



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA**

**“EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y  
MICROSCÓPICAS DE SEMEN FRESCO DE ALPACAS EN LA ESTACIÓN  
EXPERIMENTAL AÑA MOYOCANCHA CON LA APLICACIÓN DE  
OLIGOELEMENTOS”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL**

**Previo a la obtención del título de:**

**INGENIERA ZOOTECNISTA**

**AUTORA**

**JOHANA ELIZABETH GARCES CABRERA**

**Riobamba-Ecuador**

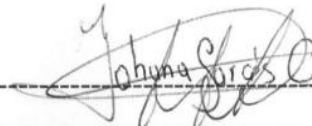
**2017**

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **JOHANA ELIZABETH GARCÉS CABRERA**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 30 de noviembre de 2017



-----  
**JOHANA ELIZABETH GARCÉS CABRERA**

C.I. 060425265-0

Este Trabajo de Titulación fue aprobado por el siguiente Tribunal:



---

Ing. M.C. Paula Toalombo

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



---

Dr. Nelson Duchí Duchí PhD.

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**



---

Ing. M.C. Hermenegildo Díaz Berrones.

**ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Riobamba, 30 de noviembre de 2017

## AGRADECIMIENTO

Dios, tu amor y tu bondad no tienen fin, me permites sonreír ante todos mis logros que son resultados de tu ayuda, y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo de mis errores y me doy cuenta que lo pones en frente mío para que mejore como ser humano, y crezca de diversas maneras.

Este trabajo de tesis ha sido una gran bendición en todo sentido y te lo agradezco a ti PADRE CELESTIAL porque me regalaste a tu único hijo JESUS que fue y siempre será mi escudo ante toda guerra y como no agradecer a mis padres amados Néstor Garcés y Ángela Cabrera que con su ejemplo y apoyo hacen de mí una mujer valiente y humilde. Son muchas las personas que han formado parte de mi vida como son mis hermanos Rafael, María Angélica, Carmita y Liliana a quienes los agradezco por su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida, pues como no agradecer a mi cuñado Jacob Parada por su apoyo incondicional. Y a todas aquellas personitas que están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Johana Elizabeth Garcés Cabrera.

## DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios y a mis padres. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ello que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida

Johana Elizabeth Garcés Cabrera.

## CONTENIDO

Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	
<b>I. <u>INTRODUCCIÓN</u></b>	<b>1</b>
<b>II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u></b>	<b>3</b>
<b>A. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE LA ALPACA MACHO</b>	<b>3</b>
<b>1. Anatomía del tracto reproductivo</b>	<b>3</b>
a. Prepucio	3
b. Pene	3
c. Testículos	4
d. Epidídimo	4
e. Glándulas sexuales accesorias	5
<b>2. Pubertad</b>	<b>5</b>
<b>3. Estacionalidad</b>	<b>6</b>
<b>4. Comportamiento sexual, cópula y eyaculación</b>	<b>7</b>
<b>5. Espermatogénesis</b>	<b>9</b>
a. Espermatocitogénesis	9
b. Espermiogénesis	10
c. Control hormonal de la espermatogénesis	11
<b>B. COLECCIÓN DE SEMEN EN ALPACAS MACHO</b>	<b>12</b>
<b>1. Fundas vaginales</b>	<b>12</b>
<b>2. Esponjas vaginales</b>	<b>12</b>
<b>3. Electroeyaculación</b>	<b>13</b>
<b>4. Fístula uretral</b>	<b>13</b>
<b>5. Aspiración vaginal postcoital</b>	<b>14</b>
<b>6. Vagina artificial</b>	
<b>7. Desviación de los conductos deferentes</b>	
<b>8. Bulbourectomía</b>	
	16
<b>C. FACTORES RELACIONADOS CON LA COLECCIÓN</b>	<b>16</b>

1. Frecuencia de colección	16
2. Duración de la cópula	17
3. Época	17
4. Edad	18
<b>D.CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN DE ALPACA</b>	18
1. Características físicas	18
a. Color	20
b. Viscosidad	20
c. Volumen	20
d. pH	20
e. Concentración	21
f. Mortalidad	21
g. Plasma seminal	21
2. Características bioquímicas	22
3. Morfología espermática	23
4. Anormalidades del espermatozoide	24
5. Factores que afectan las características del semen	25
a. El efecto de la duración de la cópula sobre las características seminales	25
b. El efecto de colecciones sucesivas sobre las características seminales	25
c. El efecto macho sobre las características seminales	25
d. El efecto de la edad sobre las características seminales	26
<b>E.SITUACIÓN DE LOS CAMÉLIDOS A NIVEL NACIONAL</b>	26
1.Importancia de los CSA en el Ecuador	26
2. Repoblación de CSA en el Ecuador	27
3. Censo y distribución de CSA en Ecuador	27
4. Población de CSA en la provincia de Chimborazo	28
<b>A.LOS OLIGOELEMENTOS</b>	30
1. Generalidades	30
a. Calcio	31
b. Cobalto	31
c. Cobre	31
d. Flúor	31
e. Fósforo	32

f. Hierro	32
g. Manganeseo	32
h. Magnesio	32
i. Potasio	33
j. Selenio	33
k. Sodio	33
l. Yodo	33
m. Zinc	33
<b>2. Oligoterapia en los animales</b>	<b>34</b>
a. Principales indicaciones para la oligoterapia	34
b. Oligoterapia en Veterinaria	34
<b>III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u></b>	<b>36</b>
<b>A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO</b>	<b>36</b>
<b>B. UNIDADES EXPERIMENTALES</b>	<b>36</b>
<b>C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES</b>	<b>37</b>
1. Materiales	37
2. Equipos	37
3. Instalaciones	38
<b>D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>38</b>
<b>E. MEDICIONES EXPERIMENTALES</b>	<b>39</b>
1. Características macroscópicas	39
2. Características microscópicas	39
<b>F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA</b>	<b>40</b>
<b>G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>40</b>
1. De campo	40
a. Selección de alpacas macho	40
b. Manejo del semen	41
c. Evaluación seminal	41
d. Programa sanitario	41
<b>H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN</b>	<b>41</b>
1. Concentración	4
2. Volumen	42
3. pH	42
4. Motilidad en masa e individual	43



5. Vitalidad espermática	44
6. Espermatozoides anormales	44
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	45
A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, BAJO LA INFLUENCIA DE OLIGOELEMENTOS.	45
1. <u>Largo testicular</u>	45
2. <u>Ancho testicular</u>	45
3. <u>Color, olor y aspecto</u>	47
4. <u>Volumen del eyaculado</u>	48
5. <u>Potencial hidrógeno</u>	48
6. <u>Concentración espermática/mL</u>	48
7. <u>Concentración espermática/eyaculado</u>	50
8. <u>Motilidad masal</u>	52
9. <u>Motilidad individual</u>	52
10. <u>Vitalidad espermática</u>	54
11. <u>Mortalidad espermática</u>	55
12. <u>Anormalidades de la cabeza</u>	55
13. <u>Anormalidades del cuello</u>	55
14. <u>Anormalidades de la cola</u>	57
15. <u>Anormalidades totales</u>	57
B. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, SOMETIDOS A DIFERENTES INTERVALOS DE EXTRACCIÓN.	59
1. <u>Largo testicular</u>	59
2. <u>Ancho testicular</u>	59
3. <u>Color, olor y aspecto</u>	61
4. <u>Volumen del eyaculado</u>	62
5. <u>Potencial hidrógeno</u>	54
6. <u>Concentración espermática/mL</u>	54
7. <u>Concentración espermática/eyaculado</u>	54
8. <u>Motilidad masal</u>	66
9. <u>Motilidad individual</u>	66
10. <u>Vitalidad espermática</u>	66
11. <u>Mortalidad espermática</u>	69

12. <u>Anormalidades de la cabeza</u>	69
13. <u>Anormalidades del cuello</u>	69
14. <u>Anormalidades de la cola</u>	70
15. <u>Anormalidades totales</u>	70
<b>V. <u>CONCLUSIONES</u></b>	72
<b>VI. <u>RECOMENDACIONES</u></b>	73
<b>VII. <u>LITERATURA CITADA</u></b>	74

## RESUMEN

En la Estación Experimental Aña Moyocancha, ubicada en la parroquia Tixán Cantón Alausí, Provincia de Chimborazo, se estudió el efecto de dos factores: el factor A constó del suministro de Oligoelementos parenteral y el factor B estuvieron representados por tres intervalos de extracción seminal (2, 4, 6 días) en alpacas machos de la raza Huacaya y comparados con un tratamiento control, bajo un Diseño Completamente al Azar con un arreglo bi factorial y dos repeticiones. Los resultados se analizaron con el programa estadístico SAS, los mejores resultados fueron ( $P \leq 0,01$ ) al suministrar oligoelementos tales como el volumen de eyaculado (1,95 ml), concentración espermática ( $61,67 \times 10^6$  Spz/ml), motilidad masal (81,25 %), motilidad individual (4,63 ptos), vitalidad espermática (71,25 %), anomalías totales (4,53 %). La mejor frecuencia e intervalo de extracción fue con 6 días ( $p \leq 0,1$ ) obteniéndose un mayor volumen de eyaculado (1,95 ml), concentración espermática ( $119,22 \times 10^6$  Spz/Eyaculado), motilidad masal (81,25 %), además el uso de oligoelementos e intervalos de extracción a los (6 días) mejora las características sensoriales como el color, olor y aspecto deduciendo también que la actividad de la espermatogénesis y la producción de espermatozoides se vio estimulada, influyendo sobre el diámetro mayor y menor de los testículos, otro aspecto fue que la aplicación de los oligoelementos reduce la anomalía espermática. Por lo que se recomienda utilizar oligoelementos y 6 días de intervalo de extracción en alpacas machos durante la etapa reproductiva, debido a que en la presente investigación se obtuvieron los mejores resultados.

Palabras clave: alpacas – extracción seminal – oligoelementos.



## ABSTRACT

At the Aña Moyocancha Experimental Station, located in the Tixán Canton Alausí, Chimborazo Province, was studied the effect of two factors: factor A consisted of the supply of parenteral trace elements and factor B were represented by three intervals of seminal extraction (2, 4, 6 days) in male alpacas of the Huacaya and compared with a control treatment, under a Completely Random Design with a bi-factorial arrangement and two repetitions. The results were analyzed with the statistical program SAS, the best results were ( $P \leq 0, 01$ ) to provide trace elements such as the volume of ejaculate (1, 95 ml), sperm concentration ( $61, 67 \times 10^6$  Spz / ml), motility mass (81, 25%), individual motility (4, 63 pts), sperm vitality (71, 25 %), total abnormalities (4.53 %). The best frequency and interval of extraction was 6 days ( $P \leq 0.1$ ), obtaining a greater volume of ejaculate (1,95 ml), sperm concentration ( $119,22 \times 10^6$  Spz / Ejaculate), mass motility (81,25 %), in addition the use of trace elements and extraction intervals at (6 days) improves sensory characteristics such as color, smell and appearance also inferring that the activity of spermatogenesis and sperm production was stimulated, influencing the larger diameter and smaller testicles, another aspect was that the application of trace elements reduces sperm abnormality. Therefore, it is recommended to use trace elements and 6 days of extraction interval in male alpacas during the reproductive stage, because in the present investigation the best results were obtained.

Key words: alpacas – extraction seminal - oligoelementos.



**LISTA DE CUADROS**

No.Pág.

1. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN DE ALPACA Y LAS CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN.	20
2. COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DEL SEMEN DE ALPACAS.	23
3. TOTAL DE CSA POR ESPECIE EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.	
4. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AÑA MOYOCANCHA.	33
5. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	35
6. ESQUEMA DEL ADEVA.	37
7. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, BAJO LA INFLUENCIA DE OLIGOELEMENTOS.	42
8. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, SOMETIDOS A DIFERENTES INTERVALOS DE EXTRACCIÓN.	55

**LISTA DE GRÁFICOS**

No.Pág.

1. Volumen del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos. 45
2. Concentración espermática del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos. 47
3. Motilidad masal del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos. 49
4. Vitalidad espermática del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos. 51
5. Anormalidades totales del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos. 53
6. Volumen del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción. 58
7. Concentración espermática del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción. 60
8. Motilidad del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción. 61
9. Vitalidad espermática del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción. 63
10. Anormalidades totales del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción. 66

## **LISTA DE ANEXOS**

1. Evaluación de las características testiculares y seminales del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos y diferentes intervalos de extracción.

## **I. INTRODUCCIÓN**

La crianza de los camélidos domésticos, como las alpacas, es una de las actividades que se está tratando con mayor importancia en el desarrollo socio económico de la población alto andina de nuestro país, no solo por su capacidad de adaptación a las difíciles condiciones medioambientales sobre los 4000 msnm, sino por su utilización como una fuente alimenticia de proteína de origen animal y medio de transporte y, en el caso de la alpaca, para la producción de fibra de buena calidad.

Las biotecnologías reproductivas han contribuido al progreso genético de diferentes especies ganaderas. Es por eso que el interés en la aplicación de estas tecnologías en los camélidos sudamericanos, ha ido en aumento los últimos años, ya que se está realizando una gran difusión de sus características productivas, tanto de las especies domésticas como silvestres, dentro de los cuales resalta la alpaca debido a la excelente calidad de fibra.

Actualmente se han desarrollado dispositivos de colección y protocolos de conservación seminal para alpacas machos, sin embargo, existe escasa información sobre procedimientos e intervalos de colección seminal a fin de obtener semen de calidad, que será utilizado en inseminación artificial.

Por otro lado, es importante resaltar el papel fundamental que cumplen los oligoelementos dentro del aspecto reproductivo ya que representan sustancias químicas que se encuentran en pequeñas cantidades en el organismo y participan en varias funciones corporales en donde cada elemento tiene un rango óptimo de concentración estimulando el sistema inmunitario, que crea resistentes defensas, favoreciendo finalmente los rendimientos productivos y reproductivos.

Por lo anteriormente descrito en la presente investigación se ha evaluado la aplicación de oligoelementos, así como el intervalo de colección seminal en alpacas machos a fin de determinar parámetros que permitan mejorar los procedimientos reproductivos aplicados convencionalmente, sin olvidar que la consecución de este objeto depende de la capacidad reproductora de los



sementales utilizados, lo que nos permitirá la aplicación de programas de mejoramiento genético en la zona central del país.

En relación a lo anteriormente descrito en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Identificar las características testiculares y seminales en alpacas machospertenecientes a la Estación Experimental Aña Moyocancha.
- Valorar la influencia de los oligoelementos, sobre las características macroscópicas y microscópicas del semen fresco en alpacas.
- Determinar el intervalo de extracción de semen apropiado en alpacas, para su posterior conservación.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **A. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE LA ALPACA MACHO**

#### **1. Anatomía del tracto reproductivo**

Es importante conocer e identificar los órganos del macho involucrados en el proceso de la reproducción, es necesaria para discutir los rasgos a examinar en un reproductor, así como algunas medidas de manejo a tomar durante el empadre. El sistema reproductivo de alpaca machos presenta varias características anatómicas y fisiológicas distintivas de otras especies animales (Tibary, 2006).

##### **a. Prepucio**

El prepucio tiene forma triangular, aplanado de lado a lado, es no pendular y se sitúa en la línea media de la región inguinal a 15 cm caudal al ombligo presentan músculos bien desarrollados (músculos prepuciales laterales y los músculos prepuciales craneal y caudal), que dirigen el prepucio hacia delante para la respectiva erección y hacia atrás para poder orinar (Sumar, 2002).

##### **b. Pene**

En los CSA, el pene se origina en la región del arco isquiático, y está compuesta por: raíz, cuerpo, porción libre y las glándulas peneanas (Sumar, 2002).

El pene es fibroelástico, y su extremo presenta una forma de un gancho curvo, en dirección de las manecillas del reloj, con una pequeña proyección cartilaginosa de 1 cm de longitud que corresponde al “proceso uretral” en donde juega un rol en la dirección del pene hacia la cérvix en el momento de la cópula, los cuales atraviesan los anillos cervicales mediante movimientos rotacionales y de protrusión, y depositando el semen en el útero (Tibary, 2006).

El pene erecto en la alpaca tiene un tamaño de 35 a 40 cm y la flexura sigmoidea es pre escrotal, y no se llega a expandir con la erección. Esta flexura sigmoidea

permite a la alpaca macho la retracción del pene al prepucio cuando no hay erección (Sumar, 2002).

### **c. Testículos**

En las alpacas machos adultos, los testículos se observan en un escroto no pendular sin un cuello definido y formando una protuberancia subanal. El tamaño de los testículos son relativamente pequeños en comparación a otras especies animales (Tibary, 2006).

La medida de cada testículo esta entre 4 y 5 cm de longitud y 2.5 a 3.0 cm de grosor y pesa 15-18 g, siendo el 0.02 – 0.03 % de su peso corporal (Sumar, 1983). Presentan una forma ovoide y están orientados dorso-ventral, con la cabeza del epidídimo en ventral y la cola del epidídimo en dorsal. A diferencia de carneros y toros, en los cuales la cola del epidídimo está ubicada en posición ventral (Bravo, 2002).

En si en condiciones normales, los dos testículos son del mismo tamaño, firmes, con un movimiento libre dentro del escroto y lo que presenta una variación de tamaño relativa a la edad adulta (Tibary, 2006).

### **d. Epidídimo**

El epidídimo está debidamente conectado con los testículos y formado por cabeza, cuerpo y cola (Sumar, 2002). En donde la cabeza es más larga que la cola y se encuentra en posición craneo ventralmente al testículo.

El cuerpo del epidídimo se extiende en posición medial y dorsocaudal a la cola, la cual se ubica dorsal al testículo. En donde la cabeza y el cuerpo son sitios para la maduración espermática, mientras que la cola está asociada al almacenamiento de los respectivos espermatozoides (Elwishy, 2008).

En cambio que la cola se encorva para dar origen al conducto deferente. En donde presenta una longitud promedio total de 40 cm y es muy delgado en su inicio (1

mm), pero se engrosa (2 mm), cuando alcanza la cavidad abdominal. En donde el recorrido va desde la parte de la cola del epidídimo a través del anillo inguinal hacia la uretra, caudalmente al cuello de la vejiga donde existe una pequeña ámpula (Bravo, 2012).

#### **e. Glándulas sexuales accesorias**

La próstata y las glándulas bulbouretrales son las glándulas sexuales accesorias, ya que los camélidos no poseen glándulas vesiculares, siendo esta ausencia una de las características más resaltantes en los camélidos sudamericanos (Bravo, 2000).

La próstata de la alpaca macho tiene forma de una H; en donde descansa en posición dorsal y lateralmente sobre el cuello de la vejiga. Presenta un tamaño aproximado de 3 por 2 cm, y lo cual no es fácil palparla por el recto (Sumar, 2002).

Las dos glándulas bulbouretrales presentan una forma ovoide, son pares, y están localizadas de 7 a 8 cm de la próstata a los lados de la uretra, en la salida pélvica (Novoa, 2006).

## **2. Pubertad**

En general, la pubertad ocurre cuando ya el macho tiene la capacidad de producir espermatozoides (Sumar, 2002).

Al nacer el animal, los testículos son de tamaño pequeño y muy flácidos, miden escasamente 0.5 cm de diámetro mayor, no se encuentran presentes en el escroto y a la palpación digital no hay diferencia entre el testículo y el epidídimo. El mecanismo del descenso testicular no está bien descrito, definitivamente, a los doce meses de edad, los testículos deben estar ubicados en el escroto y las partes del epidídimo también deben ser reconocidas mediante la palpación (Bravo, 2002).

También, al nacimiento de las alpacas macho, el pene se encuentra adherido por completo al prepucio y las concentraciones de testosterona en la sangre están en niveles basales (60-90 pg/ml) (Galloway, 2000).

