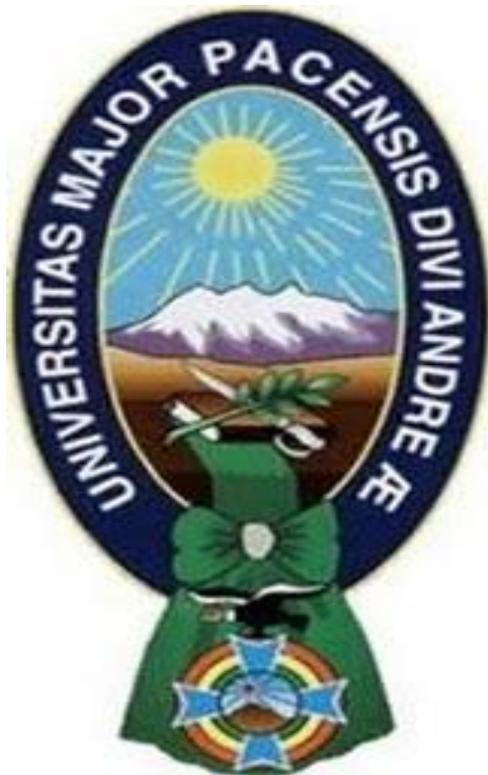


**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**



TESIS DE GRADO

**“EVALUACION DE DOS TECNICAS DE COLECCIÓN DE
SEMEN EN LLAMAS (*Lama glama*) EN LA ESTACION
EXPERIMENTAL DE CHOQUENAIRA”**

ELIANA MIROSLABA VALLE ZAPATA

La Paz, Bolivia

2013

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**

**EVALUACION DE DOS TECNICAS DE COLECCIÓN DE SEMEN EN LLAMAS
(*Lama glama*) EN LA ESTACION EXPERIMENTAL DE CHOQUENAIRA**

Tesis de Grado presentado como requisito

Parcial para optar el Título de

Ingeniero Agrónomo

ELIANA MIROSLABA VALLE ZAPATA

Asesor (es):

Ing. Zenon Martinez Flores

Dr. Rene Condori Equice

Dra. Justina Ordoñez Jorge

Tribunal Revisor:

Dr. Bernardo Soliz Guerrero

Ing. Hector Cortez Quispe

Lic. Edgar Garcia Cárdenas

Aprobada

Presidente Tribunal Examinador:

Dedicatoria

A Luis Valle Zalles, mi padre, por apoyarme en todos mis estudios incondicionalmente y de enseñarme que no cualquiera puede ser el mejor pero el mejor puede venir de cualquier lado, papi, gracias por ayudarme a salir adelante.

A Ines Zapata Reyes, mi madre, (Q.E.P.D), por enseñarme que con fe y valor el día de mañana será mejor, gracias mami por ser la ternura y mi eterno apoyo por que sin ti no hubiera podido salir adelante, llegue hasta aquí gracias a tu confianza y se que desde el cielo me seguirás guiando. .

A Gheiber Valle Zapata, mi Hermano mayor, quien siempre fue un ejemplo a seguir y un gran apoyo que como segundo padre de la familia siempre me dio un gran ejemplo .

A Bismark Valle Zapata, mi hermano mayor y amigo, por apoyarme, en las buenas y malas y ser mi más grande ejemplo a seguir por su humildad y fuerza para salir adelante.

A mi compañero y padre del motor de mi vida Pablo y mi hijito Andrésito, quien con su llegada hizo mejores mis días dándome fuerza y coraje para seguir adelante.

Sobre todo a Dios, gracias mi señor por haber puesto en mi camino ángeles hechas personas que me ayudaron, alegraron y consolaron, el presente logro te lo dedico a ti mi fiel compañero mi señor.

Agradecimientos

A la Estación Experimental de Choquenaira, especialmente al director de la institución MVZ Rene Condori Equice como al personal y equipo de trabajo, por las facilidades y el trato amical que siempre me han brindado.

Al Ing. Zenón Martínez, por ser un segundo padre y haberme inculcado la inquietud por la investigación como también por colaborarame con su asesoría y la confianza depositada, aún sin conocerme.

A Eulogio Kantuta, encargado del Laboratorio de la Estación de Choquenaira, por el desinteresado apoyo, brindado durante y después de la ejecución de la investigación.

