes variables de la evaluación seminal fueron organizados en una hoja de Excel Microsoft y posteriormente ingresados al programa estadístico SPSS statistics 22 (IBM). Los datos fueron analizados considerando promedios y desviación estándar, utilizando prueba de t para muestras independientes.

IV.RESULTADOS

Los resultados de las características seminales de alpacas en las dos estaciones, obtenidos en el presente estudio, se presentan en la Tabla 1, 2, 3, 4, 5 y 6. La Tabla 1 presenta las características macroscópicas de volumen, filancia y pH, observándose diferencias significativa solamente para la variable filancia, con valores más elevados en verano (5.9 ± 3.4) respecto a la época de invierno (3.7 ± 2.0) ($p < 0.05$) pero no se reporta diferencias para las otras características.

Respecto a las características microscópicas, los resultados presentados en la tabla 2, señalan diferencias significativas ($p < 0,05$) para la variable motilidad (58.8 ± 22.1 vs 77.3 ± 11.6), para concentración (135.9 ± 88.7 vs 242.4 ± 140.9), porcentaje de espermatozoides vivos (52.9 ± 18.4 vs 64.5 ± 15.9), espermatozoides normales (82.6 ± 7.2 vs 88.1 ± 7.0) y gota citoplasmática proximal (1.7 ± 1.4 vs 3.2 ± 2.6) para la época de verano e invierno, respectivamente aumentando en la época de invierno; mientras que anomalías de cola (7.55 ± 4.8 vs 4.7 ± 4.2) y gota citoplasmática distal (4.8 ± 5.1 vs 1.2 ± 1.4) aumentan en verano respectivamente.

Tabla 1. Características macroscópicas del semen de alpaca ($\bar{x} \pm SD$) en época de verano e invierno.

	Verano	Invierno	Total
Variables	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Volumen(ml)	1.9 ± 0.8	2.1 ± 0.8	1.96 ± 0.76
Filancia(cm)	5.9 ± 3.4^a	3.7 ± 2.0^b	4.79 ± 2.96
pH	7.01 ± 0.29	7.1 ± 0.3	7.06 ± 0.28

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa ($p < 0.05$)

Tabla 2. Características microscópicas del semen de alpaca ($\bar{x} \pm SD$) en época de verano e invierno.

	Verano	Invierno	Total
Variables	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Motilidad %	58±22.1 ^a	77.3±11.6 ^b	67.62±19.96
Concentración(10 ⁶ *ml)	135.9±88.7 ^a	242.4±140.9 ^b	189.16±128.14
Vivos (%)	52.9±18.4 ^a	64.5±15.9 ^b	58.67±17.99
HOST (%) (+)	56.15±15.8	49.3±13.2	52.72±14.79
Esper.normales (%)	82.6±7.2 ^a	88.1±7.0 ^b	85.32±7.56
Anorm.cola (%)	7.55±4.8 ^a	4.7±4.2 ^b	6.12±4.69
Anorm.Cabeza (%)	3.5±3.6	2.8±4.2	3.12±3.88
Gotacitoplas. prox (%)	1.7±1.4 ^a	3.2±2.6 ^b	2.40±2.21
Gotacitoplas distal (%)	4.8±5.1 ^a	1.2±1.4 ^b	3.00±4.08

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa (p<0.05)

En la tabla 3 y 4 se puede observar la variabilidad entre machos para las dos estaciones (verano e invierno), en cuanto a la estación de verano (tabla 3) las características macroscópicas, la variable volumen muestra diferencias marcadas entre los machos 1 (2.1 ± 1.1) vs 2 (1.2 ± 0.6) y 2 (1.2 ± 0.6) vs 3 (2.1±0.5); mientras que para la variable filancia se puede observar diferencias marcadas entre los machos mostrando rangos que van de 9.1cm para el macho 4 hasta 4cm para el macho 3 observando diferencia significativa entre los machos 1 (4.0±1.8) vs 3(5.8±2.8); el pH muestra diferencias significativas entre los machos 2 (7.1 ± 0.2) vs 3 (7.2 ± 0.2) y 3 (7.2 ± 0.2) vs 4 (6.8 ± 0.1).

Tabla 3. Características macroscópicas individuales del semen de alpaca, para la estación de verano ($\bar{x} \pm SD$).

Variables	Verano				
	Macho 1	Macho 2	Macho 3	Macho 4	Total
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Macroscópicas					
Volumen(ml)	2.1±1.1 ^a	1.2±0.6 ^b	2.1±0.5 ^a	2.1±0.2	1.9±0.8
Filancia(cm)	4.0±1.8 ^a	4.5±2.8	5.8±2.8 ^b	9.1±3.9	5.9±3.4
pH	7.01±0.4	7.1±0.2 ^{ab}	7.2±0.2 ^{bc}	6.8±0.1 ^{cb}	7.01±0.29

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa (p<0.05)

En la estación de invierno (Tabla 4) se puede observar diferencias que existen entre los machos para las variables volumen y filancia no siendo estadísticamente significativa. El pH en la época de invierno presenta diferencias significativas para los machos 1 (7.2 ± 0.9), 2 (6.9 ± 0.2), 3 (7.4 ± 0.1) vs el macho 4 (6.9 ± 0.3) respectivamente.

Tabla 4. Características macroscópicas individuales del semen de alpaca, para la estación de invierno ($\bar{x} \pm SD$).

Variables	Invierno				
	Macho 1 $\bar{x} \pm SD$	Macho 2 $\bar{x} \pm SD$	Macho 3 $\bar{x} \pm SD$	Macho 4 $\bar{x} \pm SD$	Total $\bar{x} \pm SD$
Macroscópicas					
Volumen(ml)	2.4±0.9	1.5±0.3	2.0±0.6	2.3±0.9	2.1±0.8
Filancia(cm)	3.2±1.3	3.8±2.8	3.8±1.6	4.1±2.6	3.7±2.0
pH	7.2±0.9 ^a	6.9±0.2 ^a	7.4±0.1 ^a	6.9±0.3 ^b	7.1±0.3

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa ($p < 0.05$)

En la estación de verano las variables microscópicas (Tabla 5) se puede observar diferencias marcadas entre los animales en la variable motilidad no siendo estadísticamente significativas; la concentración muestra diferencias para los machos 1, 3 y 4 vs el macho 2 que presentan un mayor porcentaje de concentración, no siendo significativo estadísticamente; la vitalidad espermática muestra diferencias para el macho 1 en comparación a los machos 2, 3 y 4 que presentan mayor porcentaje de espermatozoides vivos; para las variable Host, test hipoosmotico y anomalidades muestra diferencias entre machos no siendo significativo estadísticamente.

La estación de invierno (Tabla 6) muestra promedios más altos con respecto a verano, el macho 3 (70 ± 12.7) vs el macho 4 (85 ± 6.1) muestran diferencias significativas; la concentración tiene promedios variables entre todos los machos siendo el más alto el macho 2 (354.6 ± 204.4) y el más bajo el macho 3 (155.7 ± 45.7) pero no se encuentra significancia estadística entre los machos; para la variable host se puede observar diferencias significativas entre animales siendo el macho 1 (48.6 ± 5.5) vs macho 4 (58.4 ± 14.6), el macho 2 (33.8 ± 10.1) vs macho 3 (56.4 ± 4.0) y macho 2 (33.8 ± 10.1) vs macho 4 (58.4 ± 14.6) siendo estos estadísticamente significativa. Se puede ver diferencias significativas entre el macho 2 (86.4 ± 2.6) vs macho 3 (91.8 ± 4.7), en espermatozoides normales.

Tabla 5. Muestra las características microscópicas del semen de la alpaca en ($\bar{x} \pm SD$) para las muestras de verano con las medias de los machos y el total de la estación.