En los túbulos seminíferos de las alpacas machos, la espermatogénesis inicia a los 12 meses de edad; aunque algunos autores indican que se inicia en algunas alpacas a partir de los 16 meses de edad, y en otras alpacas hasta los 26 meses de edad. Sin embargo, la madurez sexual generalmente es determinada por la edad en la cual desaparece la adhesión entre el pene y el prepucio y los machos se vuelven capaces de tener una erección completa, y no desde el momento en que se está produciendo espermatozoides viables.

Conforme los machos van madurando, los testículos se van agrandando y los niveles de testosterona en la sangre se incrementan a más de 1000pg/mlaproximadamente a los 20 meses de edad en la mayoría de alpacas (Bravo, 2000).

Las adherencias van desapareciendo en forma gradual con el crecimiento del animal bajo la influencia de los niveles de testosterona. Lo cual apesar de que al año de edad, los machos muestran interés sexual por presencia de las hembras, sólo cerca del 8% de las alpacas macho muestran una separación completa de las adherencias entre el pene y el prepucio y son capaces de realizar la copulación. A los dos años de edad, cerca del 70% de los machos no tiene adherencias, y 100% a los tres años de edad (Sumar, 2002).

### **3. Estacionalidad**

En esta especie animal la alpaca presenta una actividad reproductiva estacional en condiciones naturales, que tiene lugar entre el mes de Enero al mes de Abril, siendo estos meses más cálidos del año donde hay la presencia de lluvias y bastante producción de forraje verde (Bustinza, 2001).

En el caso de las alpacas machos, tienen la capacidad de producir eyaculados fértiles durante todo el año, pero al igual que en otras especies domésticas, la calidad del semen, así como la libido, se ven influenciados por la estación del año

y la disponibilidad de alimento. Los factores responsables del inicio y término de la actividad reproductiva en condiciones naturales de crianza, no son bien conocidos (Montalvo, 2009).

Sin embargo, más allá de los factores de manejo o nutricionales, se dice que los factores ambientales como la temperatura, humedad y luz solar, así como los estímulos visuales u olfatorios tienen influencia en los centros del sistema nervioso central los cuales controlan el comportamiento reproductivo (Brown, 2000).

Se ha dado a conocer un grado importante de estacionalidad en la estructura microscópica del testículo de la alpaca macho por un grado de involución de los túbulos seminíferos que ocurre en la estación no reproductiva que es heterogénea y responde a un ordenamiento alternante muy marcado, en donde se explica que la concentración espermática y las anomalías espermáticas son diferentes en una de otra, en donde en la estación de verano se determinó menos porcentaje de concentración y más anomalías espermáticas (Brown, 2000).

#### **4. Comportamiento sexual, cópula y eyaculación**

La conducta peculiar de la alpaca macho, muestra una actitud activa y en ocasiones agresiva durante el apareamiento, en contraste con la actitud pasiva de la alpaca hembra, pues los machos pelean entre ellos con la finalidad de hacer valer y respetar su dominio (Fowler, 2008).

En la primera semana de la época de empadre la actividad sexual de la alpaca en campo abierto es particularmente muy intensa, presentando alrededor de 70% de montas a hembras al menos una vez, en lo cual posteriormente la actividad sexual decrece a pesar de la presencia de hembras receptivas, alcanzando un 0% en algunos casos, el empadre se reactiva alcanzando niveles comparables como los de la primera semana (Sumar, 2000).

En un promedio del 6 % de machos son usados para toda la temporada de empadre de 60 días. En donde se va rotando, la mitad de los machos son utilizados por una semana con el otro grupo de machos la siguiente semana respectivamente. En donde el objetivo de alternar los machos, se determina que la

libido y el empadre permanecen altos y se aumenta la oportunidad de las hembras para aparearse por lo menos una vez.

El uso de la técnica de empadre rotativo en una cooperativa alpaquera en Perú dio como resultado un alto incremento en el porcentaje de nacimientos de 57% a 81 % respectivamente (Novoa et al., 1970)

Las hembras que no gestantes están en estro continuo y cuando los machos son introducidos a la caravana, en donde ellos van a intentar aparearse con la primera hembra receptiva que encuentren, mediante la detección de feromonas usando la respuesta flehmen, en los camélidos esta respuesta no está notoria, el macho olfateará la zona perineal de la hembra o estiércol del corral y elevará su cabeza. El macho empieza cortejar persiguiendo a las hembras receptivas e intentando montarlas (Brown, 2000). Si la hembra se encuentra receptiva, se colocará en posición de cúbito esternal pero si la hembra se niega, lo pateará, escupirá y trata de huir, el macho luego cambiará por otra y comienza una nueva persecución y un nuevo cortejo.

En los camélidos sudamericanos el proceso de la cópula es único, debido a muchas razones: la duración de la cópula, el tiempo de eyaculación, lugar de depósito del semen, y el comportamiento del macho (Bravo, 2002). Esta fase ocurre cuando la hembra adopta la posición de cópula en decúbito ventral.

En el apareamiento el comportamiento del macho, aprieta los hombros de la hembra con sus codos, en el suelo apoya su metatarso, lateral a los de la hembra (Novoa, 1970). Se vuelve rígido el pene, y el proceso uretral empieza a realizar movimientos semi-rotativos. Cuando el macho localiza la vulva, pues el semoviente se acerca lentamente a la hembra, y posiciona sus corvejones paralelos a los de ella. Además cuando ya se dio la penetración, la espalda del macho se encorva y la región sacra del macho se coloca en una posición vertical y muy cerca al perineo de la hembra (Bravo, 2002).

El macho muerde las orejas de la hembra mostrando su excitación, la cola mueve de arriba para abajo, los machos muestran un sonido gutural característicos

durante el empadre que es un aspecto integral en la liberación de la LH preovulatoria (Bravo, 2002). El macho es el que determina la duración de la cópula, en donde la cópula puede durar de 5 a 50 minutos con un promedio de 25 minutos (Bravo, 2002).

El macho tiene la capacidad de penetrar la cérvix con el pene, y va depositando el semen continuamente en los dos cuernos uterinos usando leves movimientos de empuje. La examinación del útero se puede realizar a las 24 horas después de la monta lo cual se muestra hemorragia, inflamación, edema e hiperemia del endometrio, debido al trauma de los movimientos hechos por el pene o también se puede presentar estas complicaciones debido a una reacción inflamatoria del plasma seminal, pues este proceso inflamatorio se vuelve más severo si la hembra tiene más de dos cópulas (Bravo, 2002).

## **5. Espermatogénesis**

Las espermiogonias se derivan de células sexuales primitivas, las cuales tienen la capacidad de transformarse en células sexuales maduras debido a las divisiones sucesivas al inicio de la madurez sexual (Terranova Editores 2001)

La espermatogénesis se divide en dos fases. En donde la primera es la espermatocitogénesis, en donde suceden una serie de divisiones en las cuales la espermatogonia forma las espermatídes, y la segunda fase es la espermatogénesis, en las que las espermatídes sufren metamorfosis para que logre formar al espermatozoide respectivamente. Este proceso para que sea completo se efectúa en 7 semanas aproximadamente, conforme se va desarrollando la espermatogénesis (Terranova Editores 2001).

### **a. Espermatocitogénesis**

Los túbulos seminíferos constituyen dos tipos de células, como las células de Sertoli las cuales son grandes y sirven como células nutricionales. El otro tipo de células son los espermatogonios que son células más pequeñas pero más numerosas, y son los gametos primitivos. Los espermatoцитos de primer orden,



están constituidos por cromosomas completos, como las células somáticas.

Mediante la mitosis de reducción se separan otra vez los pares de cromosomas, emigrando cada uno de los pares hacia los polos del huso. Aquellos cromosomas no se parten en cromosomas hijos, sino que los paternos se separan de los homólogos maternos y cada uno de estos dos grupos se distribuye en una célula hija, dando como resultado uno con el cromosoma X y el otro con el cromosoma Y, que son células hijas haploides. La mitosis ocupacional es la segunda división de maduración. En donde cada espermatofito de primer orden deriva cuatro células haploides que son espermatidas. Las mismas tienen la función de conservar aun el carácter normal como tales células (Terranova Editores 2001)

### **b. Espermiogénesis**

En la fase de espermiogénesis, las espermatidas se adhieren a las células de Sertoli, en donde cada espermatogonio sufre un cambio en la morfología es decir una metamorfosis dando lugar a la formación de un espermatozoide. El material nuclear durante la metamorfosis se vuelve compacto en una parte de la célula permitiendo la formación de la cabeza del espermatozoide, y el protoplasma da lugar a la cola y el centrosoma forma parte del segmento central (Terranova Editores 2001)

La cabeza del espermatozoide está cubierta por el acrosoma. El espermatozoide que está recién formado se liberará de la célula de Sertoli y será forzado a salir a los túbulos seminíferos a través del lumen hacia la red de testis. Los espermatozoides son células que no poseen citoplasma, y después de la maduración de dichos espermatozoides tienen la capacidad de ser progresivamente más móviles. A partir de 15 a 17 días la espermatogénesis se completa (Hafez, E.; Hafez, B. 2002).

Las células alargadas consistentes son los espermatozoides maduros, que están constituidos por una cabeza aplanada la cual es portadora del núcleo y una cola que contiene el aparato necesario para la motilidad celular. La hormona folículo estimulante es la más necesaria e importante para dar lugar a la

espermatogénesis, mientras que la hormona luteinizante tiene la capacidad de estimular a las células intersticiales del testículo para que segreguen testosterona. El resultado de la espermatogénesis permite el apareamiento de dos espermatozoides genéticamente muy diferentes, donde unos llevarán el cromosoma X y otros el cromosoma Y, donde se puede determinar el sexo (Hafez, E.; Hafez, B. 2002).

Estos cromosomas alcanzan su capacidad de fecundación en el epidídimo, que es la parte en donde permanecen almacenados. En cada túbulo la actividad espermatogénica puede variar en momentos a lo largo de su longitud. El epitelio seminal es muy sensible a las influencias tóxicas, la espermatogénesis cesa inmediatamente cuando se expone a malas condiciones (Aguilar, 2005).

Durante la espermatogénesis cada espermatozoide expulsa una gota de protoplasma que sirve para favorecer la unión de la cabeza y el cuerpo del espermatozoide, cuando los espermatozoides atraviesan el epidídimo se nutren de sus secreciones y obtienen una cubierta lipídica protectora. Su actividad se incrementa lentamente y su fertilidad mejora a medida que se alejan del testículo. La cola del epidídimo es el lugar principal para la conservación y almacenamiento de los espermatozoides (Aguilar, 2005).

El tiempo que tardan los espermatozoides en atravesar el epidídimo varía de 4 a 12 días y su vida media efectiva es de aproximadamente 40 días. Las contracciones peristálticas del epidídimo son las principales responsables del movimiento de los espermatozoides a través de él. Las funciones secretoras y motoras del epidídimo dependen de la testosterona, pero la oxitocina también puede influir sobre la motilidad del sistema conductor eferente (Aguilar, 2005).

### **c. Control hormonal de la espermatogénesis**

Nabiev, (2003) la función de la LH en la regulación de la espermatogénesis es indirecta, ya que ésta estimula la liberación de testosterona. La testosterona 6.70 mg/dly la FSH actúan en los túbulos seminíferos estimulando la espermatogénesis. La testosterona es necesaria en ciertas etapas de la

espermatogénesis, y es más dominante en la regulación de estos procesos.

Nabiev, (2003) señala que la FSH es más dominante en la regulación de la espermiogénesis. Tanto la testosterona como la FSH ejercen una influencia directa a través de las células germinales, indirectamente a través de las células de Sertoli.

La FSH estimula a las células de Sertoli para secretar a la proteína andrógena de fijación (PAF) y la inhibina. La (PAF) es simplemente un transportador para la testosterona, facilitando su disponibilidad durante la espermatogénesis en los túbulos seminíferos y transportándola a través de la red de testis hacia el epidídimo. La (PAF) se absorbe en el epidídimo(Nabiev, 2003).

Los controles de retroalimentación que operan entre los testículos, hipotálamo e hipófisis anterior en la regulación de la liberación de gonadotropinas (FSH y LH) y esteroides gonadales (testosterona). La (PG2 $\alpha$ ) estimula la liberación de LH y de testosterona (Nabiev, 2003).

## **B. COLECCIÓN DE SEMEN EN ALPACAS MACHO**

### **1. Fundas vaginales**

Mogrovejo, (2002) realizó el primer ensayo de colección de semen en alpacas, utilizando una funda de látex colocada intravaginalmente antes de la cópula; después de la monta se retiraba la funda que servía de recipiente de semen; con esta técnica se logró coleccionar semen, presentaba algunos inconvenientes, ya que se interfería con la cópula normal y alargaba el tiempo de monta más allá de los valores normales; la colocación de la funda dentro del tracto genital y su fijación ofrecía serias dificultades y con frecuencia provocaban lesiones que inhabilitaban a la hembra para su uso posterior; existieron otros intentos de coleccionar semen con fundas vaginales. En 1991, Sucapuca, realizó un estudio de colección de semen en alpacas mediante la técnica del preservativo, obteniendo pequeños volúmenes y bajas condiciones espermáticas.

## **2. Esponjas vaginales**

Esta investigación fue realizada por San Martín (1961) el cual usa trozos de esponja que se introducen en la parte anterior de la vagina y que absorbe el semen y otros fluidos vaginales, sirviendo como contenedores; el inconveniente de este método es que logra obtener semen muy contaminado y mezclado con los fluidos del tracto genital femenino y esto diluye el semen y lo contamina con bacterias, dificultando así su evaluación, por lo que no se recomienda su uso para fines de inseminación artificial.

## **3. Electroeyaculación**

En 1966, Fernández-Baca y Calderón reportaron el uso de la electroeyaculación para la colección de semen de alpacas, utilizando un equipo de fabricación nacional, con una intensidad máxima de 40 voltios, se obtuvieron muestras de semen con la ventaja de realizar la colección sin la necesidad de tener hembras en celo, acortar el tiempo de colección y realizarla a lo largo de todo el año; también se utilizó esta técnica para obtener semen de vicuñas y paco vicuñas (híbrido cruce de alpaca con vicuña) (Novoa, 2006).

Los resultados de electroeyaculación muestran gran variabilidad entre animales y aun entre el mismo animal, además de obtenerse semen muy diluido con las secreciones de las glándulas anexas, contaminado con semen y baja concentración espermática; obtuvo semen de alpacas macho anestesiadas ó sedadas, se obtuvo pequeñas cantidades (0.1 a 0.5 ml) con alta concentración pero no todos los intentos fueron exitosos. En 1987, Cárdenas y Col. realizaron un estudio comparativo de colección de semen mediante las técnicas de electroeyaculación y vagina artificial, se utilizó un electroeyaculador Plectron, obteniéndose buenos resultados con 60 cargas eléctricas de 2 segundos de duración, 14 voltios, 4 amperios, 25 ciclos/seg. y 2 seg. de descanso entre cada pulsación, el semen obtenido por este método tuvo diferentes características a las muestras obtenidas mediante vagina artificial (Novoa, 2006).

#### **4. Fístula uretral**

Este método requiere realizar una fístula quirúrgica en la uretra peniana entre el ano y el escroto; el semen es colectado durante la copula natural, esta técnica se realiza 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 insición 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 (Kubiceck, 2004).

#### **5. Aspiración vaginal postcoital**

Muestras de semen pueden ser obtenidas por aspiración del fondo de la vagina después de la cópula, ya que una pequeña cantidad de semen es eyaculado al momento de llevar el pene de un cuerno al otro, este método no es invasivo ni tedioso pero la desventaja es que este semen es incompleto, contaminado y diluido con las secreciones del tracto genital femenino, se puede utilizar este semen para realizar la evaluación de espermatozoides como motilidad, vitalidad, morfología; estas muestras frecuentemente se obtienen 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 espejo por la vulva previamente aseada y con la ayuda de una fuente de luz se ubica la cérvix, inmediatamente se aspira con una pipeta adosada a una jeringa, la utilización de este tipo de semen para evaluar la fertilidad del macho es muy cuestionada (Bravo, 2002).

#### **6. Vagina artificial**

Esta técnica fue desarrollada por Sumar, (2000) para lo cual construyeron un maniquí en forma de una hembra sentada en posición de cópula; la vagina artificial fue una modificación de la vagina artificial usada para vacunos y ovinos, la cual consistía en 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 cérvix de la alpaca y al final un frasco de colección de semen de ovino ó un tubo de centrifuga, el agua a 45° C se coloca por una válvula-espita; los machos aceptaron el maniquí después de un corto entrenamiento; la copula se interrumpía cada 10 minutos aproximadamente para renovar el agua caliente, el semen colectado varió, dependiendo del macho, el color del eyaculado, independientemente del volumen, fue de un blanco lechoso a blanco claro, este semen no muestra motilidad masal por lo espeso de su consistencia.

La utilización de vagina artificial en combinación con una hembra receptiva es la técnica más óptima de obtener semen de buena calidad, el que se puede utilizar para fines de inseminación artificial, teniendo en cuenta de usar una fuente de calor continuo y la característica que imite a la cervix. En un estudio llevado a cabo por Dávalos, (2002) se encontró que utilizando hembra receptiva al lado del maniquí incrementaba la calidad del eyaculado obtenido mediante vagina artificial a comparación de solo utilizar el maniquí solo, incrementando el tiempo de cópula de 15,9 a 16,8 minutos.

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 (Delgado, 2003).

## **7. Desviación de los conductos deferentes**

Con el fin de colectar 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 colectar 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 ó 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 el coágulo del eyaculado para un mejor manejo espermático (Quintano, 2002).

### **8. Bulbourectomía**

Esta técnica fue desarrollada con la finalidad de obtener espermatozoides sin la secreción de las glándulas bulbouretrales, las cuales, según literatura, son las encargadas de producir el material viscoso del semen entero, el cual causa gran dificultad en su manipulación; las características del semen obtenido se asemejan e incluso son superiores a las características del semen entero obtenido por vagina artificial, pero se indica una gran dificultad en la técnica quirúrgica por la ubicación de dicho órgano, lo que no permitió realizar esta técnica, optándose por realizar la prostatectomía (Paricahua, 2001).

La técnica de la bulbourectomía para posibilitar la colección de semen de alpacas macho con escaso nivel de viscosidad, para lo cual se describe la técnica, con una insición en la piel perianal hasta visualizar la uretra pélvica y las glándulas bulbouretrales, las cuales fueron extirpadas, esta técnica dura en promedio 3 horas con una recuperación completa del animal en 17 días. Los animales fueron sometidos a una bulbourectomía y luego del reposo post operatorio, se realizó la colección de semen utilizando vagina artificial con la técnica del maniquí a intervalos de una semana; este eyaculado no posee viscosidad por lo que su manejo es más fácil y se puede utilizar dilutores usados en otras especies (Copa, 2003).

### **C. 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:

## **1. Frecuencia de colección**

Se realizó un estudio para evaluar el efecto de la repetición de colección de semen usando el método de la vagina artificial, realizando hasta tres colecciones diarias por un periodo de 12 días seguidos, los resultados obtenidos indican que las características más afectadas por la frecuencia de colección fueron la concentración de espermatozoides, la cual desciende significativamente en la tercera colección, así mismo el porcentaje de anomalías en la cola se incrementa pero la motilidad, porcentaje de vitalidad y el porcentaje de espermatozoides normales no fue afectada, se vio la diferencia significativa en todas las características al hacer las comparaciones entre individuos; pero a partir del día 10 de colección, casi todos los machos tuvieron un descenso en todas las características seminales e incluso algunos solo eyacularon plasma seminal, especialmente en la tercera colección diaria (Bravo, 2000).