A la Dra. Justina Ordoñez Jorge, por la asesoría y apoyo depositado en la elaboración de la tesis.

Sobre todo a mi papito y mamita, gracias por soportarme y aguantarme, perdón por haberlos hecho renegar, gracias mami por acompañarme en las buena y malas por darme valor y esperanza, por darme paz en mi tormenta, gracias mami por haberme dado la vida y si volviera a nacer pediría volver a nacer de ti, te Amo mucho, todo esto te lo debo a ti por eso todo te lo dedico a ti y a mi amado papito, .gracias mamita linda que desde el cielo sé que aún me seguirás guiando y acompañando .

A mis compañeros Tesistas de la estación experimental de Choquenaira, Gabriel Chipana y Betty Qhuno, gracias por compartir agradables momentos.

A mis amigos de siempre, los que están en las buenas y en las malas Vaneza Heredia, Denis Díaz, MJS, Familia Escalante, Amigos de colegio.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen.....	xvii
Abstract.....	xix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVO GENERAL	2
2.1. Objetivo general.....	2
2.2. Objetivos específicos.....	2
3 . REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3.1. Técnicas de colección de semen en otras especies.....	3
- Colección vaginal.....	3
- Colectores peneanos o vaginales.....	3
- Método de la esponja.....	3
- Manipulación mecánica.....	3
- Manual.....	4
- Método de la vagina artificial	4
- Método de la electroeyaculación	4
3.2. Clasificación taxonómica de la especie.....	4
3.3. Reproducción de camélidos.....	5
3.3.1. Bases anatómicas de la reproducción en el macho.....	5

3.3.1.1. Estructura externa.....	5
- Testículo.....	5
- Pene y prepucio.....	6
3.3.1.2. Estructura interna.....	7
- Epidídimo y conducto deferente.....	8
- Glándulas sexuales accesorias.....	9
- Glándulas bulbo uretrales.....	9
3.4. Pubertad en los machos.....	9
3.5. Regulación hormonal de la espermatogénesis.....	10
3.6. Espermatogénesis y producción espermática.....	11
3.6.1. Espermatocitogenesis.....	12
3.6.2. Espermiogenesis.....	12
3.7. Mecanismo de eyaculación.....	13
3.8. Características del semen.....	14
3.9. Morfología y estructura espermática.....	16
3.9.1. Morfología Normal.....	16
3.9.2. Morfología Anormal.....	17
3.10.a. Estación sexual.....	20
3.10.b. Empadre.....	20

3.11. Selección de llamas para empadre.....	21
3.11.1. Estado general.....	21
3.11.2. Examen de los órganos genitales externos.....	21
3.12. Conducta sexual.....	22
3.13. Tiempo de copula.....	23
3.14. Métodos de colección de Semen.....	24
3.14.1. Método de la vagina artificial.....	24
➤ Cuerpo de la vagina.....	24
➤ Funda interna.....	24
➤ Cono de látex.....	24
➤ Tubo colector de semen.....	24
3.14.2.1. Colecta de semen por medio de la vagina artificial...25	
3.14.3. Método electroeyaculación.....	26
➤ Transductor.....	26
➤ Generador de impulsos eléctricos.....	26
➤ Batería.....	26
3.14.3.1. Colecta de semen con electroeyaculador.....	27
3.15. Importancia de la evaluación del semen	30
3.16. Características del semen.....	30
3.16.1. Valoración macroscópica del semen.....	30
3.16.1.1. Consistencia.....	30

3.16.1.2. Color.....	30
3.16.1.3. Volumen.....	30
3.16.1.4. pH.....	30
3.16.2 . Valoración microscópica del semen.....	31
3.16.2.1. Motilidad.....	31
- Motilidad Individual.....	32
3.16.2.2 Concentración Espermática.....	32
3.16.2.3 Vitalidad espermática.....	33
3.16.3 Factores relacionados con la colección y calidad del semen.....	33
- Frecuencia de colección.....	33
- Duración de la copula.....	33
- Época.....	33
- Edad.....	33
- Luz.....	33
- Presión osmótica.....	34
- Temperatura.....	34
3.17. Técnicas de contención.....	34
3.18. Tinciones vitales	34