Variables	Verano				
	Macho 1	Macho 2	Macho 3	Macho 4	Total
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Motilidad %	53±27.1	61±18.8	47±27.7	71±7.4	58±22.1
Concentración(10 ⁶ *ml)	119.6±57.4	200.7±140.8	106.6±39.0	116.8±74.9	135.9±88.7
Vivos (%)	42.6±18.5	58.8±24	52.2±13.7	57.8±17.1	52.9±18.4
HOST (%) (+)	45.6±17.3	60.4±18.8	61.2±12.6	57.4±13.5	56.15±15.8
Esper.normales (%)	84.2±6.6	81±8.7	82.8±6.9	82.2±8.6	82.6±7.2
Anorm.cola (%)	7.2±3.9	8.6±5.4	7.4±6.7	7±4.2	7.55±4.8
Anorm.Cabeza (%)	2.2±2.2	4±4.8	3.6±2.9	4±4.7	3.5±3.6
Gotacitoplas prox (%)	2±1.87	2±1	1.6±1.7	1±1	1.7±1.4
Gotacitoplas distal (%)	4.4±5.6	4.4±5.6	4.6±5.5	5.8±5.2	4.8±5.1

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa ($p < 0.05$)

Tabla 6. Muestra las características microscópicas del semen de la alpaca en ($\bar{x} \pm SD$) para las muestras de Invierno con las medias de los machos y el total de la estación.

Variables	Invierno				
	Macho 1 $\bar{x} \pm SD$	Macho 2 $\bar{x} \pm SD$	Macho 3 $\bar{x} \pm SD$	Macho 4 $\bar{x} \pm SD$	Total $\bar{x} \pm SD$
Motilidad %	81±4.9	73±15.7	70±12.7 a	85±6.1 b	77.3±11.6
Concentración(10 ⁶ *ml)	215.8±93.5	354.6±204.4	155.7±45.7	243.5±125.5	242.4±140.9
Vivos (%)	61.2±14.0	76.6±14.8	64.4±12.7	55.8±18.5	64.5±15.9
HOST (%) (+)	48.6±5.5 ^{ad}	33.8±10.1 ^{bc}	56.4±4.0 ^c	58.4±14.6 ^{bd}	49.3±13.2
Esper.normales (%)	84.2±12.6	86.4±2.6 ^{ab}	91.8±4.7 ^{ab}	90±2.0	88.1±7.0
Anorm.cola (%)	6.4±7.2	4.4±2.3	4.2±2.6	3.8±3.9	4.7±4.2
Anorm.Cabeza (%)	4.8±8.0	4.2±1.6	0.8±0.8	1.4±1.5	2.8±4.2
Gotacitoplas prox (%)	2.6±2.3	4.2±3.1	2±2.3	3.8±2.9	3.2±2.6
Gotacitoplas distal (%)	2±2.4	0.6±0.9	1.2±0.8	1±0.70	1.2±1.4

^{ab} Letras diferentes indican diferencias significativa (p<0.05)

V.DISCUSIÓN

Los resultados del estudio señalan el efecto de la estación sobre algunas características macroscópicas y microscópicas, como filancia, motilidad, concentración, vivos/muertos, espermatozoides normales, anormalidades de cola y gota citoplasmática proximal y distal. La concentración y motilidad presentan valores más altos en invierno respecto a verano (ver Anexo Grafico 1-11). Estos resultados son contradictorios al trabajo reportado en la sierra peruana que indica que no hay diferencias estacionarias (8), pero coincidente con el estudio realizado en la costa argentina, donde se reporta que la concentración disminuye en verano y aumenta en invierno.(60)

Estas diferencias pueden ser explicadas en parte por las diferencias en las condiciones de alimentación respecto al estudio realizado en la zona andina de nuestro país, donde los animales carecen de alimento de buena calidad, hay que señalar que los animales del presente estudio fueron alimentados con heno de alfalfa y agua *ad libitum*.

La filancia se incrementa en verano respecto a la época de invierno, esta puede ser explicada porque un semen con mayor filancia parece ser un mecanismo de protección para los espermatozoides, aumentando la viscosidad en época de aumento de temperaturas. Hay que señalar que el plasma seminal cumple un papel crio protector (4) y esta puede ser la explicación ante el aumento de temperatura ambiental. En la época de verano aumenta el porcentaje de anormalidades de cola aumentando en verano y disminuyendo en invierno coincidiendo con los resultados encontrados en la zona andina (8); no se observaron efecto del factor época sobre las variables volumen, pH, test de endosmosis (+) y anormalidades de cabeza.

Los resultados obtenidos para volumen varían desde 0.5ml a 4ml para la estación de verano y de 1ml a 4ml para invierno con un promedio de 1.875 para la estación de verano y 2.05 para la estación de invierno, con una media (\bar{X}) y desviación estándar (D.S) de 1.96 ± 0.76 estos resultados están dentro del rango encontrado por otros autores(18, 62, 77); los resultados para las variables pH (7.2) y color (blanco lechoso, cristalino y amarillento) son reportados por otros autores, a pesar de las diferencias entre condiciones de estudios estas variables no se afectan, demostrando que son constantes.(66, 77)

La motilidad muestra un rango de 15% a 90% comparando con trabajos encontrados que dan un rango de 5% a 80% (78) y 19.81% a 71.99% (8), muestran que los resultados obtenidos son mejores a los reportados por otros autores, sabiendo que se utilizó el mismo método de colección (vagina artificial).

La concentración tiene un papel principal, los resultados obtenidos muestran un rango de 21 a 656×10^6 x ml, mejores a los resultados obtenidos en otros trabajos que muestran un rango de 82,500 a 250,000 ml (66) y 11.13 a 149.83×10^6 x ml (8), hay que recordar que estos trabajos fueron realizados en la sierra peruana.

En cuanto a la tinción vivos/muertos un reporte encontró un porcentaje de 58% a 83% de espermatozoides vivos(66), datos comparables a los encontrados que muestran un rango de 18% a 95% con una media de 58.67 ± 17.99 , porcentajes menores que se debe a la disminución en la época de verano por estrés térmico.

El porcentaje de normales muestra un rango de 65 a 96 para la estación de invierno y para la estación de verano de 68 a 94 con una media y desviación estándar de 88.1 ± 7.0 y 82.6 ± 7.2 correspondientes a invierno y verano respectivamente, datos que están dentro del rango encontrado por otro autor que indica un rango de 71% a

84%(66); para las anormalidades en la cabeza se encontró un porcentaje del 3.1%, para gota citoplasmática proximal y distal se encontró 2.4% y 3.0% respectivamente y para anormalidades de la cola 6.1% datos bajos en comparación a los encontrados por otro autor que da porcentajes de 6.7% para anormalidades de cabeza, 12.3% para anormalidades de cola y 3.8% para gotas citoplasmáticas.(66)

Se puede observar una alta variabilidad en las diferentes características seminales (Grafico 1-8) tanto entre machos como entre colecciones ya reportados por otros autores (8, 60, 78); sin embargo los mejores resultados se obtuvieron en la época de invierno.(8, 60)

VI.CONCLUSIONES

Las características seminales en alpacas presentan diferencias en las variables concentración, motilidad, filancia, vivos/muertos, normales/anormales, anormalidades de cola y gotas citoplasmáticas, obtenidas en verano respecto a las variables obtenidas en invierno.

Las variables encontradas en el presente estudio difieren de otros estudios atribuyéndose a ello a las diferencias en el manejo alimenticio.

VII.RECOMENDACIONES

Desarrollar estudios sobre la composición bioquímica del plasma seminal en ambas estaciones.

Realizar cortes histológicos en los testículos en ambas épocas para ver el efecto estación (verano vs invierno) en el desarrollo de los túbulos seminíferos

XII.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fernández-Baca S. Avances y perspectivas del conocimiento de los camelidos sudamericanos. 1 ed. Santiago de Chile: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe; 1991. 429 p.
2. Fowler ME. Reproduction. In: Sons. JW, editor. *Medicine and surgery of South American Camelids*. third ed: Wiley Blackwell; 2010. p. 3-16.
3. Pacheco Curie J. Métodos de colección de semen en camelidos sudamericanos. *Rev Investig Vet Perú*. 2008;9(4):1-17.
4. Troedsson MHT, Desvovsge A, Alghamdi AS, Dahms B, Dow CA, Hayna J, et al. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Anim Reprod Sci*. 2005;89(1-4):171-86.
5. Hansen PJ. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2009;364(1534):3341-50. Epub 2009/10/17.
6. Ungerfeld R. Termorregulación testicular. In: Ungerfeld R, editor. *Reproducción en los animales domésticos*. 1a ed. Montevideo: Ediciones Melibea 2002. p. 114-8.
7. Pérez-Crespo M, Pintado B, Gutiérrez-Adán A. Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. *Mol Reprod Dev*. 2008;75(1):40-7.
8. Huanca T, Mamani H, Naveros L, Pacheco J, Condor N. Variación individual y estacional de las características seminales en la alpaca (*Vicugna pacos*). *Spermova*. 2011;1(1):98-100.