En otro estudio similar, se trató de evaluar el efecto de los intervalos de colección a determinadas horas, cada 2, 4, 12 y 24 horas; la respuesta fue de 65, 85, 100 y 100 % respectivamente, el volumen varió de 0.18, 1.08, 0.19 y 1.64 respectivamente; en la concentración: 9.2, 44.3, 36.3 y 107 millones/mm<sup>3</sup> respectivamente; vitalidad de 4, 43, 55 y 59 %, 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, (Bravo, 2000).

## **2. Duración de la cópula**

Las características del semen se relacionan con la duración de la cópula, esto ha sido descrito desde dos puntos de vista: Primero el cambio del tubo colector cada 5 minutos y segundo: La interrupción de la cópula a 5, 10, 15 y 20 minutos, en general no existen cambios considerables de volumen del eyaculado pero si existen cambios substanciales en la concentración y el porcentaje de espermatozoides vivos, la concentración se incrementó a los 20 minutos de



cópula, sumado a esto, la interrupción de la cópula incrementa el porcentaje de espermatozoides muertos cuando se interrumpe a partir de los 15 minutos, por lo que no se recomienda interrumpir la cópula ya que la última fracción del eyaculado parece ser la que lleva la mayor concentración de espermatozoides vivos (Bravo, 2000).

### **3. Época**

Se sabe que la época así como la alimentación juegan un papel importante en la producción espermática y en la calidad del semen colectado de acuerdo a la época del año, esto en condiciones de la sierra sudamericana ya que gracias a la geografía se presentan estaciones marcadas, problema que no se presenta en el hemisferio norte por lo que no se orientan estudios hacia este tema; un reporte de la sierra argentina en alpacas macho indica que la época juega un papel importante en la producción espermática, concentración y porcentaje de anormalidades, sobre todo de la cola, teniéndose buenas características seminales durante el verano y las anormalidades se incrementa durante el invierno, en alpacas no se tiene un reporte escrito, pero se ha visto que en la colección de espermatozoides realizada mediante la técnica de la desviación de los conductos deferentes, ya que dicha técnica permite obtener semen a lo largo del año, se observó una disminución en la concentración y en la vitalidad de los espermatozoides, sobre todo en los meses de agosto y septiembre (Pérez, 2006).

### **4. Edad**

En un trabajo realizado en alpacas macho, para evaluar el efecto de la edad de los animales en las características seminales obtenidas mediante la técnica de la vagina artificial, se utilizaron alpacas macho machos de 3, 4 y 5 años de edad, se determinó que esta característica no tiene influencia en las características seminales. En alpacas, la edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática, ya que las características mejoran ligeramente de acuerdo a la edad, pero dicha diferencia no es significativa (Bravo, 2002).

## **D. CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN DE ALPACA**

### **1. Características físicas**

El semen es la suspensión celular líquida que contiene los gametos del macho (espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor (Hafez, 2002). Para los camélidos, como sucede con su anatomía reproductiva, el semen también presenta características particulares.

Los eyaculados de los camélidos están caracterizados por un reducido volumen y baja concentración de espermatozoides comparando con otros animales de producción. Los parámetros como volumen, color, motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología son altamente variables entre machos y entre eyaculados colectados del mismo macho. Potencialmente, esto puede conducir a problemas para obtener eyaculados de calidad aceptable para la preservación de semen e inseminación artificial (Bravo, 2000).

Además, algunos trabajadores han notado que el eyaculado de alpacas y llamas no es fraccionado, por tanto la calidad del semen es uniforme desde el comienzo hasta el final de la copulación. Las características físicas y biológicas del semen de camélidos sudamericanos también varían dependiendo de las condiciones de colección, por ejemplo, el método de colección, fertilidad y libido del macho, temperatura ambiental, etc. Por ejemplo, el volumen, la concentración espermática, el porcentaje de espermatozoides vivos y la duración de la cópula fueron diferentes en los diferentes días de colección (Bravo, 2000). Algunos de los parámetros de las características del semen de alpaca según el método de colección están resumidos en el cuadro 1.

Cuadro 1. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN DE ALPACA Y LAS CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN.

Técnica de recolección	Volumen, ml	Esperm x 10 <sup>6</sup> /ml	%de mortalidad	%de normales
Funda vaginal	1,9	33	Bajo	41
Electroeyaculación	1,8	2,55	Bajo	-
Fístula uretral	6,6	0,6	85	-
Vagina Artificial con maniquí	2,6	852,5	15	90,6
Vagina Artificial con Hembra	1,8	36,1	-	74,4

Fuente: Dávalos, R. 2002.

#### a. Color

El color del semen de las alpacas ha sido descrito como blanco lechoso a blanco cristalino (Sumar, 2002). Aunque el color del semen de alpacas y llamas podría depender de la concentración espermática y la proporción de la secreción de las glándulas sexuales accesorias; es predominante de color blanquecino ya sea colectado por electroeyaculación o por vagina artificial.

#### b. Viscosidad

Una de las características físicas más importantes en el semen de camélidos es la gran viscosidad, la que dificulta su manejo durante los procedimientos en el laboratorio 15 (pipetear, frotis por extensión), dificulta determinar parámetros como concentración espermática y motilidad y su mezcla con dilutores. El grado de viscosidad varía entre machos y disminuye con el incremento de número de eyaculados en cualquier día. Dicha viscosidad se debe al plasma seminal, que viene a ser la fracción líquida del semen después de haberse separado los espermatozoides por centrifugación o filtración (Sumar, 2002).

### **c. Volumen**

El promedio del volumen de cada eyaculado en alpacas varía entre 1 a 2 ml y el rango varía desde menos de 1 ml hasta 7 ml, aproximadamente. Por lo general, el volumen es menor cuando se colecta por electroeyaculación que usando la vagina artificial. Los porcentajes en el semen de alpaca consisten en 11.5 % de espermatozoides y 88.5 % de fluido seminal (Sumar, 2002).

### **d. pH**

Los valores de pH proporcionados por varios autores se acercan mucho a la neutralidad, con cierta tendencia a alcalinidad ligera. Los valores de pH promedio varían de 7,2 a 7,5. Además, se ha demostrado que la frecuencia de eyaculados no tiene mayores efectos en los valores de pH (Sumar, 2002).

### **e. Concentración**

La concentración espermática varía de 30 000 hasta 150 millones de espermatozoides por ml, aproximadamente en alpacas. Las grandes variaciones son atribuidas a los diferentes animales, tipos de colección de semen y números de eyaculados (Morton, 2008). Los espermatozoides de los camélidos muestran una motilidad individual por medio de la contracción del flagelo y solo en un sitio, como un movimiento oscilatorio.

### **f. Mortalidad**

La motilidad debe ser observada inmediatamente después de la colección del semen. El espermatozoide incrementa su motilidad progresiva cuando el eyaculado se vuelve más líquido (Tibary, 2006).

### **g. Plasma seminal**

El plasma seminal de las alpacas está compuesto por las secreciones de las glándulas anexas, las que son vertidas hacia la uretra durante la eyaculación,

generándose así la mezcla con los espermatozoides. Dichas secreciones contienen diversos componentes bioquímicos que regulan diferentes funciones espermáticas, y que por la presencia de mucopolisacáridos confieren la viscosidad al plasma. La disminución de la viscosidad depende de cada macho y tiende a disminuir con el aumento de eyaculados en un día. La importancia funcional del plasma seminal es cuestionable, ya que en el apareamiento natural actúa como portador y protector de los espermatozoides, siendo de suma importancia en el mantenimiento de la motilidad y la viabilidad de los espermatozoides (Hafez, 2002). Sin embargo, es posible inducir la preñez por inseminación empleando espermatozoides epididimarios. Incluso, la influencia del plasma seminal sobre los espermatozoides durante el proceso de criopreservación se torna discutible. Es así que, algunos autores refieren la presencia de sustancias protectoras en el plasma seminal las cuales tendrían efectos positivos, como el aumento de resistencia de los espermatozoides al shock de frío (Barrios, 2000). No obstante, en varias especies, algunos autores han observado un efecto perjudicial sobre la supervivencia espermática post-descongelación por parte de algunas fracciones del plasma seminal, como son la fracción prostática de los perros o la secreción de las vesículas seminales de carnero y toro (Way, 2000).

## **2. Características bioquímicas**

La composición bioquímica del semen de camélidos es similar al reportado de otras especies ganaderas. En el cuadro 2, se describe el análisis bioquímico del plasma seminal de la alpaca. Las concentraciones de ácido cítrico (promedio 4.3 mg/dl, rango 3.1 – 6.0 mg/dl) y fructosa (promedio 5.0 mg/dl, rango 3.9 – 6.6 mg/dl) del semen de alpaca fueron encontradas independientes de la edad del animal y mucho menos en comparación con toros, carneros, verracos, padrillos y dromedarios, posiblemente debido a la falta de las glándulas de la vesícula seminal. Altas concentraciones de fructosa y ácido cítrico se han observado en camellos. Altas concentraciones de glucosa puede servir como la fuente de energía primaria al espermatozoide (Elwishy, 2008).

Cuadro 2. COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DEL SEMEN DE ALPACAS.

COMPONENTES	ALPACA DE 3 AÑOS	ALPACA DE 6 AÑOS
Ácido cítrico (mg/dl)	4,3 ± 0,3	
Cloro (mEq/l)	348 ± 32	404 ± 34
Calcio (mg/dl)	18 ± 1	18 ± 3
Fósforo inorgánico (mg/dl)	12 ± 2	8 ± 0.4
Glucosa (mg/dl)	7 ± 0.4	5 ± 0.3
Fructuosa (mg/dl)		6 ± 0.1
Lípidos (mg/dl)	86 ± 10	95 ± 10
Fosfolípidos (mg/dl)	29 ± 1	29 ± 1
Nitrógeno total (mg/dl)	548 ± 50	647 ± 32
Proteína total (g/dl)	3 ± 0.3	4 ± 0.2
Albúminas (g/dl)	2 ± 0.3	2 ± 0.2
Globulinas (g/dl)	1 ± 0.1	2 ± 0.2

Fuente: (Garnica,2003).

Datos de camellos bactrianos en alpacas indican que el semen de los camélidos contiene un factor que induce la ovulación. El plasma seminal induce la ovulación en hembras después de su colocación en la vagina o en el útero de la hembra sin la necesidad de la monta natural o por una inyección vía intramuscular. La composición del factor inductor de la ovulación es desconocida pero es diferente a la GnRH (Adams, 2005).

### 3. Morfología espermática

El espermatozoide es una célula conformada por una cabeza espermática y una cola o flagelo, y ambos están rodeados por una membrana espermática o plasmolema (Adams, 2005).

De adentro hacia afuera, la cabeza espermática está compuesta por un núcleo en donde el ácido desoxirribonucleico (ADN), ha sido parcialmente reemplazado durante la espermiogénesis por protaminas que ayudan a la hipercondensación del núcleo espermático en una forma compacta e hidrodinámica que permite la

motilidad espermática y la penetración espermática a través de las capas del óvulo (Adams, 2005).

Los núcleos de los espermatozoides de la mayor parte de las especies contienen sólo protaminas, mientras que en otras especies contienen cantidades variables de histonas más grandes, ricas en arginina. El extremo anterior del núcleo está cubierto por el acrosoma, un delgado saco membranoso de doble capa ubicado sobre el núcleo a manera de casquete, que contiene acrosina, hialurodasa y otras enzimas hidrolíticas, que participan en el proceso de fecundación (Adams, 2005).

La cola espermática provee la fuerza motil al espermatozoide. Está formada por el cuello y los segmentos medio, principal y caudal. El cuello o segmento conector forma una placa basal que embona en una depresión en el extremo posterior del núcleo. La placa basal del cuello es continua en sentido posterior, y tiene nueve fibras gruesas que se proyectan hacia atrás a través de la mayor parte de la cola. La región de la cola comprendida entre el cuello y el anillo citoplasmático es el segmento medio (Adams, 2005).

El centro de este segmento medio, junto con toda su longitud de la cola, comprende el axonema. El axonema, como tal, se compone de nueve pares de microtúbulos dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales. En el segmento medio, esta disposición  $9 + 2$  de los microtúbulos está rodeada por nueve fibras gruesas o densas que al parecer están relacionadas con los nueve dobletes del axonema. El axonema y las fibras densas asociadas del segmento medio están cubiertos de manera periférica por numerosas mitocondrias (Adams, 2005).

La vaina mitocondrial, dispuesta en un patrón helicoidal alrededor de las fibras longitudinales de la cola, es la fuente de energía necesaria para la motilidad espermática. El segmento principal, que se extiende casi hasta la punta de la cola, está formado por el axonema al centro y sus fibras gruesas asociadas (Garner, 2002).

Además, esta sección está rodeada por una vaina fibrosa que provee soporte al axonema. El segmento caudal o terminal contiene solo el axonema central

cubierto por la membrana espermática. El axonema es que le da motilidad al espermatozoide. Los pares externos de microtúbulos del patrón 9 + 2 generan las ondas de flexión de la cola por un movimiento deslizante entre pares adyacentes (Garner, 2002).

Los espermatozoides maduros de alpacas muestran las mismas características anatómicas con otros mamíferos. La gota citoplasmática, que suele desprenderse de los espermatozoides tras la eyaculación, está compuesta de citoplasma residual (Garner, 2002).

La longitud de los espermatozoides de los camélidos es menor que los de toro, búfalo, carnero, asno y garañón (Tibary, 2006). En la alpaca, las dimensiones de la cabeza es 6.1 +- 0.6 um de largo y 3.6 +- 0.3 um de ancho.

#### **4. Anormalidades del espermatozoide**

Muchas anormalidades se han reportado en el semen de los camélidos, con variaciones de la frecuencia de ésta según la especie. Todas las anormalidades encontradas en otros tipos de ganado se pueden encontrar en los camélidos (Tibary, 2006).

En el semen de las alpacas, las proporciones de espermatozoides vivos y morfológicamente normales varían desde 58 – 83 % y 71 – 84 %, respectivamente. Es así que, en los espermatozoides de alpacas se pueden encontrar anormalidades como colas con curvaturas y colas dobles (9 – 15 %), cabezas libres y cabezas dobles (3 -13 %) y la presencia de gota citoplasmática (1 – 7 %). No obstante, los efectos de las muchas anormalidades en la fertilidad no han sido determinados (Tibary, 2006).

#### **5. Factores que afectan las características del semen**

##### **a. El efecto de la duración de la cópula sobre las características seminales**



Las características del semen de los camélidos están relacionadas al tiempo de la duración de la cópula. Se han hecho estudios en los cuales se cambia el tubo colector cada 5 minutos o se ha interrumpido la cópula a los 5, 10, 15 y 20 minutos. En general, la duración de la cópula no afecta al volumen del eyaculado, sin embargo, existen cambios en la concentración y porcentaje de espermatozoides vivos. La concentración se incrementa a los 20 minutos de copulación. Adicionalmente, la cópula interrumpida causa una mayor proporción de espermatozoides muertos después de 15 minutos (Bravo, 2002).

#### **b. El efecto de colecciones sucesivas sobre las características seminales**

Estudios sobre efecto de eyaculaciones sucesivas en las características del semen han demostrado que la concentración espermática y el volumen del eyaculado disminuyen en el tercer eyaculado sucesivo (Bravo, 2002).

#### **c. El efecto macho sobre las características seminales**

El efecto macho también afecta a las características del semen. La duración de la cópula, la concentración espermática, espermatozoides vivos y normales son las características que más varían. El volumen y la filancia también se ven afectados.

#### **d. El efecto de la edad sobre las características seminales**

En general, las principales características relativas a la edad del macho no varían significativa. La concentración espermática aparece ser menor en animales más jóvenes (Medina, 2013).

### **E. SITUACIÓN DE LOS CAMÉLIDOS A NIVEL NACIONAL**

En los últimos 25 años Ecuador ha sufrido un incremento acelerado en lo que se refiere al desarrollo y crianza de CSA. Debieron existir poblaciones importantes de llamas, alpacas y vicuñas en el país, que desaparecieron en los páramos por diversas causas, y por tal motivo en 1970 se consideraba especies en vías de extinción (FAO 2005).

Dentro de las causas que ocasionaron la desaparición de CSA en el Ecuador se cita la invasión española, y sobre todo la introducción de enfermedades como la 17 sarna, ya que los CSA carecían de resistencia a esta enfermedad, lo que ocasionó pérdidas de más del 70 % de CSA. Otra causa de gran importancia son los asentamientos humanos que trajeron consigo otras especies animales, como ganado bovino, ovino y equino, entre otras. Esto ocasiono que los CSA migraran hacia los páramos andinos, lo cual no fue impedimento para su adaptación de manera rápida y eficientemente, de tal manera que lograron reproducirse consiguiendo así una cría por año (FAO, 2005).

### **1.Importancia de los CSA en el Ecuador**

La importancia de la crianza de CSA en Ecuador va desde beneficios ecológicos, hasta beneficios socioeconómicos para las poblaciones alto andinas. Su importancia en la conservación de los suelos en los páramos se debe gracias a que poseen un peso moderado que va desde los 60 a 80 Kg, y sobretodo poseen en sus extremidades almohadillas plantares, lo cual no ocasiona un levantamiento de la capa vegetal y evita la erosión del suelo (Hoffman, 2003).

En cuanto a su alimentación, los CSA aceptan una gran variedad de alimentos, lo que favorece su crianza para los campesinos de las zonas alto andinas. Esto permite que se reduzca la práctica de quemas periódicas de los pastizales nativos, lo que a futuro asegura una mayor conservación de los páramos andinos (De Lamo, 1999).

En cuanto a la importancia socioeconómica, los CSA son una fuente de ingresos para las poblaciones altoandinas, a través de la comercialización de diferentes productos, provenientes de esta especie. Dentro de lo social destaca su gran importancia para el reencuentro con culturas ancestrales propias de los páramos andinos (MAE, 2014).

Los CSA han ocupado un papel fundamental en el desarrollo de las sociedades andinas, desde las antiguas comunidades de cazadores, hasta las actuales comunidades campesinas (Mengoni, G. 2008).

## **2. Repoblación de CSA en el Ecuador**

En el año de 1984, mediante varias recomendaciones del estudio realizado sobre prospección del hábitat de llama en territorio ecuatoriano, el departamento de parques y vida silvestre permitió la ejecución de los proyectos “Reintroducción de la vicuña” y “Fomento de CSA en el Ecuador”, logrando así que a inicios de 1985 desde Chile y Perú se importaran alpacas, y estos animales fueran distribuidos en dos sectores comprendidos por el Ministerio de Agricultura, y la otra parte en la propiedad privada del Dr. Stuart White (FAO, 2005).

En 1985 y 1988 se realizó la importación de vicuñas desde Chile, y Bolivia respectivamente, con un total de 200 ejemplares de este animal silvestre, cuyo manejo sigue a día de hoy a cargo del MAE (MAE, 2014).

## **3. Censo y distribución de CSA en Ecuador**

En base al último censo realizado en el año 2002 por parte del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos –INEC-, en Ecuador existen 2024 Alpacas y 21662 Llamas

Sin embargo, de acuerdo a un equipo consultor de la FAO que realizó un censo en 2005, la población nacional de CSA consta de 6595 alpacas, 10286 llamas, 2455 vicuñas, 407 huarizos y 20 mistis. La provincia con el mayor número de alpacas es Cotopaxi, con un total de 3.402 y la de menor población Loja con 30 animales; se destaca que en la provincia de Imbabura, no se ha registrado población de esta especie (FAO, 2005).

La población de llamas de mayor número se encuentra en Bolívar con 2750 animales, y la de menor población es la provincia del Azuay, con una población de 32 llamas (FAO, 2005).

La mayor parte de vicuñas se encuentra en la provincia de Chimborazo en la reserva del mismo nombre que es manejada por el MAE.