9. Wheeler JC. Evolution and present situation of the South American camelidae. *Biological Journal of the Linnean Society*. 1995;54(3):271-95.
10. Kadwell M, Fernandez M, Stanley HF, Baldi R, Wheeler JC, Rosadio R, et al. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proc Biol Sci*. 2001;268(1485):2575-84. Epub 2001/12/26.
11. Marin JC, Zapata B, Gonzales BA, Bonacic C, Wheeler JC, Casey C, et al. Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. *Rev chil hist nat*. 2007;80:121-40.
12. Gentry A, Clutton-Brock J, Groves CP. The naming of wild animal species and their domestic derivatives. *J Archaeol Sci*. 2004;31(5):645-51.
13. FAO. Manual de practicas de manejo de alpacas y llamas. Roma: FAO; 1996. 130 p.
14. Lupton CJ, McColl A, Stobart RH. Fiber characteristics of the Huacaya Alpaca. *Small Rumin Res*. 2006;64(3):211-24.
15. Sumar J. Reproductive physiology in South American Camelids. In: Robinson RB, W. L, editors. *Genetics of Reproduction in Sheep*. London: Butterworth-Heinemann; 1985. p. 81-95.
16. Sumar JB. *Studies on reproductive pathology in alpacas*. Uppsala:Swedish University of Agricultural Sciences. 1983:115.
17. Smith CL, Peter AT, Pugh DG. Reproduction in llamas and alpacas: a review. *Theriogenology*. 1994;41(3):573-92. Epub 1994/02/02.
18. Bravo PW, Skidmore JA, Zhao XX. Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. *Anim Reprod Sci*. 2000;62(1-3):173-93.

19. Osorio EM, San Martín M. Aspecto histológico del epididimo, conducto deferente y glándulas sexuales accesorias del aparato reproductor masculino de la alpaca (*Glama lama pacos*). Arch Biol Andina. 1966;1(3):128-41.
20. Smith TM. Reproduction in South American Camelids. Iowa State University Veterinarian. 1985;47(2):110-5.
21. Delhon GA, von Lawzewitsch I. Light and scanning electron microscopy of the male accessory sexual glands of the llama (*lama glama*). Comunicaciones Biológicas. 1986;5(2):209-24.
22. Sumar J. Llamas y alpacas. In: Hafez E, Hafez B, editors. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2002. p. 224-42.
23. Escobar R. Mating, parturition. In: R. H, editor. The Llama, animal Breeding and Production of South American Camelids 1984. p. 358.
24. Rodríguez-Martínez H. Sperm production in the stallion. Acta Vet Scand Suppl. 1992;88:9-28. Epub 1992/01/01.
25. Illera M. Reproducción de los animales domésticos. Barcelona-España: AEDOS; 1994. 420 p.
26. Hafez E, Hafez B. Transporte y supervivencia de los gametos. In: ESE H, ., B H, editors. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2002. p. 84-112.
27. Markham C L, Donald S C. The male sex accessory tissues. Structure, androgen action and physiology. In: Knobil. E, Neill. JD, editors. The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press; 1994. p. 1435–87.

28. Bearden HJ, Fuquay JW. Reproducción animal aplicada. 1a ed. México D F: El Manual Moderno; 1982.
29. Elwishy AB. Reproduction in the male dromedary (*Camelus dromedarius*): A review. Anim Reprod Sci. 1988;17(3):217-41.
30. Galloway DB, editor. The development of the testicles in alpacas in Australia. Proceedings of the Australian Alpaca Association Conference; 2000; Canberra.
31. Delhon GA, von Lawzewitsch I. Reproduction in the male llama (*Lama glama*), a South American camelid. I. Spermatogenesis and organization of the intertubular space of the mature testis. Acta Anat (Basel). 1987;129(1):59-66. Epub 1987/01/01.
32. Hediger H. Wild animals in captivity. 1ra ed. London: Butterworths Scientific Publications; 1950.
33. Koford CB. The Vicuna and the Puna. Ecological Monographs. 1957;27(2):153-219.
34. San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. Aspects of reproduction in the alpaca. J Reprod Fertil. 1968;16(3):395-9. Epub 1968/08/01.
35. Brown CE. Rearing Wild Animals in Captivity, and Gestation Periods. Journal of Mammalogy. 1936;17(1):10-3.
36. Zuckerman S. The breeding seasons of mammals in captivity. Proceedings of the Zoological Society of London. 1952;122(3):827-950.
37. Schmidt CR. Breeding seasons and notes on some other aspects of reproduction in captive camelids. International Zoo Yearbook. 1973;13(1):387-90.
38. Solis R. Producción de camélidos sudamericanos. 1997. Imprenta rios.
39. Bustinza V. La Alpaca. Editorial universitario. 2001;Tomo I.

40. Mogrovejo D. Estudios del semen de alpacas [Medico veterinario]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.Lima-Perú; 1952.
41. Palomino H. Espermiograma y dimensiones de los espermatozoides de la alpaca. [Bachiller]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 1962.
42. Johnson LW. Llama reproduction. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1989;5(1):159-82. Epub 1989/03/01.
43. Sucapuca V. Características físicas del semen de la alpaca obtenido por el método del preservativo. [Medico veterinario y zootecnista]: Universidad Nacional del Altiplano.Puno-Peru.; 1991.
44. San martin F. Fisiología de la reproducción de la alpaca. AnSymp Sobre problemas ganaderos. 1961.
45. Fernandez-Baca S, Novoa C. Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. 1968;22:9-18.
46. Cardenas M, Vivanco M, Bravo PW. Comparación de dos métodos de colección de semen en alpacas. X Reunión científica anual del APPA. 1987.
47. Kubiceck J. Samenentnahme beim Alpaka durch eine Harnröhrenfistel. Journal of Animal Breeding and Genetics. 1974;90:16.
48. Bravo PW. The reproductive process of South American camelids. Printed by Seagull Printing, Salt Lake City USA. 2002.
49. Neely D, Bravo PW. Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. Llama Theriogenology – Youngquist. 1995.

50. Sumar J, Leyva C. Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca (*Lama pacos*). IV convención internacional sobre camélidos sudamericanos Punta arena-chile1981.
51. Vaughan. J, Galloway. D, Vaughan. D. Artificial insemination in alpacas (*Lama pacos*). Rural Industries Research and Development Corporation. 2003.
52. Davalos R, Olazabal J. Evaluación de dos formas de colección de semen en alpacas. Rev investig vet Perú. 2002;13(2):98-9.
53. Delgado P, Flores F, Fernandez R, Gonzales V, Maceda E, Copa S, et al. Técnicas de colección de semen en llamas. III Congreso mundial de camélidos Potosí-Bolivia. 2003.
54. Paricahua E. Evaluación del eyaculado sin la secreción de las glándulas anexas en alpaca. [Medico veterinario y zootecnista.]: Universidad Nacional del Altiplano.Puno-Peru.; 2001.
55. Quintano J. Determinación de la sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca (*Lama pacos*) colectados del conducto deferente con el uso de tres dilutores. [Medico veterinario y zootecnista]: Universidad Nacional del Altiplano.Puno-Peru.; 2001.
56. Copa S, Gonzales V, Maceda E. Técnica de bulbouretrectomia en llamas machos. III Congreso mundial de camélidos; Potosí-Bolivia.2003.
57. Gonzales V, Copa S. Efecto de la bulbouretrectomia y periodicidad de colección en las características macro y microscópicas del eyaculado en llamas (*Lama glama*). Camélidos, trabajos de investigación Universidad católica Boliviana San Pablo La Paz-Bolivia. 2003.
58. Turin J, Machaca M, Villanueva J, Huanca WF, Huanca W, editors. Efecto de la colección diaria de semen sobre las características espermáticas en alpacas (*Vicugna*

pacos). VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos; 2015.; Puno: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

59. Bravo PW, Moscoso R, Alarcon V, Ordonez C. Ejaculatory process and related semen characteristics. Arch Androl. 2002;48(1):65-72. Epub 2002/01/16.

60. Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). Anim Reprod Sci. 2008;104(2-4):359-69.

61. Fernandez R, Copa S, Guzman J, editors. Efecto de la edad y periodicidad de colección sobre las características macro y microscópicas del semen de llama. III Congreso mundial de camélidos; 2003; Potosí, Bolivia.

62. Quispe F. Evaluación de las características físicas del semen de la alpaca durante la época del empadre [Medico veterinario zootecnista]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.; 1987.

63. Huanca W, Gauly M. Conservación de semen refrigerado de llamas. Rev investig vet Perú. 2001;1:460-4.

64. Virgilio AB, Wilber GV, Bravo. PW. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. Rev investig vet Perú. 2012;23(1):68-4.

65. Sumar J. Fisiología de la reproducción del macho y manejo reproductivo. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos: Santiago de Chile. 1991(Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe).

66. Bravo PW, Flores U, Garnica J, Ordonez C. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Theriogenology. 1997;47(3):619-26. Epub 1997/02/01.

67. Eliana V. Evaluacion de dos tecnicas de coleccion de semen en llamas (*Lama glama*) en la estacion experimental de choquenaira. La Paz - Bolivia.: Universidad Mayor de san andres.; 2013.
68. Bredderman PJ, Foote RH. Volume of stressed bull spermatozoa and protoplasmic droplets, and the relationship of cell size to motilityd fertility. J Anim Sci. 1969;28(4):496-501. Epub 1969/04/01.
69. Jeyendran S, Van der Ven H, Perez-Pelaez M, Crabo G, Zaneveld J. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. J Reprod Fertil. 1984;70(1):219-28. Epub 1984/01/01.
70. Vásquez J, Florentini EA, Valdivia M. Hypoosmotic Swelling Test in Alpaca (*Vicugna pacos*) Epididymal Spermatozoa. Reprod Domest Anim. 2012;47(6):e83-e7.
71. Pachecho curie J, Mamani Cato R, Franco F, Zea O, Pezo D, Velez V. Efecto de la osmolaridad sobre la respuesta endosmotica en espermatozoides de epididimo y eyaculados de alpaca (*Vicugna pacos*). Spermova. 2014;4(1):36-8.
72. Bravo PW, Alarcon V, Baca L, Cuba Y, Ordonez C, Salinas J, et al. Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American camelids. Anim Reprod Sci. 2013;136(3):157-63. Epub 2012/11/17.
73. Urquieta B, Flores P, Muñoz C, Bustos-Obregón E, García-Huidobro J. Alpaca semen characteristics under free and directed mounts during a mating period. Anim Reprod Sci. 2005;90(3–4):329-39.
74. Bravo PW, Flores D, Ordonez C. Effect of repeated collection on semen characteristics of alpacas. Biol Reprod. 1997;57(3):520-4. Epub 1997/09/01.
75. Hansen PJ. Use of a Hemacytometer 2000:[10-5 pp.].

76. Morton KM, Vaughan JL, Maxwell WC. Continued development of artificial insemination technology in alpacas: Rural Industries Research and Development Corporation; 2008.
77. Garnica J, Achata R, Bravo PW. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim Reprod Sci.* 1993;32(1):85-90.
78. Juyena NS, Vencato J, Pasini G, Vazzana I, Stelletta C. Alpaca semen quality in relation to different diets. *Reprod Fertil Dev.* 2013;25(4):683-90. Epub 2012/09/07.