#### **4. Población de CSA en la provincia de Chimborazo**

La provincia de Chimborazo cuenta con el mayor número de vicuñas, distribuidas en la Reserva de Producción Faunística Chimborazo.

Según el MAE (2014), el número de vicuñas se ha incrementado en los últimos seis años, ya que en el año de 1999 se realizó una donación desde Bolivia, Perú y Chile, indicando además que el sector en el que se encuentran posee las condiciones adecuadas, para su normal desarrollo y producción.

En cuanto a la población de llamas se ha incrementado gracias al trabajo por parte de la Diócesis episcopal, a través de un proyecto que incluye 52 comunidades, a las cuales se les ha entregado un total de 2500 llamas (FAO, 2005).

En el cuadro 3, podremos apreciar de mejor manera el número de CSA, en la provincia de Chimborazo, así como su distribución en las diferentes comunidades así como el número de animales.

Cuadro 3. TOTAL DE CSA POR ESPECIE EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

SECTOR	ALPACAS	LLAMAS	HUARIZOS	MISTIS	VICUÑAS
<b>MINISTERIO DEL AMBIENTE</b>					
Reserva Faunística Chimborazo	---	---	---	---	2331
Comunidad San José de Tipín	---	---	---	---	124
Comunidad Alao – Pungalá	---	30	---	---	---
MAG – Riobamba	3	---	---	---	---
Comunidad Basan Chico	14	---	---	---	---
San Andrés Guano -Marco Cruz	50	70	---	---	---
San Pablo Pulinguí – San Juan	75	---	---	---	---
Comunidad Chorrera- San Juan	78	---	---	---	---
Comunidad Tambo Huasha	61	---	---	---	---
Comunidad Santa Teresita	35	---	---	---	---
Comunidad Sanja Pampa Guano	30	---	---	---	---
Moyocancha ESPOCH - Tixán	31	6	10	---	---
<b>PROYECTO CEDEIN – HEIFER</b>					
Comunidad YanaRumi – San	53	---	---	---	---
Comunidad Llinllin Tablón	25	---	---	---	---
Comunidad Llinllin Santa Fé	25	---	---	---	---
<b>PROYECTO LLAMAS DIOCESIS DE RBBA.</b>					
Pungalá, Calpi ,Punín, San Juan	---	---	---	20	---
Sicalpa	---	---	---	---	---
Pangor, Palmira, Cebadas	---	480	---	---	---
San Andrés, Valparaíso	---	---	---	---	---
Achupallas	---	---	---	---	---
Quimiag, Chambo	---	---	---	---	---
<b>Total</b>	<b>480</b>	<b>586</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>2455</b>

Fuente: FAO. (2005).

## **F. LOS OLIGOELEMENTOS**

### **1. Generalidades**

Los oligoelementos son sustancias químicas que se encuentran en pequeñas cantidades en el organismo para intervenir en su metabolismo. Se les conoce de esta manera (oligoelementos) debido a que la cantidad requerida de cada uno de ellos es menor a 100 mg. Estos elementos químicos, en su mayoría metales, son esenciales para el buen funcionamiento de las células (Duno, 2013).

Es muy importante tener una aportación diaria de oligoelementos dentro de la alimentación, ya que nuestras células son permanentemente atacadas por el estrés, el cansancio y las enfermedades, por consiguiente, el consumo de estos elementos químicos activan dos sistemas que luchan en contra de estos radicales llamados: enzimáticos (actividad controlada por la disponibilidad del cobre, del manganeso, del zinc o del selenio) y no enzimáticos (antioxidantes como las vitaminas C y E) (Duno, 2013).

Estos sistemas participan en varias funciones corporales y cada elemento tiene un rango óptimo de concentraciones, dentro de los cuales el organismo funciona adecuadamente por la eficiente estimulación del sistema inmunitario, que crea resistentes defensas contra estos radicales que envejecen o perjudican las células. Por otra parte, este sistema inmunitario podría dejar de funcionar eficientemente tanto por presentar deficiencia como por presentar exceso en uno de estos oligoelementos (Duno, 2013).

Llevar una dieta balanceada en nutrientes, grasas y oligoelementos será determinante para que el sistema inmunitario produzca las defensas necesarias que eviten que haya enfermedades o que las células envejeczan prematuramente. A continuación se presenta las propiedades de algunos oligoelementos esenciales (Duno, 2013).

### **a. Calcio**

El calcio es un mineral importante en el proceso de formación de huesos y dientes, coagulación sanguínea y transmisión nerviosa. Generalmente es consumido por los animales mamíferos en grandes cantidades durante la lactancia, por tal motivo se recomienda garantizar el consumo de calostro y leche materna durante los primeros meses de vida (Harper, 2014).

### **b. Cobalto**

Forma parte estructural de la vitamina B<sub>12</sub>, los microorganismos del rumen lo necesitan para sintetizar la vitamina B<sub>12</sub>. Es un catalizador de algunas funciones enzimáticas.

En los rumiantes la síntesis se realiza en el rumen y la absorción en el intestino delgado. En los monogástricos la síntesis se hace en el intestino grueso y la absorción en el ciego inmediatamente sale del organismo disminuyendo la utilidad a excepción de animales coprófagos como los cerdos y el conejo.

### **c. Cobre**

El cobre es un micro mineral que podemos encontrar en grandes proporciones en el hígado y músculo de los animales y en menores proporciones en el esqueleto, en la piel, en la lana y en el iris del ojo. Es componente esencial de muchas enzimas y complejos enzimáticos; ayuda a la fijación de hierro para la formación de hemoglobina, interviene en la síntesis de colágeno, en la síntesis de la pigmentación normal del pelo, lana y piel.

### **d. Flúor**

Se almacena en los huesos y los dientes. Es muy importante para evitar la caries dental, es un elemento muy toxico se sobrepasa los 20 mg / kg de materia seca.

**e. Fósforo**

Guarda estrecha relación con el calcio. Cerca de un 80 % está contenido en huesos y dientes. Cumple un rol vital en el desarrollo celular, mantenimiento de la presión osmótica, equilibrio ácido básico, formación de fosfolípidos, transporte de ac. grasos y formación de a. a. y proteínas. Interviene en el control del apetito y eficiencia de la utilización de los alimentos. Interviene en numerosos sist. Enzimáticos (ATP), formación de glúcidos y composición del material nuclear (ADN y ARN). Es un elemento predominante en la saliva y junto con el calcio es esencial para mantener el sistema Óseo y la calidad de la cáscara del huevo.

**f. Hierro**

Más del 90 % del hierro contenido en el organismo está unido a las proteínas hemoglobina, mioglobina y dentro de las moléculas. El hierro actúa en la enzima succinato deshidrogenasa en el ciclo de Krebs. Actúa en el metabolismo energético. La ferritina almacena 20 % de hierro y está presente en el bazo, hígado, riñón y médula ósea. La hemosiderina puede contener hasta 35 % de hierro almacenado. Forma parte de citocromos, flavoproteínas, catalasa y peroxidasa. En las hembras la necesidad de hierro es mayor que en los machos. El hierro transporta CO<sub>2</sub>. Es un pigmentante de huevos y plumas.

**g. Manganeso**

Este oligoelemento lo podemos localizar en cereales, almendras, legumbres, frutas secas, pescados y soya. Es parte importante en la constitución de ciertas enzimas, su deficiencia produce pérdida de peso, dermatitis y náuseas; se cree que participa en funciones sexuales y reproductoras. En el organismo se encuentra principalmente en el hígado, huesos, páncreas e hipófisis (Harper, 2014).

**h. Magnesio**

Se localiza en el chocolate, almendras, búlgaros, cacahuates, pan entero, carnes



y soya. Su función es disminuir el deseo de los azúcares y el drenaje del agua, además actúa en la irritabilidad, cansancio, calambres, palpitaciones y preserva la tonicidad de la piel (Harper, 2014).

#### **i. Potasio**

Lo podemos encontrar en las frutas frescas y secas, legumbres y en los cereales. Su función es favorecer los intercambios celulares e intracelulares (Harper, 2014).

#### **j. Selenio**

Este elemento se ubica en los cereales completos, la levadura de cerveza, ajo, cebolla, germen de trigo y carnes. La función que desempeña en el organismo es la de neutralizar los radicales libres (envejecimiento), retrasa los procesos de la miopía y preserva la tonicidad de la piel (Harper, 2014).

#### **k. Sodio**

Lo encontramos principalmente en la sal y en otros alimentos como el queso y el pan. Su labor es la de hidratar correctamente el organismo y actuar en la excitabilidad de los músculos (Harper, 2014).

#### **l. Yodo**

Las principales fuentes donde se localiza este oligoelemento son en los productos de mar como los mariscos. Este elemento es indispensable al ser constituyente de las hormonas tiroideas (Harper, 2014).

#### **m. Zinc**

Lo encontramos en las carnes rojas, pescado, pollo, productos lácteos, frijoles, granos y nueces. Su función dentro del organismo es la de acelerar la cicatrización de las heridas, favorecer en el crecimiento del feto en mujeres embarazadas, participar en la formación del colágeno y de la elastina de la

dermis, favorecer el tránsito intestinal y participar en el buen funcionamiento de la próstata y de los ovarios (Harper, 2014).

## **2. Oligoterapia en los animales**

Los oligoelementos son aquellos minerales presentes en el organismo en cantidades muy pequeñas, que actúan como catalizadores, acelerando reacciones bioquímicas e impidiendo bloqueos (por fármacos, stress, alteraciones emocionales, etc.), en dichas reacciones. Participan en el metabolismo de grasa, proteínas e hidratos de carbono, activan hormonas, participan en los mecanismos de defensa y en la lucha contra los radicales libres (Jimeno, 2008).

La oligoterapia está basada en la administración de oligoelementos a dosis muy bajas (del orden de millonésimas de gramo). Dada su baja concentración no existe ninguna contraindicación (Jimeno, 2008).

Su origen se remonta a finales del s.XIX, después de descubrir Gabriel Bertrand el papel de los oligoelementos como catalizadores. En 1930, Jacques Menetrier introduce el uso sistemático de los oligoelementos en la terapia médica (Jimeno, 2008).

### **a. Principales indicaciones para la Oligoterapia**

- Manifestaciones alérgicas.
- Infecciones de repetición.
- Procesos reumáticos.
- Procesos respiratorios.
- Procesos digestivos.
- Problemas de comportamiento: como ansiedad, depresión o agresividad, (Jimeno, 2008).

### **b. Oligoterapia en Veterinaria**

- Azufre: para dermatosis, alergias, artrosis.

- Manganeso: para alergias alimentarias, urticaria, artritis, asma.
- Magnesio: para tratar trastornos intestinales, artrosis.
- Potasio: para edemas, dolores articulares.
- Zinc: para afecciones cutáneas.
- Cobre: como anti infeccioso y antiinflamatorio.
- Fósforo: para espasmos musculares, problemas circulatorios.
- Litio: para nerviosismo, agresividad, ansiedad.
- Manganeso-Cobalto: para problemas circulatorios, digestiones difíciles, artrosis.
- Manganeso-Cobre: para dermatosis crónica, artritis, hiperlaxitudligamentaria, otitis recidivantes.
- Estos son algunos ejemplos de los tratamientos con Oligoelementos, pero se utilizan muchos más en Veterinaria (Jimeno, 2008).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO**

El trabajo experimental se desarrolló en la Estación Experimental “Aña Moyocancha”, el mismo que se halla ubicado ubicada a 3600 msnm, perteneciente a la parroquia Tixán, Cantón Alausí; Provincia de Chimborazo, con una duración de 90 días.

Las condiciones meteorológicas imperantes en la zona se detallan en el cuadro 3.

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AÑA MOYOCANCHA.

PARÁMETROS.	VALORES MÍNIMO.	VALORES MÁXIMO.
Temperatura °C	7,55	12,5
Altitud m s n m	3600	3810
Humedad relativa, %	80	91,3
Precipitación mm	1500	2330

Fuente: SIG.ESPOCH Facultad de Recursos Naturales, (2017).

#### **B. UNIDADES EXPERIMENTALES**

Las unidades experimentales para el desarrollo de la presente investigación constaron de una extracción seminal de 6 alpacas macho de raza Huacaya de 6 años de edad que fueron tratados con oligoelementos y diferentes frecuencias de colección seminal, en las mismas que se evaluaron independientemente la morfología testicular, así como las diferentes características seminales; dicha extracción seminal se efectuó mediante la utilización de una vagina artificial siendo necesarias un total de 12 extracciones para la totalidad del experimento.

## **C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES**

Los materiales, equipos e instalaciones que se emplearon para el desarrollo de la presente investigación se distribuyeron de la siguiente manera:

### **1. Materiales**

- Alpacas macho raza Huacaya.
- Tubos de ensayo.
- Viales graduados de 2 mL.
- Termo de traslado de muestras.
- Micropipeta.
- Papel de pH.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Registro de los semovientes.
- Libreta de apuntes.
- Esferográficos.

### **2. Equipos**

- Vagina artificial.
- Maniquí.
- Balanza digital.
- Microscopio.
- Cámara deBurker.
- Impresora.
- Cámara fotográfica.
- Equipo Sanitario.
- Equipo de Limpieza.

### 3. Instalaciones

En la presente investigación se utilizaron las instalaciones de la Unidad de camélidos Sudamericanos de la Estación Experimental “Aña Moyocancha” y el Laboratorio de la Unidad de Procesamiento de Germoplasma Animal de Reprogenes.

#### D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación se estudió el efecto de dos factores de estudio, para lo cual el factor A consto del suministro de Oligoelementos parenteral en alpacas macho de la raza Huacaya comparado con un grupo control, mientras que los tratamientos del factor B estuvieron representados por tres intervalos de extracción seminal (2, 4 y 6 días), para lo cual se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial con 2 repeticiones, ajustándose al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$  : Valor estimado de la variable

$\mu$  : Media general

$\alpha_i$  : Efecto de la aplicación de oligoelementos (A)

$\beta_j$  : Efecto de la frecuencia de extracción (B)

$\alpha\beta_{ij}$  : Efecto de la interacción (AB)

$\epsilon_{ijk}$  : Error Experimental

En la investigación el esquema del experimento quedó conformado como se expone en el cuadro 4.

Cuadro 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

TRATAMIENTOS					
Oligoelementos	Intervalo de Extracción	CÓDIGO	REP/TRAT	TUE*	EXTR/TRA
Con	2 días	CO2D	2	1	2
Sin		SO2D	2	1	2
Con	4 días	CO4D	2	1	2
Sin		SO4D	2	1	2
Con	6 días	CO6D	2	1	2
Sin		SO6D	2	1	2
<b>TOTAL</b>					<b>12</b>

TUE: Tamaño de la Unidad Experimental (Una Extracción).

## E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables experimentales a ser evaluadas durante el experimento fueron:

### 1. Características macroscópicas

- Diámetro testicular, cm.
- Volumen de eyaculado, mL.
- Color.
- Olor.
- Aspecto.
- pH.

### 2. Características microscópicas

- Concentración, Spz./mL y eyaculado.
- Motilidad masal, %.
- Motilidad individual, Ptos.
- Vitalidad, %.
- Anormalidades de la cabeza, cuello y cola, %.

## F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los resultados experimentales obtenidos fueron sometidos a los siguientes análisis estadísticos:

- Análisis de la varianza (ADEVA) SAS V 8.1.
- Separación de medias mediante Tukey ( $P < 0,05$  y  $P < 0,01$ ) de error.
- Análisis de correlación y regresión.

El esquema del ADEVA de los resultados experimentales de las diferentes variables se expone en el cuadro 5.

Cuadro 5. ESQUEMA DEL ADEVA.

ADEVA	Grados de libertad
Total	11
Factor A (utilización de oligoelementos)	1
Factor B (frecuencia de extracción)	2
Interacción A x B	2
Error	6

Elaboración: Garcés, J. (2017).

## G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 1. De campo

#### a. Selección de alpacas macho

Se escogió los reproductores que se sometieron a un previo entrenamiento para la extracción de semen, lo cual se utilizó un maniquí en forma de una alpaca hembra y fueron animales de 5 a 6 años de edad para con ello homogenizar las unidades experimentales con sus respectivas repeticiones y tratamiento. Las mismas que serán realizadas su previa limpieza de tuqueado, esquila despalmes.



### **b. Manejo del semen**

Se abasteció de todos los materiales, productos a utilizar en cada uno de los métodos, se mantuvo en una cámara de frío su traslado al laboratorio evitando tener alteraciones en las muestras causadas por temperaturas altas, radiación solar, etc.

### **c. Evaluación seminal**

Para la presente investigación se realizaron los exámenes macroscópicos (olor, color, pH, etc.) y exámenes microscópicos (motilidad individual, masal, vitalidad, concentración espermática), lo cual se lo realizó con el semen fresco.

### **d. Programa sanitario**

El plan sanitario consistió en la aplicación de las medidas de manejo pertinentes, como son desparasitación interna y vitaminización con la aplicación de AD3E para mejorar las funciones de los animales.

## **H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN**

### **1. Características macroscópicas**

#### **a. Largo testicular y ancho testicular**

Utilizo un medidor pie de rey que esta graduado en centímetros, se sujetó y se derribó al macho con la ayuda de una soga se procedió a tomar medidas del largo testicular y del ancho testicular se anotó en las hojas de campo, también se colocó un bozal por el hecho que escupen y no se puede trabajar con comodidad, luego de esto se los safo y no presento ningún problema cuando se realizó estas mediciones.

### **b. Color, olor y aspecto**

Para determinar estas características se procedió a la extracción del líquido seminal, donde se pudo observar que el semen presento color blanco ámbar, mientras que el olor fue proteico neutro, finalmente el aspecto del eyaculado fue viscoso característico.

### **c. Volumen**

Se tomó el total del eyaculado, sin la fracción preespermática, y se midió en un vial graduado de una capacidad de 3 ml y 0,1 ml de sensibilidad, sin embargo en algunos casos fue necesario pesar el eyaculado y considerar la equivalencia de que 1gr de eyaculado es igual a un 1 ml del mismo.

### **d. pH**

Esta medición se la realizo con los papeles medidores de pH, al momento de la extracción del semen se colocó el papel directamente en el total de la muestra, se esperó unos segundos que se coloree el papel y luego se lo llevo a la tabla para comparar la coloración y estimar el pH de la muestra.

## **2. Características microscópicas**

### **a. Concentración**

Se utilizó para este análisis los 100 ml con solución salina formolada en un matraz aforado y se homogeniza suavemente.

Acto seguido se toma una gota de la dilución con una pipeta Pasteur para llenar la cámara de Burker que ha sido previamente montada, se sitúa la pipeta entre el cubre y la cámara dejando que esta se llene por capilaridad y se deja reposar un par de minutos tras los cuales se coloca en el microscopio. Una vez en el

microscopio, es aconsejable colocar primero el objetivo 10x con objeto de localizar y situar la retícula y posteriormente pasar al 40x para contar los espermatozoides.

El recuento se efectúa de la siguiente manera:

- Contar los espermatozoides presentes en los 40 cuadrados pequeños.
- Se contabiliza aquellos espermatozoides cuyas cabezas se encuentran dentro de los cuadros y las que toquen los bordes superior o derecho, así como en las esquinas superior e inferior derechas.
- El número de espermatozoides contados multiplicados por  $10^7$  será la concentración de espermatozoides por ml del eyaculado, y si este valor se multiplica a su vez por el volumen del eyaculado hallaremos el total de espermatozoides presentes en el eyaculado.

#### **b. Motilidad en masa e individual**

Colocamos una gota del eyaculado sobre un porta objetos atemperado en la platina a 37 °C y lo cubrimos con un cubreobjetos. Se observa al microscopio con el objetivo 10x para determinar la motilidad total, que es el porcentaje de espermatozoides que se mueven en un primer golpe de vista. Lo normal para considerar que un eyaculado es de calidad se encuentra por encima del 75%.