Anexos

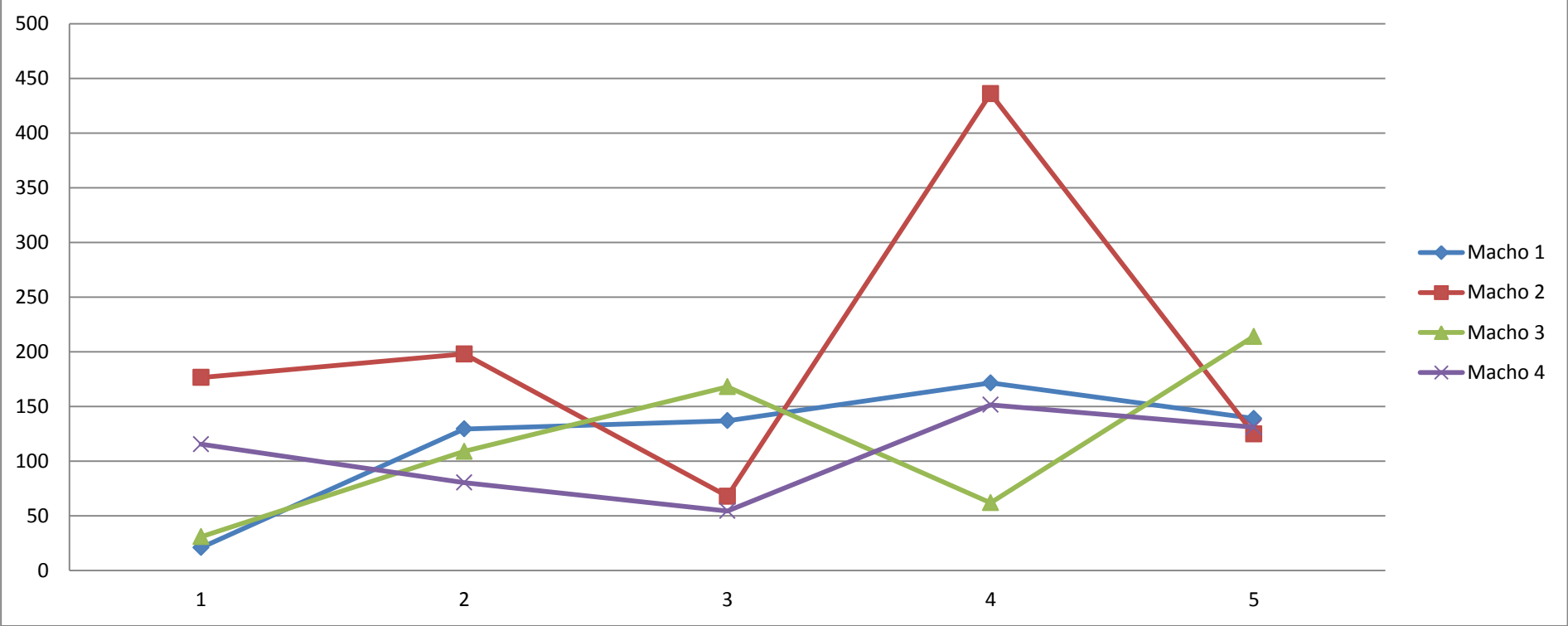


Grafico 1 Concentración en la época de verano

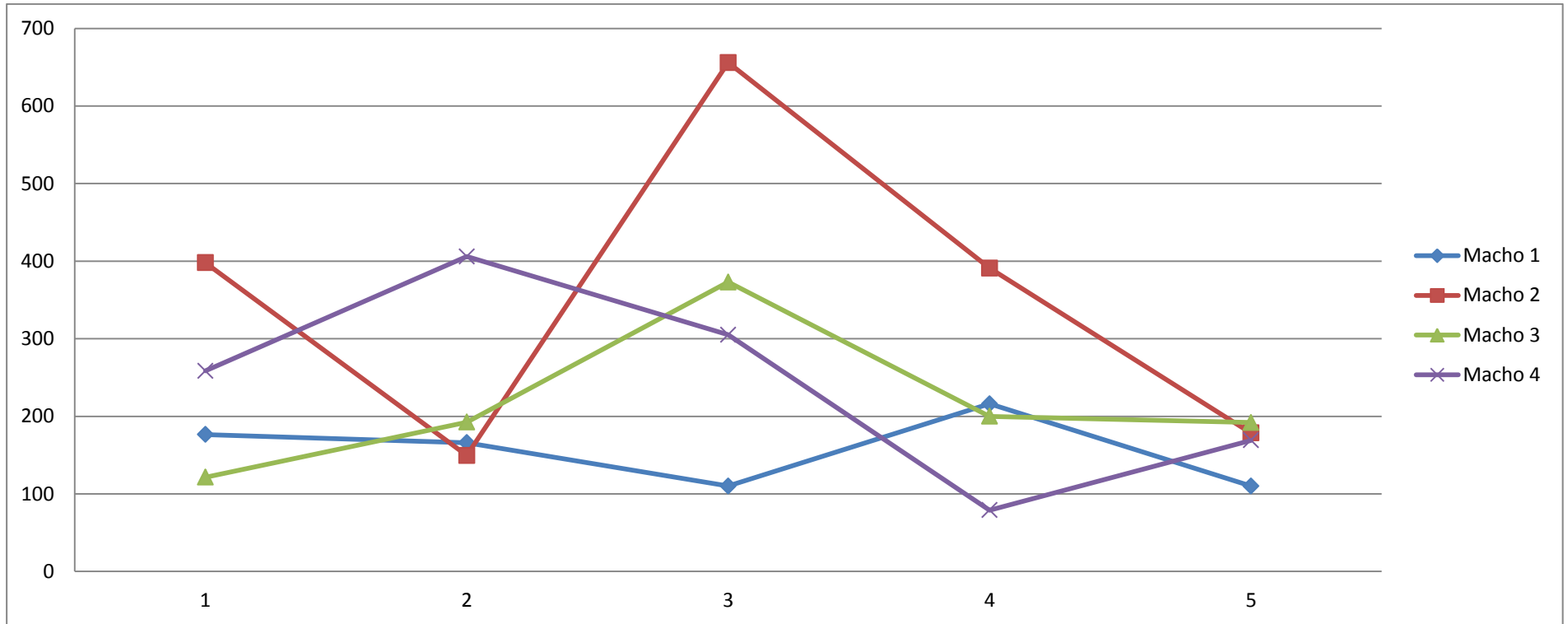


Grafico 2 Concentración en la época de Invierno

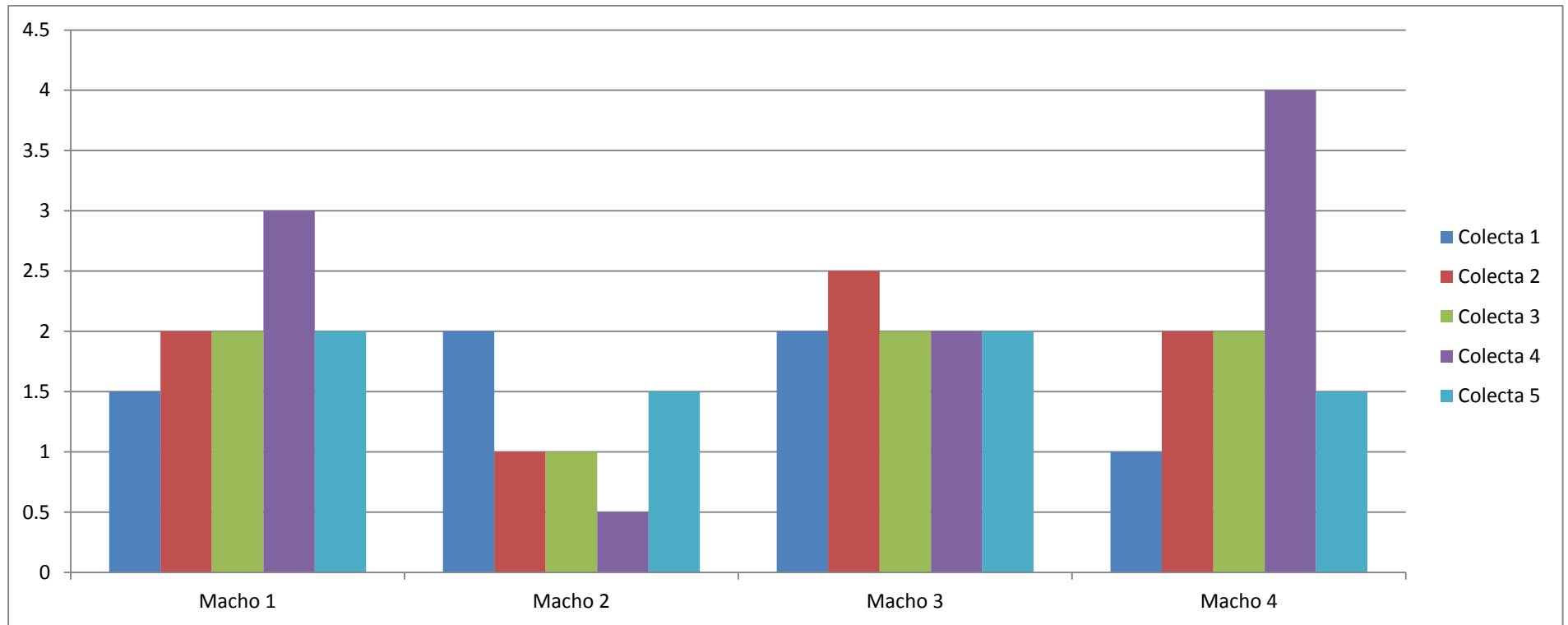


Grafico 3 Volumen en la época de verano

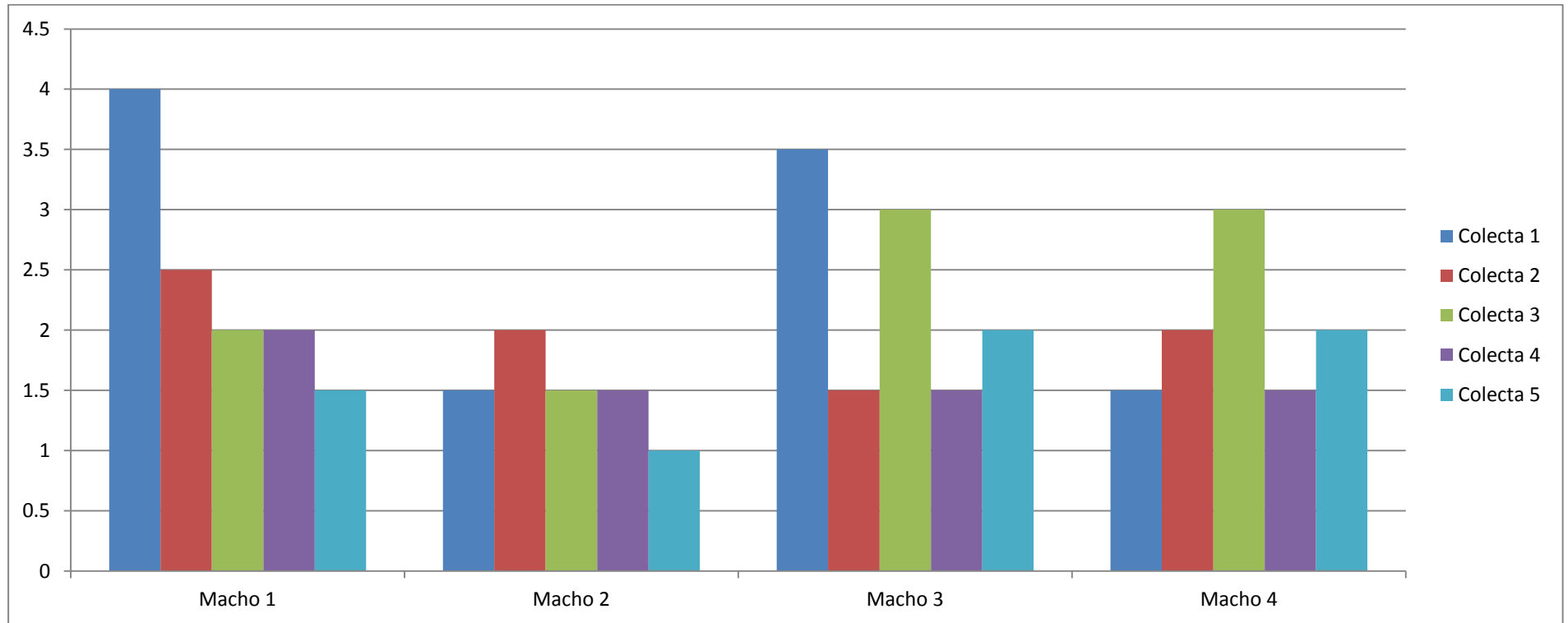