Para apreciar la motilidad individual se coloca el objetivo 20x y 40x y se observan varios campos, se trata de indicar la proporción de espermatozoides que presentan motilidad progresiva, es decir, movimientos rápidos de avance, valorándola de la siguiente manera de 0 a 5.

“0” Espermatozoides inmóviles

“1” Sin movimientos de avance, girado

“2” Algunos movimientos progresivos.

“3” Movimientos progresivos pero lentos.

“4” Movimiento progresivos rápidos.

“5” Movimientos progresivos muy rápidos.

### **c. Vitalidad espermática**

Sobre un portaobjetos previamente calentado a 37°C en una platina térmica, se coloca una gota de semen y una gota de solución de eosina-nigrosina previamente calentada a 37°C para evitar el shock térmico. Luego de 1 minuto se realiza el frotis dejando una fina capa, se deja secar al aire libre. Una vez seco, lo observamos en el microscopio con el objetivo 100x, hemos de contar un número representativo de espermatozoides para que el valor obtenido se corresponda lo máximo posible con la realidad.

Los espermatozoides que están vivos se observaron sin teñir, frente a los que estaban muertos que aparecieron teñidos de color rojo en toda, o en parte de su estructura: podemos considerar normal 75 – 90 %, valor límite 60 %

### **d. Espermatozoides anormales**

Sobre un portaobjetos previamente calentado a 37 °C se coloca una gota de semen y una gota de solución de eosina-nigrosina previamente calentada a 37°C para evitar el shock térmico. Se deja secar la placa. Luego se observa sin cubreobjetos con aumento 100X esto utilizando el aceite de cedro y el lente de inmersión.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, BAJO LA INFLUENCIA DE OLIGOELEMENTOS.**

A continuación, describimos las características testiculares y seminales determinadas en 12 extracciones de semen proveniente de 6 alpacas macho de raza Huacayade 6 años de edad.

#### **1. Largo testicular**

El largo testicular determinado en alpacas machos, bajo la influencia de los oligoelementos, presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), de esta manera se identificó mayor largo testicular en las alpacas machos tratados con oligoelementos los mismos que alcanzaron un promedio de  $4,25 \pm 0,03$  cm, en tanto que los semovientes del grupo control alcanzaron un menor largo testicular con una media de 4,08 cm, (cuadro 6).

Por tanto el Zinc es el mineral que cumple un papel importante en el desarrollo de los testículos, las funciones fisiológicas de los espermatozoides y un déficit de este micronutriente podría causar hipogonadismo, disminución del volumen de los testículos, desarrollo inadecuado de las características sexuales secundarias y atrofia de los túbulos seminíferos, por lo tanto, un fallo en la espermatogénesis.

Los resultados obtenidos para esta variable son menores a los determinados por Tapia, (2015), en su estudio sobre la evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática en alpacas de la provincia de Cotopaxi, donde determinó un largo testicular de 4,7 cm, lo que podría deberse a factores genéticos que presentan los individuos de cada estudio.

## 2. Ancho testicular

Por su parte el ancho testicular determinado en alpacas machos, bajo la influencia

Cuadro 6. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, BAJO LA INFLUENCIA DE OLIGOELEMENTOS.

CARÁCTERÍSTICAS	SUMINISTRO MINERAL		EE	Prob.
	CON OLIGOELEMENTOS	SIN OLIGOELEMENTOS		
<b>Macroscópicas</b>				
Largo Testicular, cm	4,25 a	4,08 b	0,03	0,006
Ancho Testicular, cm	2,51 a	2,28 b	0,01	0,001
Color	Blanco ámbar	Blanco ámbar	-	-
Olor	Proteico neutro	Proteico neutro	-	-
Aspecto	Viscoso	Viscoso		
Volumen del Eyaculado, mL	1,95 a	1,67 b	0,01	0,001
pH	7,15 a	7,13 a	0,03	0,670
<b>Microscópicas</b>				
Concentración, 1X10 <sup>6</sup> Spz/mL	61,67 a	51,25 b	0,98	0,003
Concentración, 1X10 <sup>6</sup> Spz/Eyaculado	120,63 a	85,69 b	2,25	0,001
Motilidad Masal, %	81,25 a	76,67 b	0,66	0,003
Motilidad Individual, Ptos.	4,63 a	4,17 b	0,05	0,003
Vitalidad Espermática, %	71,25a	66,67 b	0,66	0,003
Mortalidad Espermática, %	28,83 b	33,33 a	0,69	0,004
Anormalidades de la Cabeza, %	1,45 a	2,58 b	0,03	0,001
Anormalidades del Cuello, %	0,73 a	1,27 b	0,02	0,001
Anormalidades de la Cola, %	2,33 a	5,00 b	0,08	0,001
Anormalidades Totales, %	4,53 a	8,85 b	0,09	0,001

Letras iguales no difieren estadísticamente, según Tukey (P<0,05 y P<0,01)

Prob: Probabilidad de la Ho

EE: Error estándar

de los oligoelementos, presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), es así que el mayor ancho testicular se identificó en las alpacas machos tratados con oligoelementos obteniéndose un promedio de  $2,51 \pm 0,01$  cm, mientras que los semovientes del grupo testigo presentaron un menor ancho testicular con un promedio de 2,28 cm, (cuadro 6).

Respecto a estos resultados Tapia, (2015), en su estudio sobre la evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática en alpacas de la provincia de Cotopaxi, determinó un ancho testicular mayor alcanzando una media de 2,6 cm, lo que posiblemente se debe a factores genéticos que presentan los individuos de cada estudio.

### **3. Color, olor y aspecto**

La coloración que presentaron los eyaculados de alpaca macho, en las diferentes extracciones fue blanco ámbar, lo que se debe a la concentración espermática sin ningún tipo de contaminante, mientras que el olor fue proteico neutro, libre de olores desagradables que podrían haber sido provocados por contaminación bacteriana, finalmente el aspecto del eyaculado fue viscoso característico en esta especie debido a la presencia de mucopolisacaridos de secreciones de las glándulas bulbouretrales o de la próstata (Garnica et al., 1993) en llamas se describe que la fracción viscosa del semen tendría su origen en las secreciones de las glándulas bulbouretrales (Vino et al., 2003).

El semen de alpaca presenta un color que varía desde el blanco lechoso hasta el blanco cristalino, siendo muy variable de acuerdo al método de colección, a la concentración espermática y a la frecuencia de colección (Bravo, 2002; Sumar, 2000). El color predominante del semen durante la época reproductiva es el blanco opaco, presente en el 76.9 % de las observaciones, también se pueden encontrar muestras de color blanco (5.1 %), blanco amarillento (5.1 %) y blanco translucido (12.8 %), se observó que a medida que avanzaban los días seguidos de colección, el color fue variando de blanco opaco al blanco translucido, evidenciando que la concentración espermática estaría relacionada al color del semen en alpacas (Urquieta et al., 2005). Flores, et al. (2002) reportan el 84.2 % de



las muestras de semen obtenido por vagina artificial de un color blanco opaco, seguido de blanco (1 0.5 %) y blanco amarillento (5.3 %).

#### **4. Volumen del eyaculado**

El volumen del eyaculado obtenido en las diferentes extracciones de semen, presentó diferencias significativas ( $P < 0,01$ ), determinándose el mayor volumen en los animales tratados con Oligoelementos alcanzando un promedio de  $1,95 \pm 0,01$  ml, ubicándose en segunda instancia el promedio alcanzado por las alpacas machos correspondientes al grupo control con una media de 1,67 mL, (cuadro 6 y gráfico 1).

Los resultados obtenidos para esta variable se hallan dentro del rango expuesto por Bravo, (2002), quienes manifiestan que el volumen varía con la metodología de colección y está influenciado por factores intrínsecos y medioambientales. El rango de volumen de eyaculado es bastante grande en alpacas, se tiene reportado desde 0.4 a 12.5 mL.

#### **5. Potencial hidrógeno**

El pH del eyaculado de la fracción rica obtenida en las diferentes recolecciones realizadas en las alpacas machos no evidenció diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ), determinándose promedios de 7,15 y 7,13 puntos de pH en el semen de alpaca tratados con y sin oligoelementos respectivamente, (cuadro 6).

El pH del epidídimo y conducto deferente fluctúa entre 6.72 a 6.39; en la próstata y glándulas bulbouretrales se encuentra entre 6.06 y 6.18 y el pH de la uretra es de 7.24 en alpacas adultas, siendo esta última más alcalina producto de su contaminación con orina (Huamantuco, 2005).

#### **6. Concentración espermática/mL**

La concentración espermática es una de las características microscópicas más importantes del semen ya que de ello depende la cantidad de dosis seminales

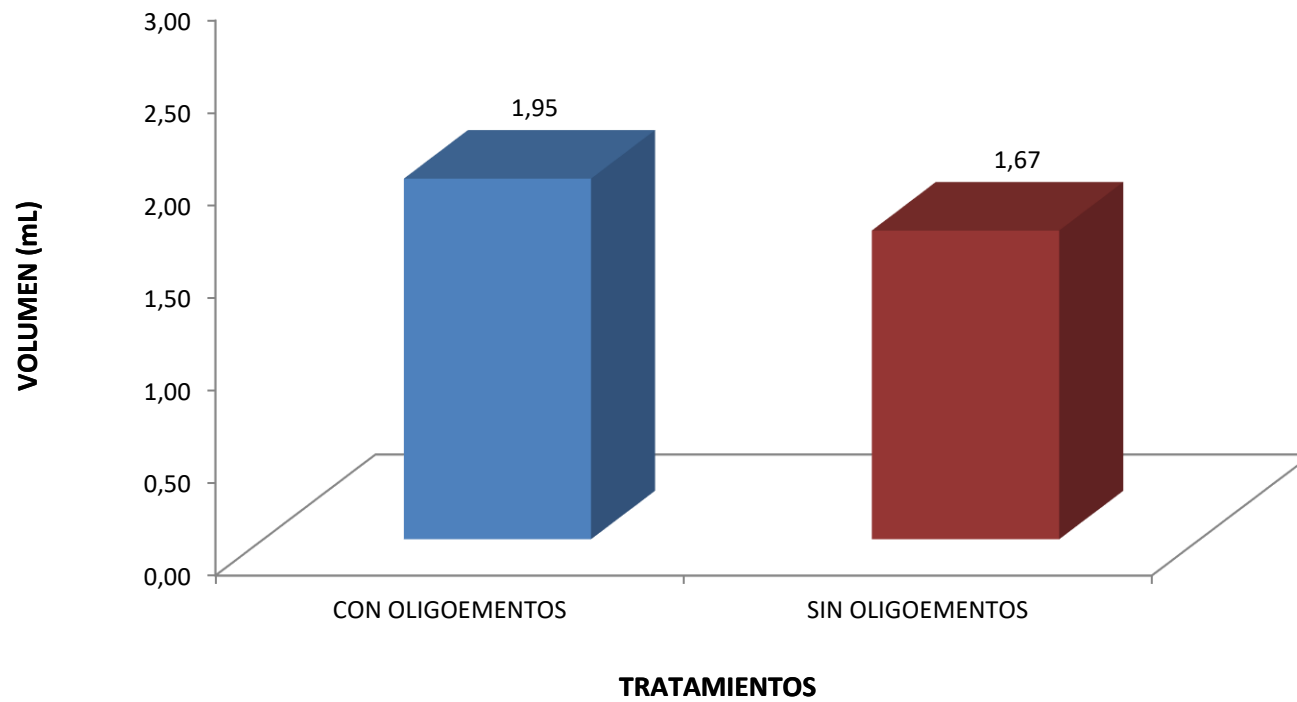


Gráfico 1. Volumen del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos.

que se puedan obtener de cada eyaculado, es así que el número de espermatozoides por mL de eyaculado, presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), alcanzando una mayor concentración en el eyaculado de las alpacas machos correspondiente al grupo tratado con oligoelementos con  $61,67 \pm 0,98 \times 10^6 \text{Spz/mL}$ , en tanto que el eyaculado de las alpacas machos pertenecientes al grupo control presentaron una menor concentración espermática con  $51,25 \times 10^6 \text{Spz/mL}$ , respectivamente, (cuadro 6 y gráfico 2).

### **7. Concentración espermática/eyaculado**

El número de espermatozoides por eyaculado, presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), alcanzando un mayor promedio el eyaculado de las alpacas machos pertenecientes al grupo tratado con oligoelementos con  $120,63 \times 10^6 \pm 2,25 \text{Spz/eyaculado}$ , en tanto que las alpacas machos pertenecientes al grupo control presentaron una menor concentración espermática con  $85,69 \times 10^6 \text{Spz/eyaculado}$ , correspondientemente, (cuadro 6).

La determinación de la concentración espermática en semen de alpaca se ve dificultada por la viscosidad del semen, pero una modificación a la técnica del hemocitómetro es realizada diluyendo previamente el semen en solución salina en 1:100, 1: 50 ó 1: 200 y tomando 1 O 1-1L para cargar la Cámara de Neubauer hemocitómetro, luego se realizan las lecturas de manera similar que el semen de otras especies, este método es usado por todos los investigadores de semen en alpacas por lo que los datos reportados en concentración espermática de alpacas fueron obtenidos con esta técnica (Bravo, 2002).

Con el objeto de reducir la viscosidad y mejorar la manipulación del semen de camélidos y determinar la concentración se puede realizar el uso de diferentes enzimas para de gelificar el eyaculado (Bravo, 2003).

La frecuencia de montas o de colecciones afecta de manera negativa a la concentración espermática en alpacas (Urquieta *et al.*, 2005), reportaron que la concentración desciende de  $72.2 \times 10^6$  segundo eyaculado y a  $45.4 \times 10^6$  a  $51.9 \times 10^6$  al tercero, por lo que no se recomienda una sobre

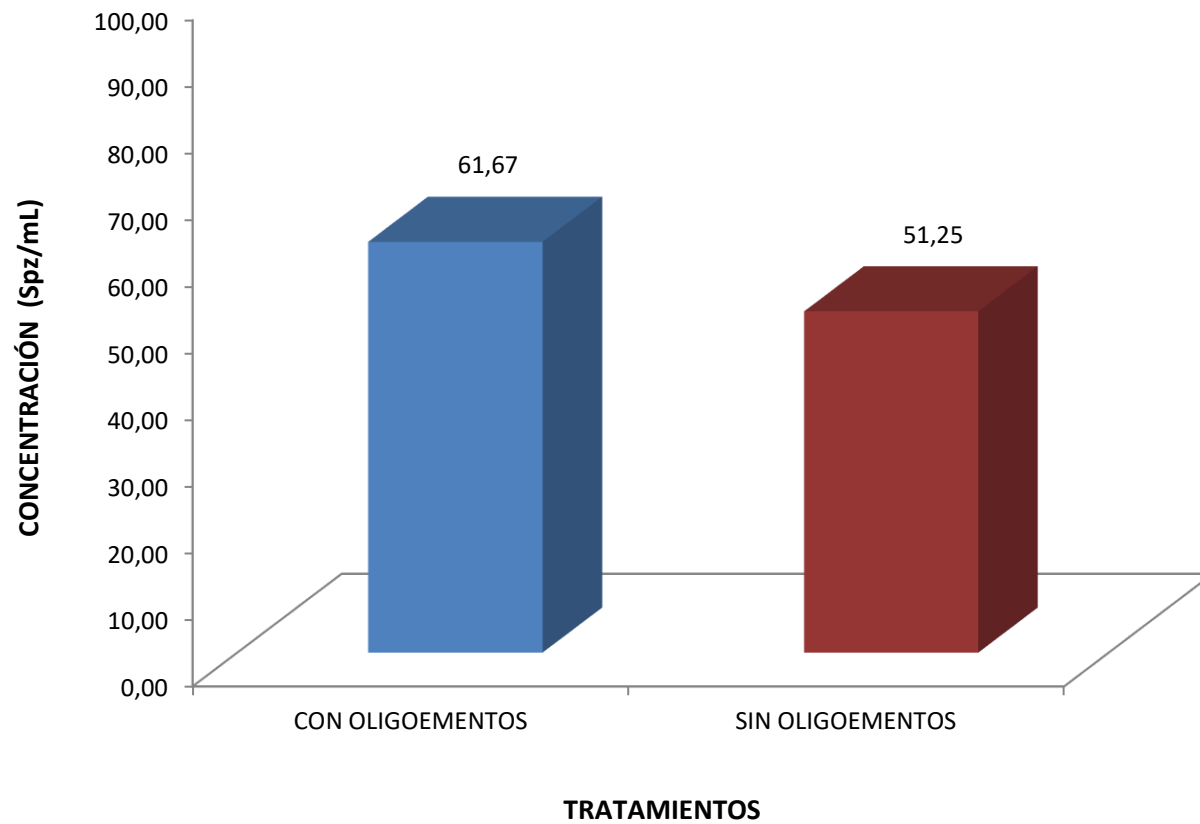


Gráfico 2. Concentración espermática del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos.

exigencia durante la época reproductiva a fin de no causar una caída en el porcentaje de fertilidad.

### **8. Motilidad masal**

La motilidad masal observada microscópicamente, en las diferentes recolecciones realizadas, presentó diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,01$ ), obteniéndose el mayor promedio en el semen proveniente de las alpacas machos tratados con oligoelementos con  $81,25 \pm 0,66$  %, en tanto que los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al grupo control alcanzaron una motilidad de  $76,67$  % respectivamente, (cuadro 6 y gráfico 3). El porcentaje de motilidad no se ve afectado por el número de eyaculaciones entre un macho, pero si varía entre varios machos evaluados (Bravo *et al.*, 1997).

### **9. Motilidad individual**

La motilidad individual observada microscópicamente, en las diferentes extracciones realizadas, presentó diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,01$ ), obteniéndose el mayor puntaje en el semen proveniente de las alpacas machos tratados con oligoelementos con  $4,63 \pm 0,05$  puntos, en tanto que los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al grupo testigo alcanzaron una motilidad individual de  $4,17$  puntos correspondientemente, (cuadro 6).

Los espermatozoides de alpacas exhiben motilidad individual por la contracción del flagelo en el mismo lugar, de manera oscilatoria; la evaluación de la motilidad se realiza inmediatamente a la colección y sobre una platina temperada, realizándose el conteo de los espermatozoides con movimiento en un campo y expresándolo en porcentaje (Bravo, 2002). La motilidad individual es muy baja en semen no diluido, es descrita como oscilatoria y solo un 1 a 5 puntos de los espermatozoides motiles tienen movimiento de avance lineal, siendo necesario licuefactar el semen para observar mejor la motilidad, pues es muy difícil observarla en semen entero por su naturaleza viscosa (Tibary y Vaughan, 2006).

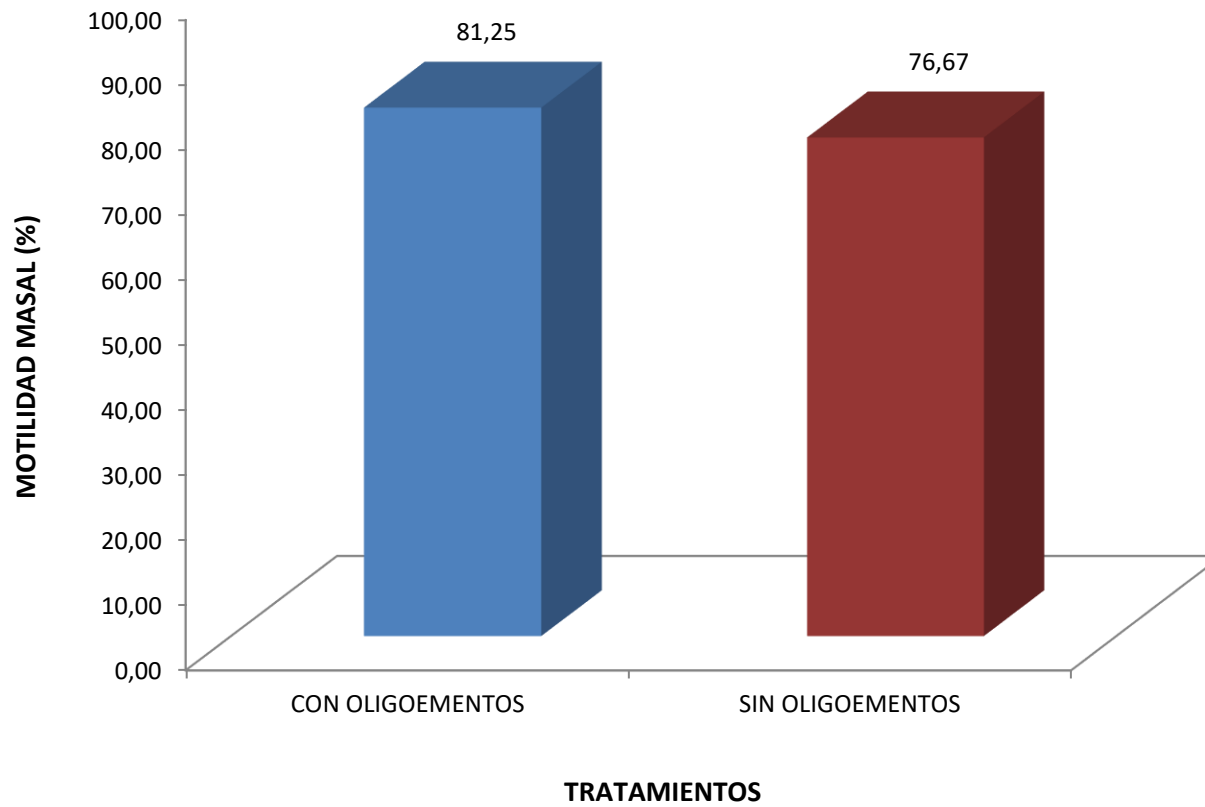


Gráfico 3. Motilidad masal del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos.

## 10. Vitalidad espermática

La Vitalidad espermática evaluada por la integridad y calidad de la membrana del espermatozoide, mediante la técnica de tinción con Eosina-Nigrosina, presentó diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), de esta manera el mayor porcentaje de vitalidad fue identificado en los eyaculados provenientes de las alpacas machos tratados con oligoelementos en los cuales se determinó un promedio de  $71,25 \pm 0,66$  % mientras que un menor valor para esta variable fue identificado en las alpacas machos pertenecientes al grupo control con 66,67 % de vitalidad, (cuadro 6 y gráfico 4).

El elemento zinc se encarga en la producción y/o viabilidad de los espermatozoides, en la prevención de la degradación de los espermatozoides y en la estabilización de la membrana del esperma

Para la determinación del porcentaje de espermatozoides vivos/muertos se requiere de la utilización de coloraciones supravitales, el colorante más utilizado es el colorante de Hancock (eosina/nigrosina) que permite visualizar los espermatozoides vivos de un color blanco brillante y los muertos de un color rosado, todos sobre una superficie oscura (Bravo, 2002; Aller *et al.*, 2003).

El porcentaje de espermatozoides vivos es constante a pesar de incrementar la frecuencia de colección, existe una ligera disminución de la vitalidad entre colecciones, pero no es significativa (Bravo *et al.*, 1997).

La vitalidad y la motilidad de los espermatozoides de llama obtenidos por vagina artificial se ve afectada negativamente por la presencia de espuma en el eyaculado, lo que afecta los movimientos de penetración del macho (Giuliano *et al.*, 2007).

Últimas investigaciones en la evaluación de la vitalidad sugieren que la utilización de tinciones supra vitales no son adecuadas para el semen de camélidos, puesto que muchas veces el gel del plasma seminal no permite que el colorante tenga contacto con la membrana espermática, es por esto que se propone la utilización

de tinciones fluorescentes como el fluorocromodiacetato de 6-carboxifluoresceína (CFDA) e yoduro de propidio (PI) para evaluar la funcionalidad de la membrana espermática y así la vitalidad, reportándose datos de vitalidad en espermatozoides de llama obtenidos por electroeyaculación de 59.70% y 63.7% Carretero, P. (2009).

### **11. Mortalidad espermática**

Por otra parte la mortalidad espermática determinada en los eyaculados de alpaca macho presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), es así que el mayor porcentaje de mortalidad espermática fue determinado en los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al tratamiento testigo en los cuales se determinó una media de  $33,33 \pm 0,69$  % mientras que una menor tasa de mortalidad se registró en las alpacas machos tratadas con oligoelementos alcanzando un promedio de 28,83 % de mortalidad, (cuadro 6).

### **12. Anormalidades de la cabeza**

Las formas anormales de la cabeza de los espermatozoides observadas microscópicamente en los eyaculados de las alpacas machos, presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), es así que se determinó un mayor valor de anormalidades en los espermatozoides de las alpacas machos pertenecientes al grupo control con un promedio de  $2,58 \pm 0,03$  %, mientras que al emplear oligoelementos las anormalidades en la cabeza espermática disminuyen alcanzando una media de 1,45 %, (cuadro 6).

### **13. Anormalidades del cuello**

Por otro lado, en el porcentaje de anormalidades espermáticas presentes en el cuello de los espermatozoides se evidenció diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), presentando el mayor valor los espermatozoides del eyaculado de alpacas machos del grupo control con  $1,27 \pm 0,02$  %, no así los espermatozoides pertenecientes al grupo tratado con oligoelementos que presentaron un promedio de 0,73 %, (cuadro 6).



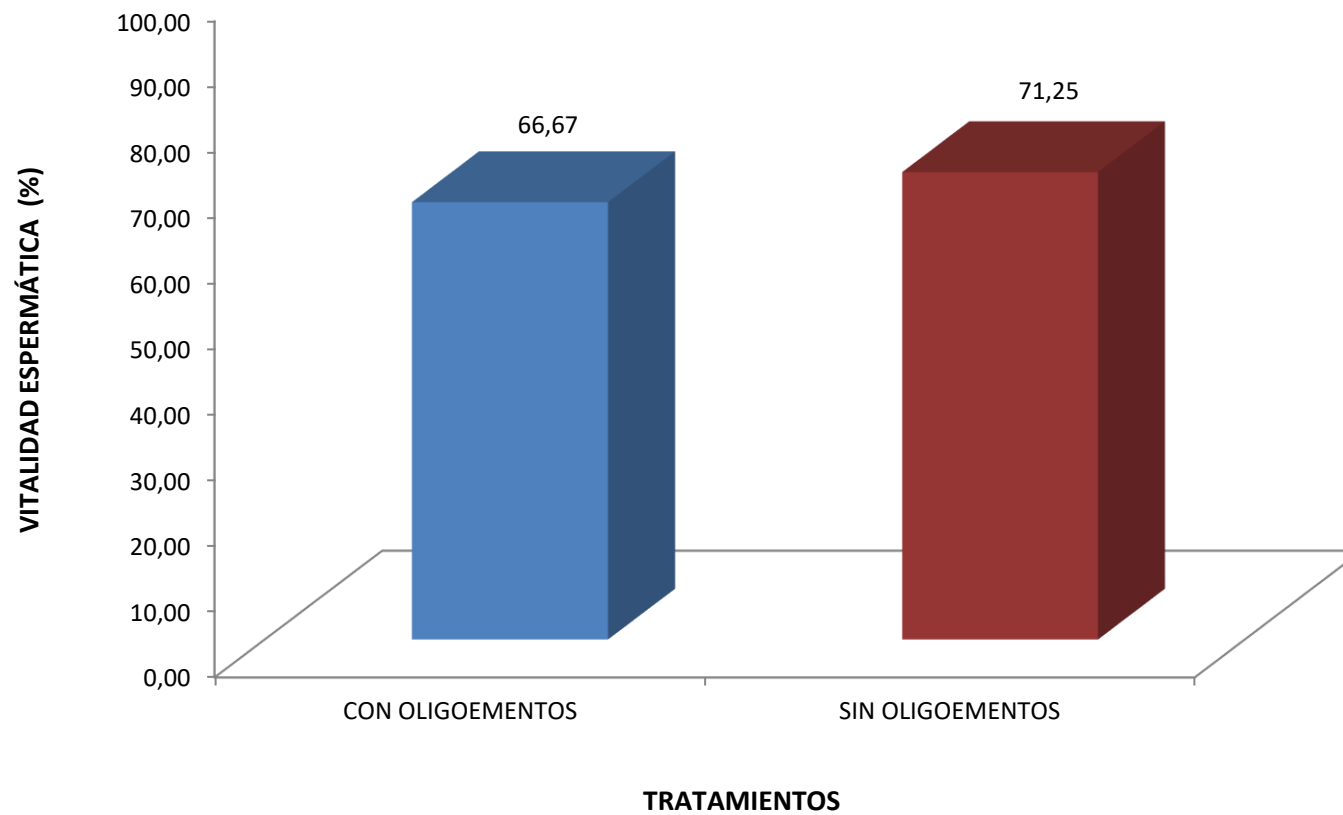


Gráfico4. Vitalidad espermática del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos.

#### **14. Anormalidades de la cola**

Por su parte las anormalidades de la cola determinadas en los espermatozoides de los eyaculados de alpacas machos, presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), identificándose el mayor valor de anormalidades en los espermatozoides de las alpacas machos pertenecientes al tratamiento Testigo con un promedio de  $5,00 \pm 0,08$  %, mientras que al emplear oligoelementos dichas anormalidades decrecen hasta alcanzar una media de 2,33 %, (cuadro 6).

#### **15. Anormalidades totales**

Las anormalidades totales determinadas en los espermatozoides de los eyaculados de alpacas machos presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), es así que el mayor porcentaje de anormalidades se estableció en los eyaculados de las alpacas pertenecientes al grupo control con  $8,85 \pm 0,09$  %, en tanto que un menor porcentaje de anormalidades totales se identificó en las alpacas machos tratadas con oligoelementos alcanzando una media de apenas 4,53 % correspondientemente, (cuadro 6 y gráfico 5).

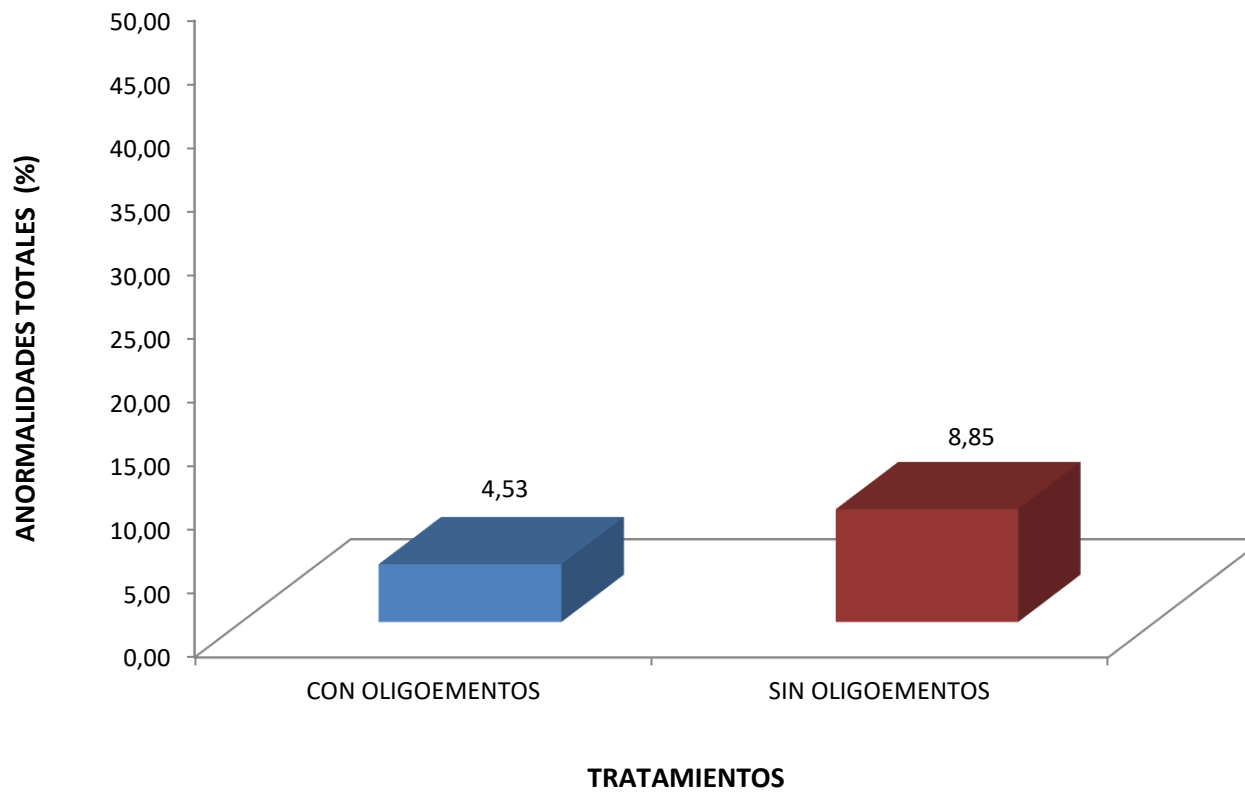


Gráfico 5. Anormalidades totales del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos.

## **B. DESCRIPCIÓN DELAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, SOMETIDOS A DIFERENTES INTERVALOS DE EXTRACCIÓN.**

Por otro lado, en las características testiculares y seminales determinadas en 12 extracciones de semen proveniente de 6 alpacas macho de raza Huacaya de 6 años de edad, presento se determino los siguientes valores de acuerdo al intervalo de extracción:

### **1. Largo testicular**

El largo testicular determinado en alpacas machos, de acuerdo al intervalo de extracción, presento diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), es así que se identifico un mayor largo testicular en las alpacas machos sometidos a un intervalo de descanso de 6 días alcanzando un promedio de  $4,34 \pm 0,03$  cm, seguidos por el promedio obtenido en los alpacas machos sometidos a un intervalo de extracción de 4 días con un valor de  $4,13 \pm 0,03$  cm, en tanto que los semovientes del grupo de alpacas sometidos a un intervalo de descanso de 2 días alcanzaron un menor largo testicular con una media de 4,02 cm, (cuadro 7).

Estos resultados son menores a los establecidos por Tapia, (2015), en su estudio sobre la evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática en alpacas, donde determino un largo testicular de 4,7 cm.

### **2. Ancho testicular**

El ancho testicular establecido en alpacas machos, de acuerdo al intervalo de extracción, presento diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), de esta manera se identifico un mayor ancho testicular en las alpacas machos sometidos a un intervalo de descanso de 6 días alcanzando un promedio de  $2,47 \pm 0,01$  cm, seguidos por el promedio obtenido en los alpacas machos sometidos a un intervalo de extracción de 4 días con un valor de  $2,38 \pm 0,01$  cm, finalmente los semovientes del grupo de alpacas sometidos a un intervalo de descanso de 2 días, alcanzaron un menor largo testicular con una media de 2,33 cm, (cuadro 7).

Cuadro 7. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y SEMINALES DEL EYACULADO DE ALPACAS MACHOS, SOMETIDOS A DIFERENTES INTERVALOS DE EXTRACCIÓN.

CARACTERÍSTICAS	INTERVALOS DE EXTRACCIÓN (Días)			EE	Prob.
	2	4	6		
<b>Macroscópicas</b>					
Largo Testicular, cm	4,02 b	4,13 b	4,34 a	0,03	0,001
Ancho Testicular, cm	2,33 c	2,38 b	2,47 a	0,01	0,001
Color	Blanco ámbar	Blanco ámbar	Blanco ámbar	-	-
Olor	Proteico neutro	Proteico neutro	Proteico neutro	-	-
Aspecto	Viscoso	Viscoso	Viscoso	-	-
Volumen del Eyaculado, mL	1,70 c	1,78 b	1,95 a	0,01	0,001
pH	7,15 a	7,15 a	7,13 a	0,03	0,824
<b>Microscópicas</b>					
Concentración, 1X10 <sup>6</sup> Spz/mL	52,50 b	56,25 ab	60,62 a	1,20	0,009
Concentración, 1X10 <sup>6</sup> Spz/Eyaculado	89,94 b	100,33 b	119,22 a	2,76	0,001
Motilidad Masal, %	76,88 a	78,75 a	81,25 a	0,81	0,240
Motilidad Individual, Ptos.	4,19 b	4,38 ab	4,62 a	0,06	0,024
Vitalidad Espermática, %	66,88 b	68,75 ab	71,25 a	0,81	0,024
Mortalidad Espermática, %	33,13 a	31,38 ab	28,75 b	0,84	0,028
Anormalidades de la Cabeza, %	2,50 a	2,08 b	1,48 c	0,04	0,001
Anormalidades del Cuello, %	1,28 a	1,00 b	0,72 c	0,02	0,001
Anormalidades de la Cola, %	4,63 a	3,88 b	2,50 c	0,10	0,001
Anormalidades Totales, %	8,40 a	5,98 b	4,70 c	0,11	0,001

Letras iguales no difieren estadísticamente, según Tukey (P<0,05 y P<0,01)

Prob: Probabilidad de la Ho

EE: Error estándar

Al respecto Tapia,(2015), en su estudio sobre la evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática en alpacas de la provincia de Cotopaxi, determinó un ancho testicular mayor con una media de 2,6 cm, lo que se debería a factores genéticos que presentan los individuos.

### **3. Color, olor y aspecto**

La coloración que presentaron los eyaculados de alpaca macho al aplicar diferentes intervalos de extracción, en forma general fue blanco ámbar, lo que se debe a la concentración espermática sin ningún tipo de contaminante, mientras que el olor fue proteico neutro, libre de olores desagradables que podrían haber sido provocados por contaminación bacteriana, finalmente el aspecto del eyaculado fue viscoso en los tres grupos evaluados, lo cual es característico en esta especie debido a la presencia de mucopolisacaridos de secreciones de las glándulas bulbouretrales o de la próstata (Garnica et al., 1993); en llamas se describe que la fracción viscosa del semen tendría su origen en las secreciones de las glándulas bulbouretrales (Vino et al., 2003).

### **4. Volumen del eyaculado**

El volumen del eyaculado en alpacas machos, de acuerdo al intervalo de extracción, presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), con lo cual se determinó el mayor volumen de eyaculado en las alpacas machos sometidos a un intervalo de descanso de 6 días alcanzando un promedio de  $1,95 \pm 0,01$  ml, seguidos por el promedio obtenido en los alpacas machos sometidos a un intervalo de extracción de 4 días con un valor de  $1,78 \pm 0,01$  ml, por tanto los semovientes del grupo de alpacas sometidos a un intervalo de descanso de 2 días, alcanzaron el menor volumen de eyaculado con una media de 1,70 ml, (cuadro 7 y gráfico 6).

Por otro lado, el factor más importante en la variación del volumen del eyaculado en alpacas es la frecuencia de colección, pues el volumen disminuye a medida que se incrementa el uso del macho, las últimas eyaculaciones tienen menos volumen y esta disminución se presenta notoriamente después de la tercera eyaculación continua (Quispe, 1987; Tibary y Vaughan, 2006). Este aspecto es

discutible pues se encuentra en la literatura observaciones que indican que la frecuencia de colecciones no afectaría el volumen del eyaculado (Bravo *et al.*, 1997; Urquieta *et al.*, 2005).