Grafico 4 Volumen en la época de invierno

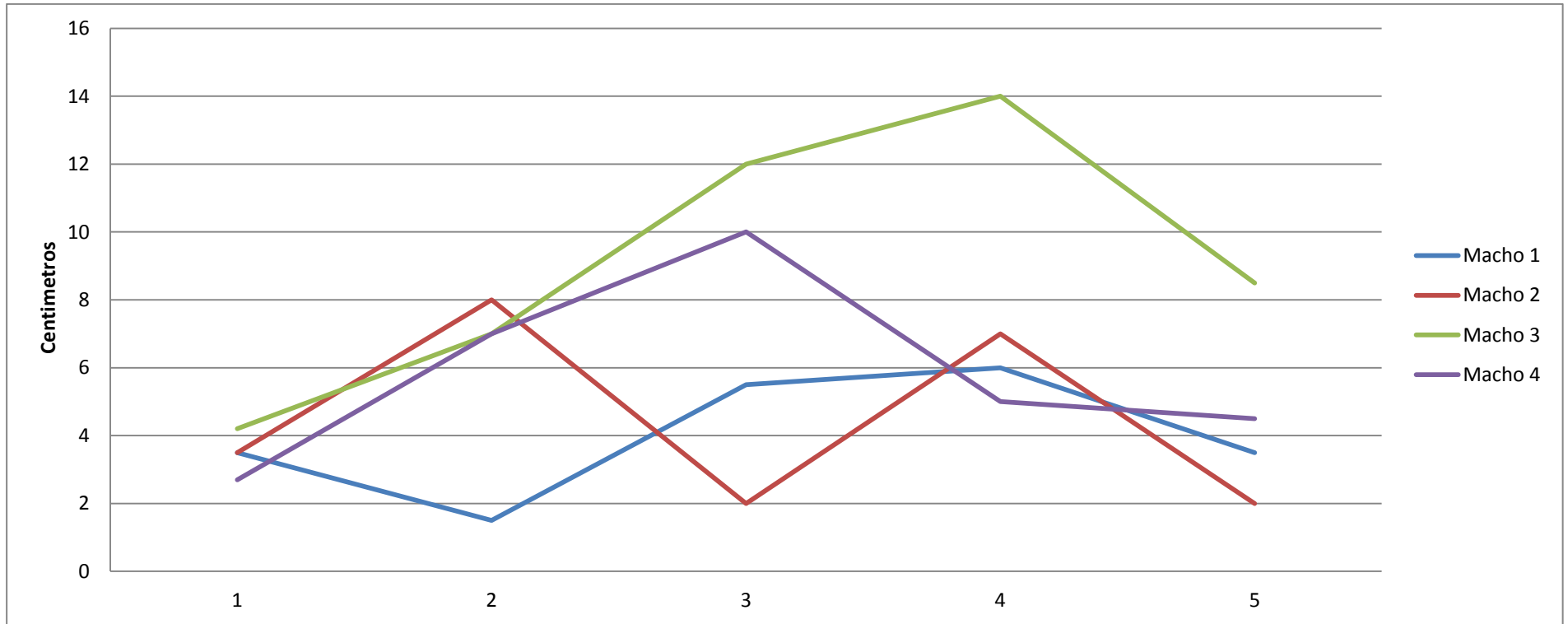


Grafico 5 Filancia en la época de verano

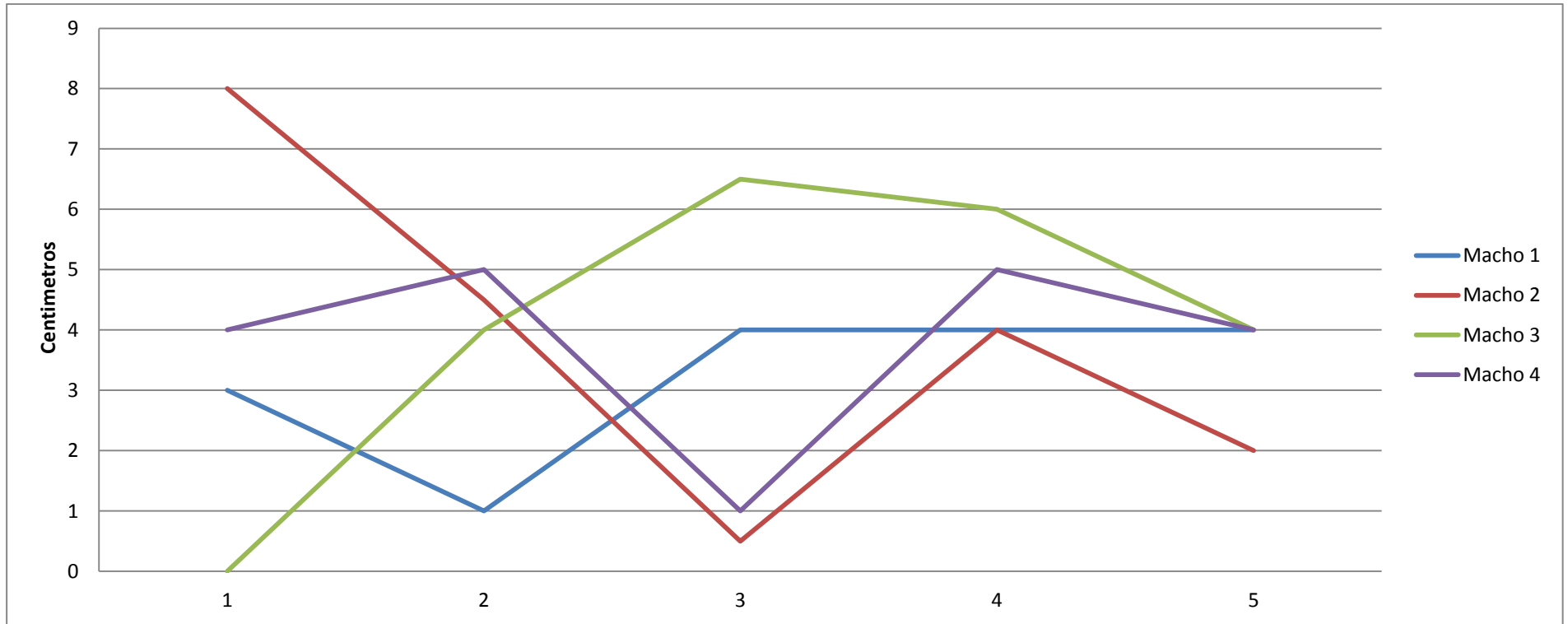


Grafico 6 Filancia en la época de invierno

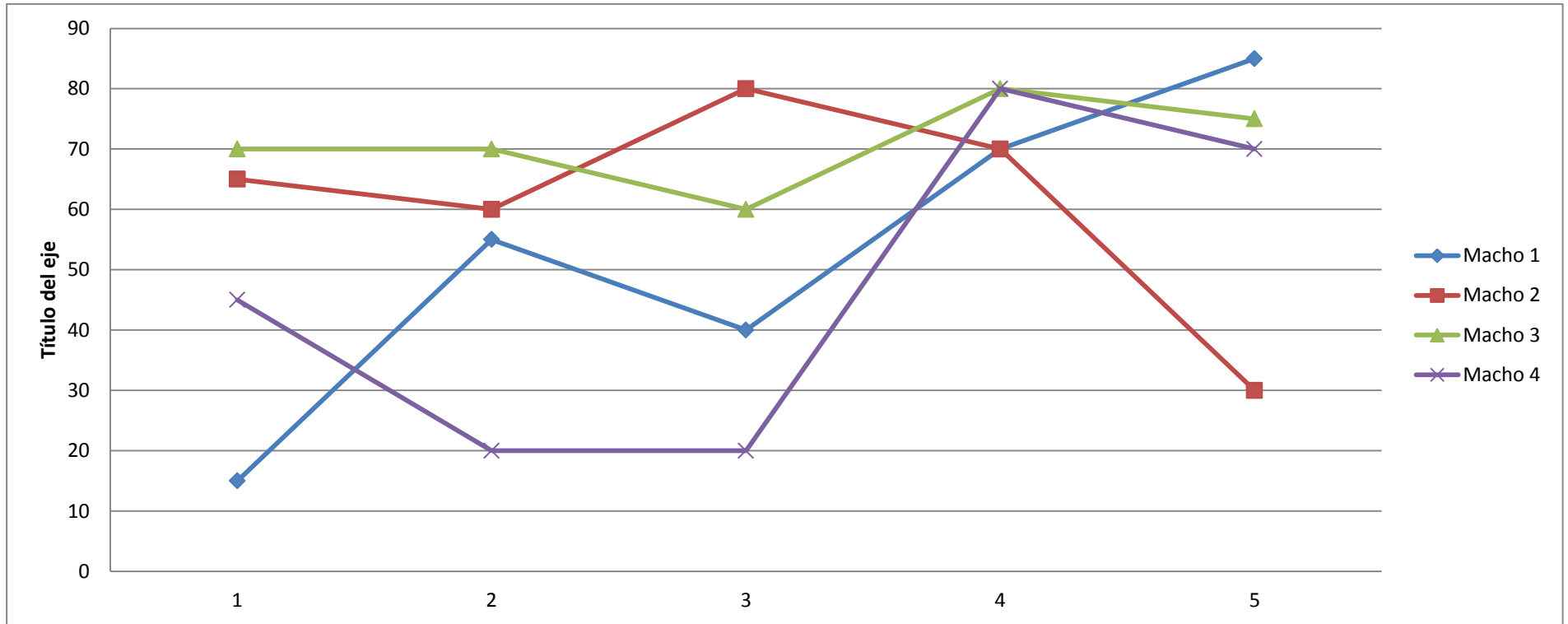


Grafico 7 Motilidad en la época de verano

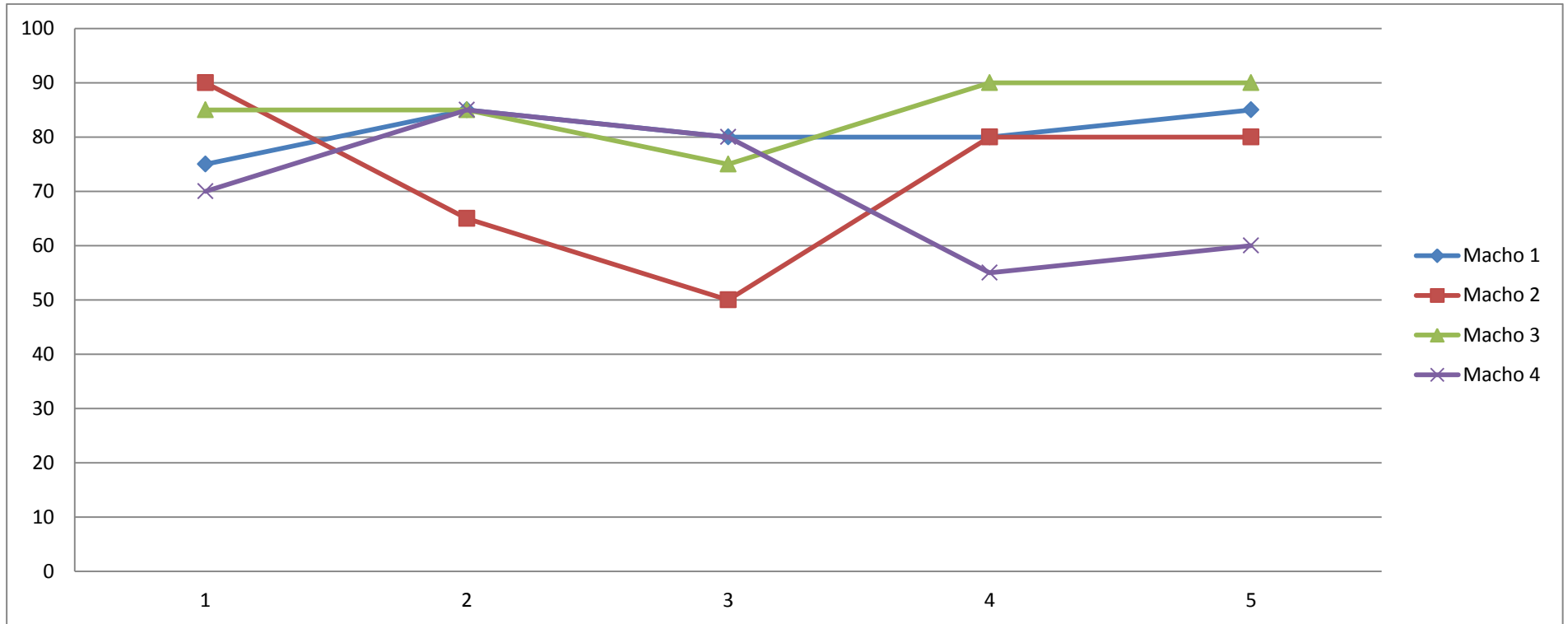