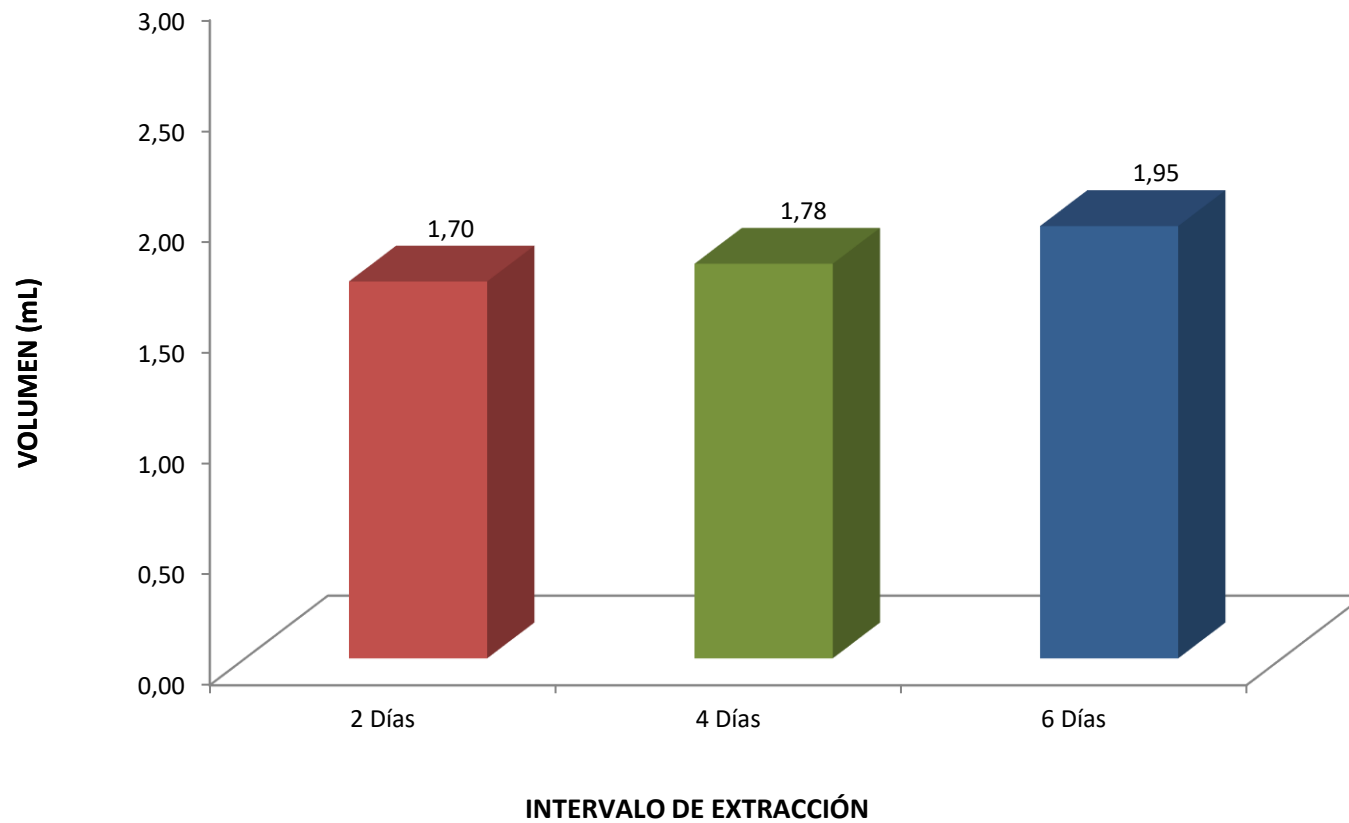


Gráfico 6. Volumen del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción.



## **5. Potencial hidrógeno**

El pH del eyaculado obtenido en las diferentes recolecciones realizadas en las alpacas machos no aducía diferencias estadísticas ( $P>0,05$ ), determinándose promedios de 7,15; 7,15 y 7,13 puntos de pH en el semen de alpaca machos sometidos a 2, 4 y 6 días de descanso para la extracción correspondientemente, (cuadro 7).

## **6. Concentración espermática/mL**

La concentración espermática es una de las características microscópicas muy primordial del semen, ya que de ello depende la cantidad de dosis seminales que se puedan obtener de cada eyaculado, es así que el número de espermatozoides por mL de eyaculado, presentó diferencias altamente significativas ( $P<0,01$ ), alcanzando una mayor concentración en el eyaculado de las alpacas machos correspondiente al intervalo de descanso de 6 días alcanzando un promedio de  $60,62 \pm 1,20 \times 10^6$  Spz/mL, en tanto que el eyaculado de las alpacas machos sometidas a un intervalo de descanso de 4 días presentaron un promedio de  $56,25 \times 10^6$  Spz/mL, mientras que los semovientes tratados con un intervalo de descanso de 2 días presentaron una menor concentración espermática con  $52,50 \times 10^6$  Spz/mL, respectivamente, (cuadro 7 y gráfico 7).

## **7. Concentración espermática/eyaculado**

El número de espermatozoides por eyaculado, presentó diferencias altamente significativas ( $P<0,01$ ), alcanzando un mayor promedio de concentración el eyaculado de las alpacas machos expuestos a un de intervalo de descanso de 6 días presentando un promedio de  $119,22 \times 10^6$  Spz/eyaculado, en tanto que las alpacas machos pertenecientes al grupo sometido a 4 días de intervalo de descanso presentaron una concentración media de  $100,33 \times 10^6$  Spz/eyaculado, en tanto que las alpacas machos sometidas a un intervalo de descanso de 2 días mostraron una menor concentración espermática con  $89,94 \times 10^6$  Spz/eyaculado, correspondientemente, (cuadro 7).

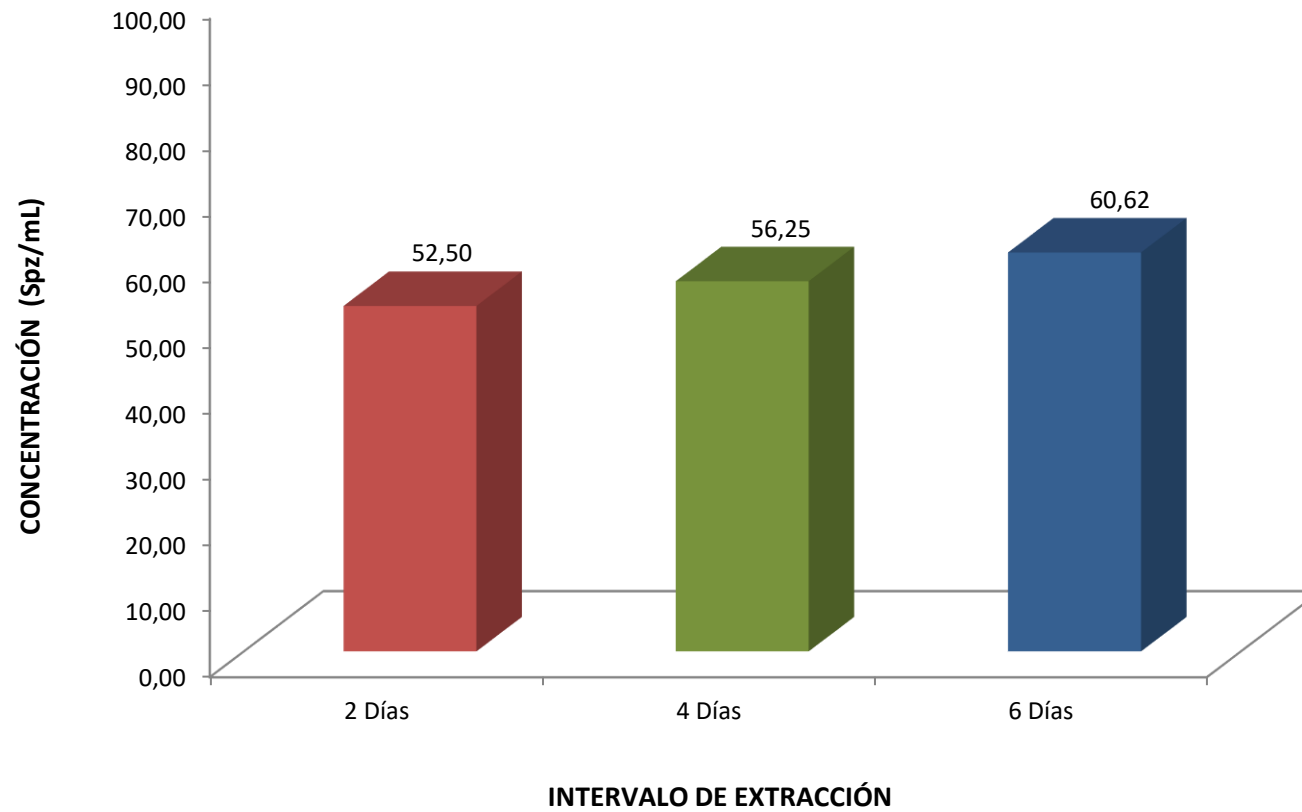


Gráfico 7. Concentración espermática del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción.

## **8. Motilidad masal**

La motilidad masal observada microscópicamente, en las diferentes recolecciones realizadas, no presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,05$ ), obteniéndose el mayor promedio en el semen proveniente de las alpacas machos tratados con 6 días de intervalo de extracción con un promedio de  $81,25 \pm 0,81$  %, mientras que los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al grupo sometido a 4 días de intervalo de descanso presentaron un promedio de  $78,75$  %, en tanto que las alpacas machos sometidas a 2 días de intervalo de descanso alcanzaron una motilidad de  $76,88$  % respectivamente, (cuadro 7 y gráfico 8).

## **9. Motilidad individual**

La motilidad individual observada microscópicamente, en las diferentes extracciones realizadas, presentó diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ), obteniéndose el mayor puntaje en el semen proveniente de alpacas machos sometidos a 6 días de intervalo de descanso con  $4,62 \pm 0,06$  puntos, en tanto que los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al grupo sometido a 4 días de intervalo de descanso presentaron una motilidad individual promedio de  $4,38$  puntos, finalmente en los semovientes sometidos a 2 días de intervalo de descanso se determinó una motilidad individual de  $4,19$  puntos correspondientemente, (cuadro 7).

## **10. Vitalidad espermática**

La Vitalidad espermática evaluada, mediante la técnica de tinción con Eosina-Nigrosina, presentó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), de este modo el mayor porcentaje de vitalidad fue identificado en los eyaculados provenientes de alpacas machos sometidos a 6 días de intervalo de descanso, en los cuales se determinó un promedio de  $71,25 \pm 0,81$  %, mientras tanto las alpacas machos pertenecientes al grupo tratado con 4 días de intervalo de descanso mostraron una vitalidad promedio de  $68,75$  %, mientras que en última instancia los eyaculados provenientes de los alpacas machos sometidos a 2 días de descanso presentaron un menor valor de vitalidad con  $66,88$  %, (cuadro 7 y gráfico 9).

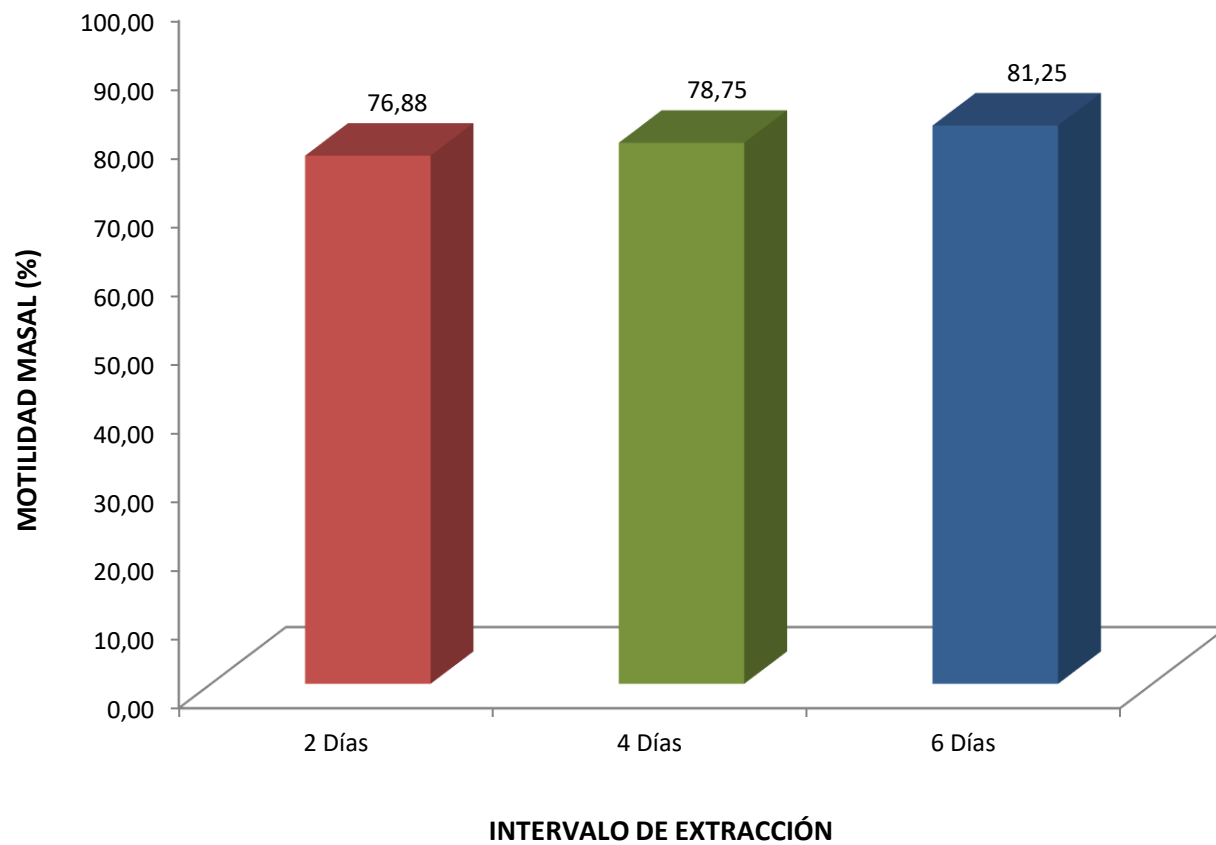


Gráfico 8. Motilidad del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción.

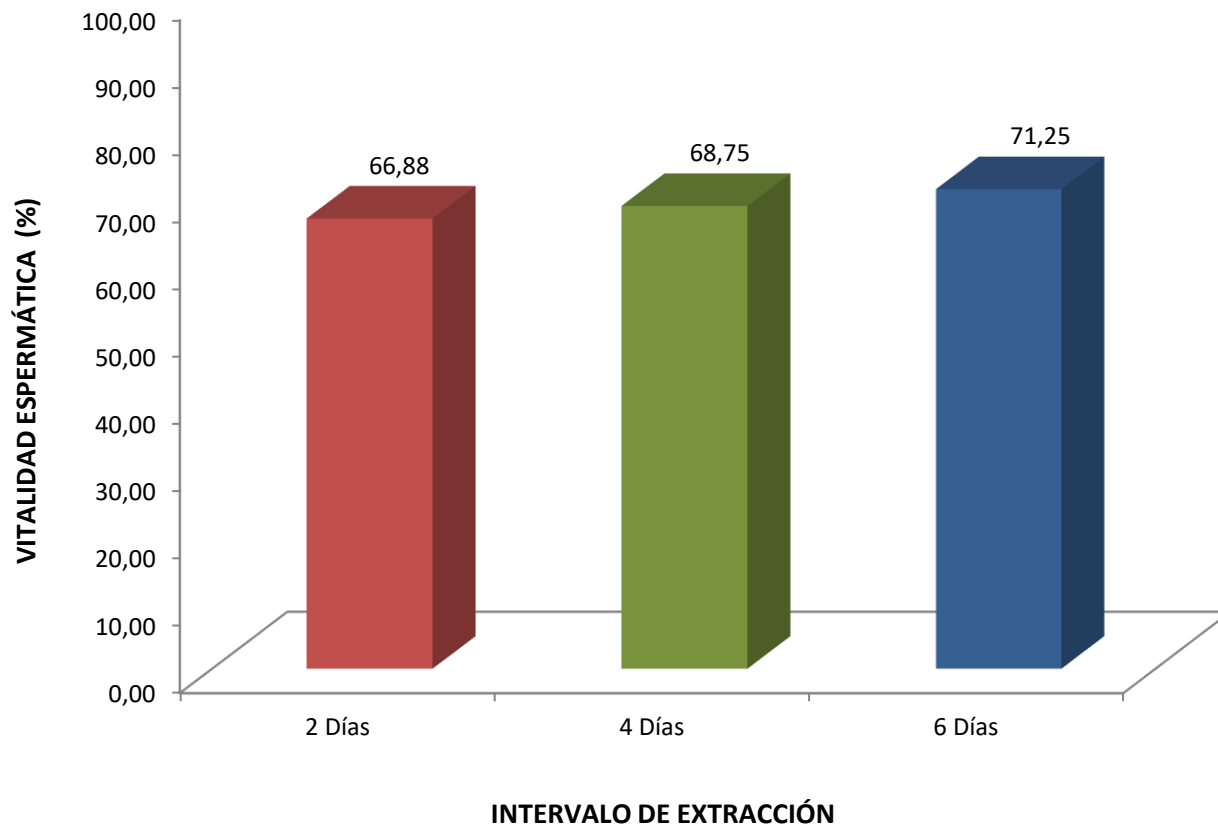


Gráfico 9. Vitalidad espermática del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción.

### **11. Mortalidad espermática**

La mortalidad espermática determinada en los eyaculados de alpacas macho presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), es así que el mayor porcentaje de mortalidad espermática fue determinado en los eyaculados provenientes de las alpacas machos pertenecientes al grupo tratado con 2 días de intervalo de descanso con un promedio de 33,13 %, por su parte las alpacas machos sometidos a un descanso de 4 días de intervalo presentaron una de media de 31,38 % de mortalidad espermática, mientras que una menor tasa de mortalidad se registró en los eyaculados de las alpacas machos sometidas a 6 días de descanso alcanzando un promedio de  $28,75 \pm 0,84$  % de mortalidad espermática, (cuadro 7).

### **12. Anormalidades de la cabeza**

Las formas anormales de la cabeza de los espermatozoides observadas microscópicamente en los eyaculados de las alpacas machos, presentaron diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), es así que se determinó un mayor valor de anormalidades en los espermatozoides de las alpacas machos pertenecientes a los 2 días de intervalo de descanso con un promedio de  $2,50 \pm 0,04$  %, mientras tanto los semovientes sometidos a 4 días de intervalo de descanso mostraron un promedio de 2,08 %, y finalmente el eyaculado de los semovientes pertenecientes a los 6 días de intervalo de descanso presentaron una menor tasa de anormalidades con un valor de 1,48 %, (cuadro 7).

### **13. Anormalidades del cuello**

Por otro lado, en el porcentaje de anormalidades espermáticas presentes en el cuello de los espermatozoides se evidenció diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), presentando el mayor valor los espermatozoides del eyaculado de alpacas machos sometidos a 2 días de intervalo de descanso con un promedio de  $1,28 \pm 0,02$  %, en tanto que las alpacas machos pertenecientes a los 4 días de intervalo de descanso alcanzaron un promedio de 1,00 %, finalmente las alpacas machos sometidos a los 6 días de intervalo de descanso presentaron un promedio

0,72 %, cuadro 7.

#### **14. Anormalidades de la cola**

Por su parte las anormalidades de la cola determinadas en los espermatozoides de los eyaculados de alpacas machos, presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ), identificándose el mayor valor de anormalidades en los espermatozoides de las alpacas machos pertenecientes al grupo de semovientes sometidos a los 2 días de intervalo de descanso con un promedio de  $4,63 \pm 0,10$  %, mientras que las alpacas machos pertenecientes a los 4 días de intervalo de descanso presentaron una media de 3,88 %, finalmente en última instancia se registró el promedio obtenido en las alpacas machos sometidas a 6 días de descanso presentando una media de 2,50 %, (cuadro 7).