Grafico 8 Motilidad en la época de invierno

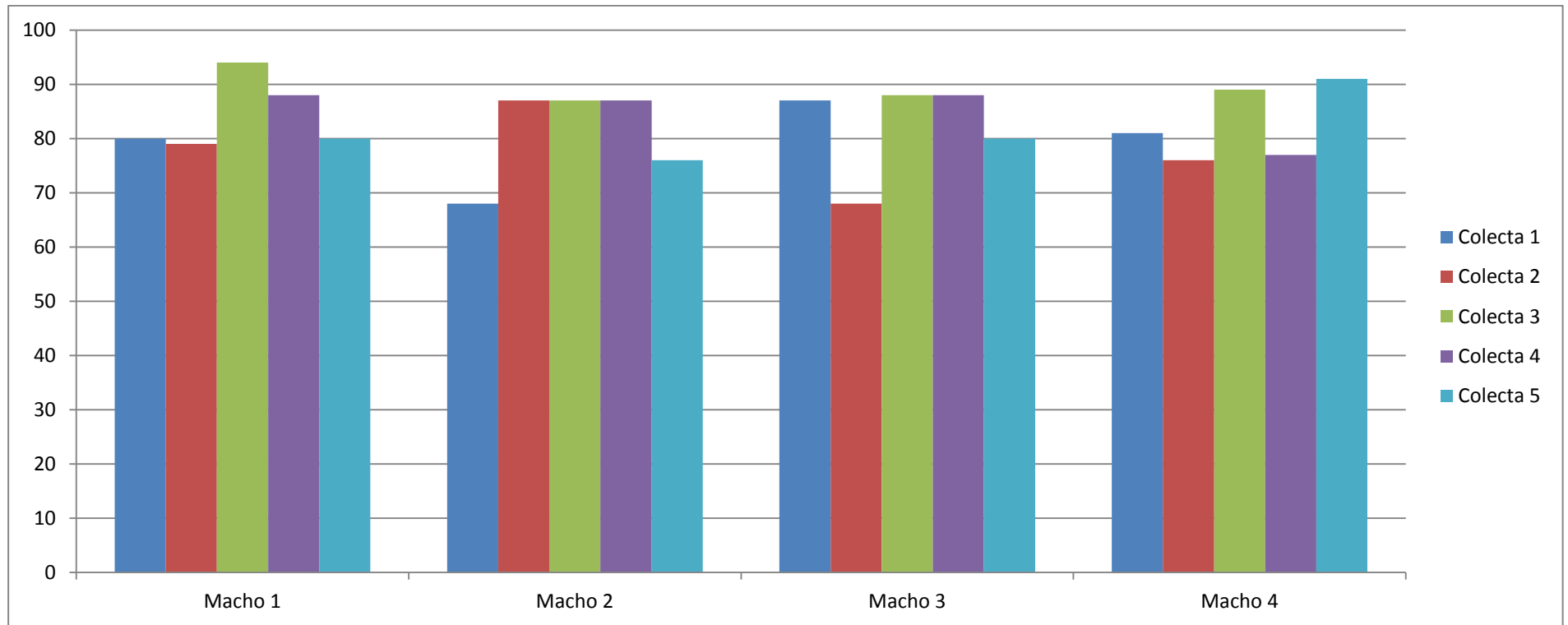


Grafico 9 Espermatozoides normales en la época de verano

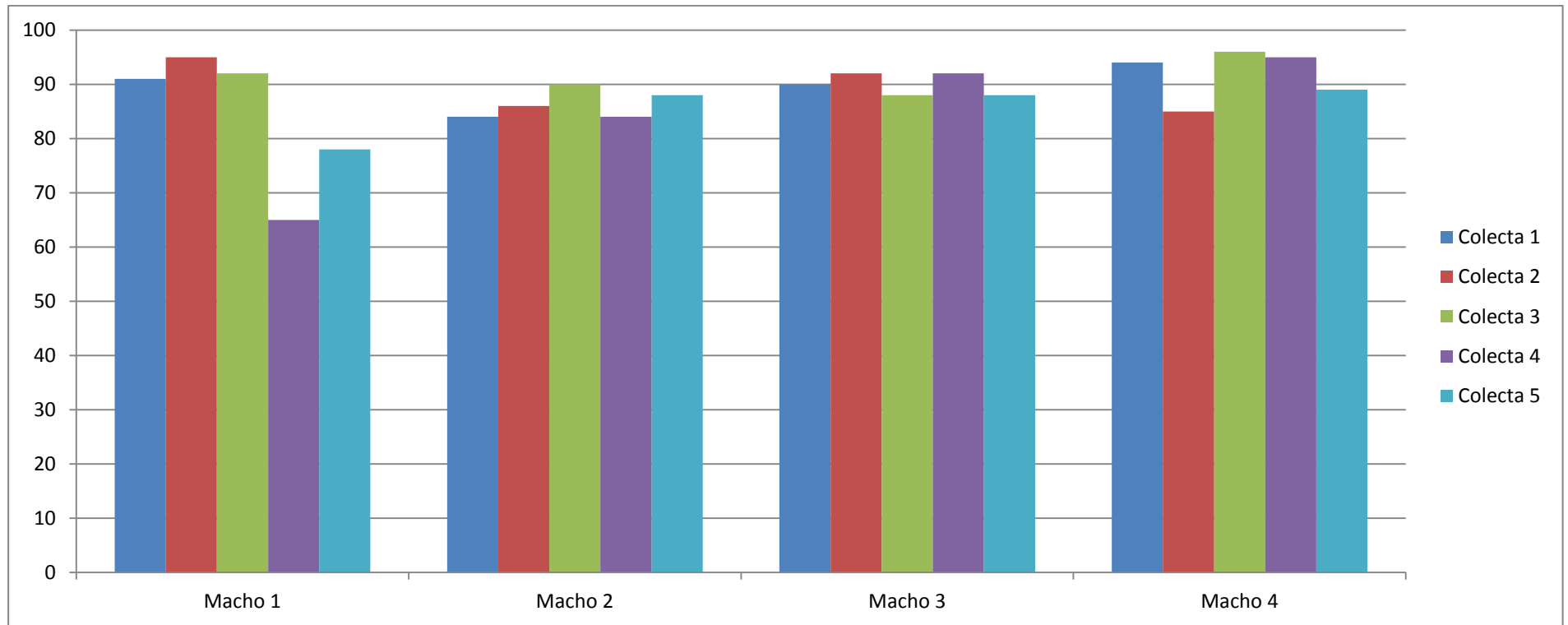
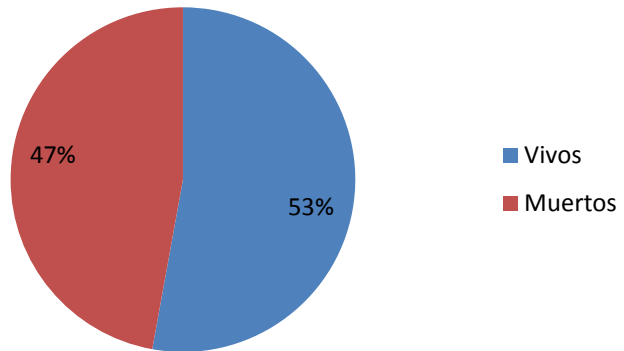


Grafico 10 Espermatozoides normales en la época de invierno

Vivos/Muertos Epoca de Verano