#### **15. Anormalidades totales**

Las anormalidades totales determinadas en los espermatozoides de los eyaculados de alpacas machos presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), es así que el mayor porcentaje de anormalidades se estableció en los eyaculados de las alpacas machos sometidos a los 2 días de intervalo de descanso con un  $8,40 \pm 0,11$  %, mientras tanto los semovientes sometidos a los 4 días de intervalo de descanso presentaron eyaculados con 5,98 % de anormalidades totales, en tanto que un menor porcentaje de anormalidades espermáticas totales se identificó en los eyaculados de las alpacas machos sometidas a los 6 días de intervalo de descanso con una media de 4,70 % correspondientemente, (cuadro 7 y gráfico 10).

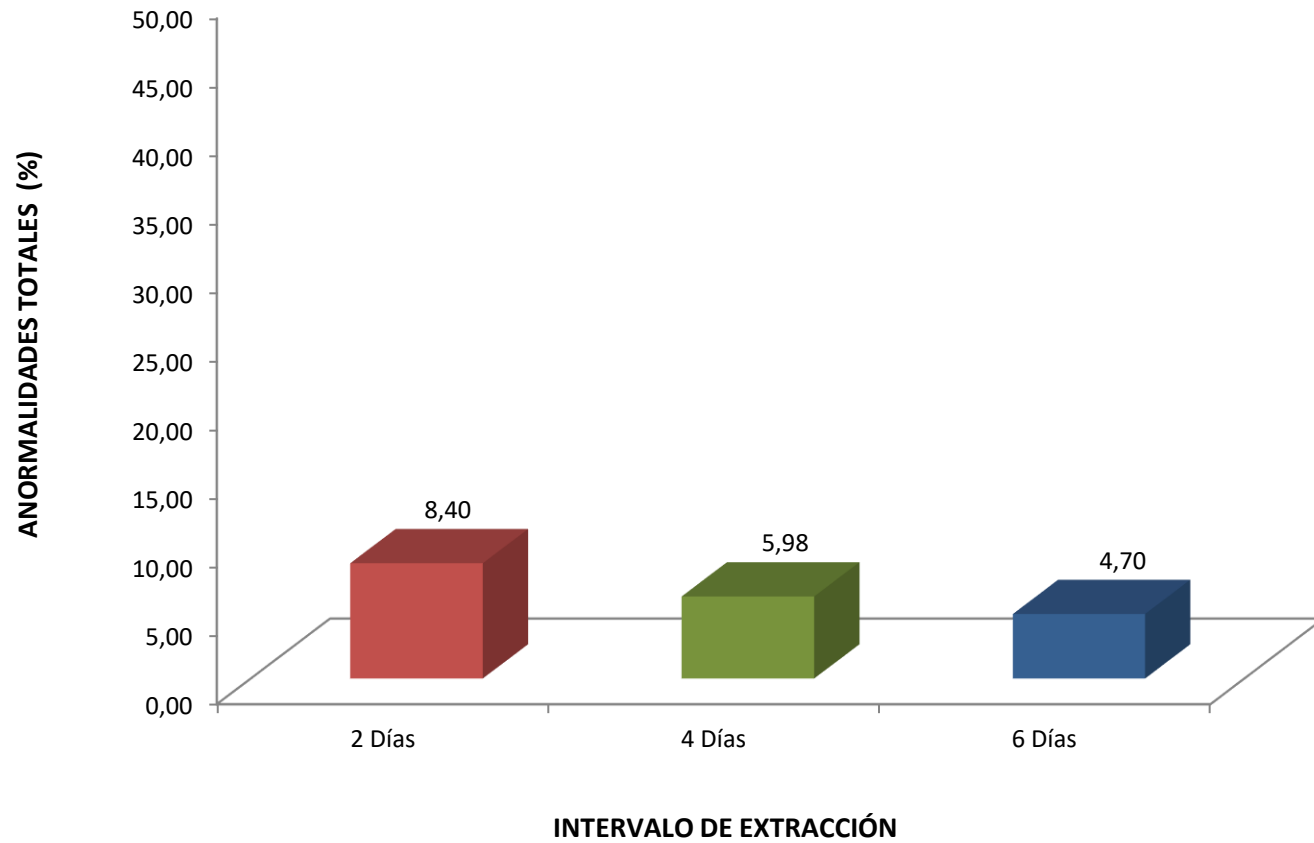


Gráfico 10. Anormalidadestotales del eyaculado de alpacas machos, sometidos a diferentes intervalos de extracción.



## **V. CONCLUSIONES**

1. El uso de oligoelementos, subjetivamente mejora las características sensoriales como el color, olor y aspecto.
2. La aplicación de oligoelementos mejora: el volumen, concentración, motilidad, vitalidad espermática y reducción considerable de anomalías en la cabeza, cuello y cola de los espermatozoides en los eyaculados de alpacas macho tratadas con oligoelementos durante la etapa reproductiva
3. Los parámetros macroscópicos y microscópicos en el eyaculado de alpacas machos son superiores a medida que se incrementa el intervalo de extracción, obteniéndose los mejores resultados al utilizar un periodo de descanso de 6 días.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Utilizar oligoelementos y 6 días de intervalo de extracción en alpacas machos durante la etapa reproductiva, debido a que en la presente investigación se obtuvieron los mejores resultados de valoración seminal.
2. Realizar otras investigaciones en el área reproductiva de alpacas que permitan criopreservar el material seminal que se ha visto mejorado con la influencia de oligoelementos y un mayor periodo de descanso para la extracción seminal.
3. Difundir los resultados obtenidos a nivel de pequeños, medianos y grandes productores de alpacas a fin de mejorar los parámetros reproductivos de las alpacas machos y la fertilidad de sus caravanas.

## VII. LITERATURA CITADA

1. Adams, G. (2005). Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas y llamas. *Biol. Reprod. Canadá.* p: 452-457
2. Aguilar, E. (2005). Variaciones estacionales de características seminales, circunferencia escrotal y comportamiento sexual de carneros de las razas Hampshire, Corriedale y Suffolk. (Tesis de Maestría). Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires - Argentina. p.78
3. Copa, S. (2003). efecto de la bulbourectomía y periodicidad de colección en las características macro y microscópicas del eyaculado en llamas (*Lama glama*). *Camélidos.* (Tesis de Maestría). Universidad Católica Boliviana San Pablo. La Paz - Bolivia.
4. Barrios, B., Pérez, R., & Gallego, M. (2000). Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biol Reprod.* pp.1531-1537
5. Bravo, P., Alarcon, V., & Ordoñez, C. (2012). Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* pp. 157- 163
6. Bravo, P. (2000). Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. *Anim. Reprod. Sci.* pp. 173-193
7. Brown, B. (2000). A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* pp. 169-195
8. Bustinza, V. (2001). La alpaca: crianza, manejo y mejoramiento. Tomo II. Puno: Oficina de Recursos del Aprendizaje. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bolivia. p. 343
9. Dávalos, R. (2002). Evaluación de dos formas de colección de semen en

alpacas. Rev. Inv. Vet. Perú. pp. 98-99

10. Delgado, G. (2003). Reproduction in the llama (*Lama glama*), a South American Camelid. I. Spermatogenesis and organization of the Intertubular space of the mature testis. *Acta Anat.* pp. 59-66
11. Duno, R. (2013). CIAM, tecnología para el conocimiento -México: Universidad de Colima. Centro Interactivo de Aprendizaje Multimedia. Recuperado el 1 febrero 2013, de <http://ciam.ucol.mx/portal/index.php>.
12. Fowler, M. (2008). *Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco.* (2ª. ed). Iowa: Blackwellpublishing. p. 564
13. Galloway, B. (2000). The development of the testicles in alpaca in Australia. En: *Proceedings of the Australian Alpaca Association Conference.* Canberra.
14. Garner, H. (2002). Espermatozoides y plasma seminal. En: Hafez E. S. E., Hafez B., eds. *Reproducción e inseminación artificial en animales.* 7a ed. México: McGraw Hill Interamericana. p. 98-112
15. Garnica, J. (2003). Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim. Reprod. Sci.* pp. 85-90.
16. Hafez, B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial.* (7ª ed). Carolina del Sur: Interamericana. p. 519.
17. Kubicek, T., Ridland, M., & Scott, I. (2004). Foetal mortality at different stages of gestation in alpacas (*Lama pacos*) and the associated changes in progesterone concentrations. *Anim. Reprod. Sci.* pp. 89-97.
18. Medina, P. (2013). Freezing and living cells: mechanism and implications. *Am J Physiol – Cell Physiol* pp. 247: 125-142

19. Mogrovejo, D. (2002). Estudios del semen de alpacas. (Tesis de grado. Médico Veterinario). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. p. 21
20. Montalvo, C., Cevallos, E., & Copaira, M. (2009). Estudio microscópico del parénquima testicular de la alpaca durante las estaciones del año. Res Proyectos de Investigación. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. p. 37.
21. Nabiev, D., Gilles, M., & Mahabir, E. (2003): Comparison of AndroMed® and tris-egg yolk extender bovine post-thaw sperm function parameters and in vitro fertility. *Theriogenology*. p. 226.
22. Novoa, C., Leyva, V. (2006). Reproducción en alpacas y llamas. Publicación científica IVITA- UNMSM. pp. 26 - 32.
23. Paricahua, E. (2001). Evaluación del eyaculado sin la secreción de las glándulas anexas en alpaca. (Tesis de Maestría) Universidad Nacional Autónoma de México. -Puno. Perú.
24. Pérez, G. (2006). Avances de la congelación de semen de alpacas y tasas de gestación. I Congreso Mundial sobre Camélidos. 6 -10 Octubre. Cajamarca - Perú. p 29.
25. Quintano, J. (2002). Determinación de la sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca (lama pacos) colectados del conducto deferente con el uso de tres dilutores. (Tesis de Maestría) Universidad Nacional Autónoma de México. Puno - Perú.
26. Sumar J. (2002). Llamas y alpacas. En: Hafez ESE, Hafez B. eds. Reproducción e inseminación artificial en animales. (7ª.ed). México: McGraw Hill Interamericana. pp. 224- 242.
27. Tapia, P. (2015). Evaluación de la morfometría testicular y la concentración espermática por edad (2-4 y de 4-6 años) en Alpacas en el barrio

Igshagua, parroquia Juan Montalvo. (Tesis de grado. Médico Veterinario Zootecnista). Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga - Ecuador. pp. 31-32.

28. Machado, J., Aldana, A., & Héctor, M. (Dir.) (2001). Anatomía del aparato reproductor del macho alpaca. Enciclopedia agropecuaria Terranova. (2ª. ed). Colombia. ISBN: 958-9271-25-1. pp. 153-167
29. Tibary, J. (2006). Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: a review and clinical observations. Small Rumin. Res. pp. 283-298.

# ANEXOS

Anexo 1. Evaluación de las características testiculares y seminales del eyaculado de alpacas machos, bajo la influencia de oligoelementos y diferentes intervalos de extracción.

a. LARGO TESTICULAR

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	0.35849167			

A	1	0.08167500	0.08167500	17.72	0.0056
B	2	0.21791667	0.10895833	23.64	0.0014
A*B	2	0.03125000	0.01562500	3.39	0.1035
Error	6	0.02765000	0.00460833		

%CV	DS	MM
1.629559	0.067885	4.165833

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A	
------------	----	---	----------------	--

A	4.24833	0.03	6	CON
				B
				4.08333
				0.03
				6
				SIN

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B	
------------	-----	----------------	--

A	4.34500	0.03	4	6
B	4.13250	0.03	4	4
				B
				4.02000
				0.03
				4
				2

### b. ANCHO TESTICULAR

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Ca1	Pr > F
Total	11	0.20896667			
A	1	0.16333333	0.16333333	426.09	<.0001
B	2	0.04086667	0.02043333	53.30	0.0002
A*B	2	0.00246667	0.00123333	3.22	0.1123
Error	6	0.00230000	0.00038333		

%CV	DS	MM
0.818630	0.019579	2.391667

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A	
------------	----	---	----------------	--

A	2.50833	0.01	6	CON
				B
				2.27500
				0.01
				6
				SIN

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B	
------------	-----	----------------	--

				A
				2.47000
				0.01
				4
				6
B	2.37500	0.01	4	4
				C
				2.33000
				0.01
				4
				2

### c. VOLUMEN DEL EYACULADO

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Ca1	Pr > F
Total	11	0.38416667			
A	1	0.24083333	0.24083333	289.00	<.0001
B	2	0.13166667	0.06583333	79.00	<.0001
A*B	2	0.00666667	0.00333333	4.00	0.0787
Error	6	0.00500000	0.00083333		

%CV	DS	MM
1.596360	0.028868	1.808333

TukeyMedia	EEN	Tratamientos A	
------------	-----	----------------	--

				A
				1.95000
				0.01
				6
				CON
B	1.66667	0.01	6	SIN

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B	
------------	----	---	----------------	--

A	1.95000	0.01	4	6
B	1.77500	0.01	4	4
				C
				1.70000
				0.01
				4
				2

### d. pH

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Ca1	Pr > F
---------------------	----	----	----	-------	--------



Total	11	0.02916667					
A	1	0.00083333	0.00083333	0.20	0.6704		
B	2	0.00166667	0.00083333	0.20	0.8240		
A*B	2	0.00166667	0.00083333	0.20	0.8240		
Error	6	0.02500000	0.00416667				

%CV                      DS                      MM  
0.903847                      0.064550                      7.141667

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A				
			A	7.15000	0.03	6	CON
A	7.13333	0.03	6	SIN			

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B						
		A	7.15000	0.03	4	2		
A	7.15000	0.034	6	A	7.12500	0.03	4	4

#### e. CONCENTRACIÓN Spz./mL

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	493.2291667			
A	1	325.5208333	325.5208333	56.82	0.0003
B	2	132.2916667	66.1458333	11.55	0.0088
A*B	2	1.0416667	0.5208333	0.09	0.9143
Error	6	34.3750000	5.7291667		

%CV                      DS                      MM  
4.239530                      2.393568                      56.45833

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A					
			CON					
A	61.667	0.98	6	B	51.250	0.98	6	SIN

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B				
		A	60.625	1.20	4	6
B	56.250	1.20	4	A	4	
		B	52.500	1.20	4	2

#### f. CONCENTRACIÓN Spz/Eyaculado

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	5712.357292			
A	1	3663.459075	3663.459075	120.26	<.0001
B	2	1763.181317	881.590658	28.94	0.0008
A*B	2	102.943050	51.471525	1.69	0.2618
Error	6	182.773850	30.462308		

%CV                      DS                      MM  
5.350157                      5.519267                      103.1608

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A			
			CON			
A	120.633	6	B	85.688	6	SIN

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B			
A	119.220	4	6		
B	100.325	4	4		
B	89.938	4	2		

#### g. MOTILIDAD MASAL

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	118.2291667			

A	1	63.02083333	63.02083333	24.20	0.0027
B	2	38.54166667	19.27083333	7.40	0.0240
A*B	2	1.04166667	0.52083333	0.20	0.8240
Error	6	15.6250000	2.6041667		

%CV	DS	MM
2.043791	1.613743	78.95833

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A	
------------	----	---	----------------	--

A	81.2500	0.66	6	CON
				B
				76.6667
				0.66
				6
				SIN

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B	
------------	----	---	----------------	--

A	81.250	0.81	4	6
B	A	78.750	0.81	4
				4
				B
				76.875
				0.81
				4
				2

#### h. MOTILIDAD INDIVIDUAL

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	1.18229167			
A	1	0.63020833	0.63020833	24.20	0.0027
B	2	0.38541667	0.19270833	7.40	0.0240
A*B	2	0.01041667	0.00520833	0.20	0.8240
Error	6	0.15625000	0.02604167		

%CV	DS	MM
3.671074	0.161374	4.395833

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A	
------------	----	---	----------------	--

A	4.62500	0.05	6	CON
				B
				4.16667
				0.05
				6
				SIN

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B	
------------	----	---	----------------	--

A	4.6250	0.06	4	6
				B
				A
				4.3750
				0.06
				4
				4
				B
				4.1875
				0.06
				4
				2

#### i. VITALIDAD

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	118.2291667			
A	1	63.02083333	63.02083333	24.20	0.0027
B	2	38.54166667	19.27083333	7.40	0.0240
A*B	2	1.04166667	0.52083333	0.20	0.8240
Error	6	15.6250000	2.6041667		

%CV	DS	MM
2.340171	1.613743	68.95833

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A	
------------	----	---	----------------	--

A	71.2500	0.66	6	CON
B	66.6667	0.66	6	SIN

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B	
------------	----	---	----------------	--

A	71.250	0.81	4	6
B	A	68.750	0.81	4
				4
				B
				66.875
				0.81
				4
				2

#### j. MORTALIDAD ESPERMÁTICA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	117.4166667			
A	1	60.75000000	60.75000000	21.44	0.0036

B		2	38.79166667	19.39583333	6.85	0.0283
A*B		2	0.87500000	0.43750000	0.15	0.8602
Error		6	17.00000000	2.83333333		

%CV	DS	MM
5.415284	1.683251	31.08333

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A
A	33.3333	6	SIN
B	28.8333	6	CON

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B
A	33.125	4 2
B A	31.375	4 4
B	28.750	4 6

#### k. ANORMALIDADES DE LA CABEZA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	6.03666667			
A	1	3.85333333	3.85333333	578.00	<.0001
B	2	2.12166667	1.06083333	159.12	<.0001
A*B	2	0.02166667	0.01083333	1.62	0.2729
Error	6	0.04000000	0.00666667		

%CV	DS	MM
4.048743	0.081650	2.016667

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A
A	2.58333	0.03	6 SIN
			B 1.450000.03 6 CON

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B
A	2.50000	0.04 4 2
B	2.07500	0.04 4 4
		C 1.47500 0.04 4 6

#### l. ANORMALIDADES DEL CUERPO

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	1.47000000			
A	1	0.85333333	0.85333333	512.00	<.0001
B	2	0.60500000	0.30250000	181.50	<.0001
A*B	2	0.00166667	0.00083333	0.50	0.6297
Error	6	0.01000000	0.00166667		

%CV	DS	MM
4.082483	0.040825	1.000000

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A
A	1.26667	0.02	6 SIN
			B 0.73333 0.02 6 CON

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B
A	1.27500	0.02	4 2
B	1.00000	0.02	4 4
			C 0.72500 0.02 4 6

#### m. ANORMALIDADES DE LA COLA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	31.16666667			
A	1	21.33333333	21.33333333	512.00	<.0001
B	2	9.29166667	4.64583333	111.50	<.0001

A*B		2	0.29166667	0.14583333	3.50	0.0983
Error		6	0.25000000	0.04166667		

			%CV	DS	MM
			5.567022	0.204124	3.666667

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A			
------------	----	---	----------------	--	--	--

A	5.0000	0.08	6	SIN		
				B	2.3333	0.08 6 CON

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos B			
------------	----	---	----------------	--	--	--

A	4.6250	0.10	4	2		
B	3.8750	0.104	4			
				C	2.5000	0.10 4 6

n. ANORMALIDADES TOTALES

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	11	84.28916667			
A	1	55.90083333	55.90083333	1099.69	<.0001
B	2	27.86166667	13.93083333	274.05	<.0001
A*B	2	0.22166667	0.11083333	2.18	0.1942
Error	6	0.30500000	0.05083333		

			%CV	DS	MM
			3.369302	0.225462	6.691667

TukeyMedia	EE	N	Tratamientos A			
------------	----	---	----------------	--	--	--

A	8.8500	0.09	6	SIN		
				B	4.5333	0.09 6 CON

TukeyMedia	EEN	Tratamientos B			
------------	-----	----------------	--	--	--

A	8.4000	0.11	4	2		
B	6.9750	0.11	4	4		
C	4.7000	0.11	4	6		