Vivos/Muertos Epoca de Invierno

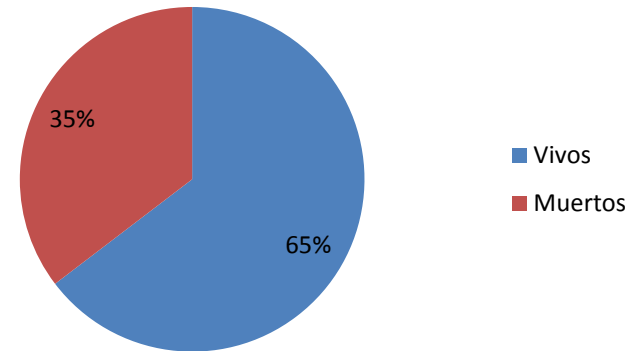


Grafico 11 Vivos/muertos en las épocas de verano e invierno

Imagen n° 1 Describe la realización de la filancia

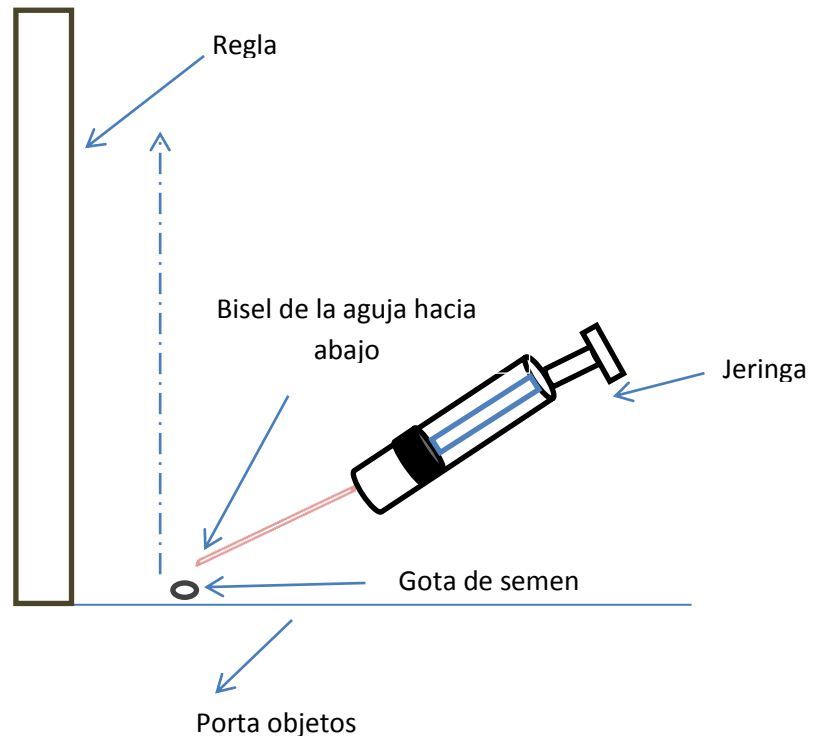


Imagen n° 2 Partes de la vagina artificial



Imagen n° 3 Muestra la colección de semen