3.19. Características del dilutor para la evaluación microscópica.....35

4. MATERIALES Y METODOS.....36

4.1. Localización de la zona de estudio.....36

4.1.1 Descripción ecológica.....36

4.1.1.1 Clima.....36

4.2. Materiales y Equipos.....36

4.2.1. Materiales Biológicos para colección seminal.....36

4.2.2. Material de laboratorio.....37

4.2.3. Material químico.....37

4.2.4. Material gabinete38

4.2.5. Material cenobial.....38

3.2.6. Instalaciones.....38

4.3. Métodos.....39

4.3.1. Etapa pre-experimental.....40

4.3.1.1. Primera etapa.....40

A. Selección de reproductores y entrenamiento.....40

- Vagina artificial.....40

- Electroeyaculador.....40

B. Pesaje y alimentación40

C. Selección de machos reproductores para el estudio.....	41
- Vagina artificial.....	41
- Electroeyaculador.....	41
D. Adiestramiento con Vagina Artificial y Electroeyaculador..	42
- Vagina artificial.....	42
- Electroeyaculador.....	42
4.3.2. Etapa experimental.....	43
4.3.1.1. Segunda etapa.....	43
Colección.....	43
a) Vagina artificial.....	43
b) Electroeyaculador.....	44
E. Evaluación del semen fresco.....	46
i) Evaluación macroscópica	46
Volumen.....	46
Color o tonalidad.....	47
pH	47
Aspecto.....	47
Viscosidad.....	47
ii) Evaluación microscópica.....	47

Motilidad individual	49
Porcentaje de vivos y muertos.....	49
Concentración espermática.....	50
Porcentaje de espermatozoides anormales.....	51
Anormalidades primarias.....	52
Anormalidades secundarias	52
4.4. Modelo estadístico experimental para la evaluación de las características macroscópicas y microscópicas del semen.....	52
4.5. Costos parciales	53
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	54
5.1. Protocolo de inmovilización.....	54
5.1.1. Contención química.....	55
5.1.2. Contención física.....	57
5.2. Evaluación de las técnicas de colección y el efecto de la edad sobre las características físicas del semen de llamas.....	59
5.2.1. Evaluación macroscópica.....	59
5.2.1.1. Viscosidad.....	59
5.2.1.2. Color.....	60
5.2.1.3. Aspecto.....	60

5.2.1.4. Volumen y ph.....	61
5.2.2. Evaluación microscópica.....	68
5.2.2.1. Motilidad y Vitalidad Espermática.....	68
5.2.2.2. Concentración Espermática y Anormalidades.....	74
6. COSTOS PARCIALES.....	82
7. CONCLUSIONES.....	86
8. RECOMENDACIONES.....	87
9. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	89
10. ANEXOS.....	101

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Número 1. Aparato reproductor del macho.....	6
Número 2. Estructura del testículo.....	8
Número 3. Diagrama de adherencia del prepucio a diferentes edades en Camélidos Sudamericanos.....	10
Número 4. Sistema nervioso relacionado al mecanismo de eyaculación.....	14
Número 5. Estructura del espermatozoide.....	17
Número 6. Anormalidades morfológicas.....	19
Número 7. Los primeros equipos de electroeyaculación.....	28
Número 8. Equipo de Electroeyaculación.....	45
Número 9. Preparación de la solución protectora	48
Número 10. Aplicación de xilacina (Contención química).....	55
Número 11. Contención física e introducción del transductor.....	57
Número 12. Eyaculado apto para evaluación y Contaminado.....	60
Número 13. A) Muestra de semen con espuma por Vagina Artificial ; B)Muestra de semen sin espuma por Electroeyaculador	61
Número 14. Vol. Electroeyaculador y Vagina artificial.....	61

Número 15. Comparación del Volumen de Semen eyaculado por dos métodos en llamas	64
Número 16. Nivel pH de eyaculado por métodos.....	65
Número 17. Medición del pH.....	66
Número 18. Volumen de eyaculado por edad en Llamas.....	67
Número 19. Semen para observación al microscopio (Motilidad Progresiva).....	68
Número 20. Porcentaje de Motilidad eyaculado por métodos.....	70
Número 21. Porcentaje Vitalidad del eyaculado por métodos.....	71
Número 22. Porcentaje Motilidad de eyaculado por edad.....	72
Número 23. Tinción de la muestra del eyaculado.....	73
Número 24. Porcentaje Vitalidad de eyaculado por edad.....	73
Número 25. Concentración Espermática de eyaculado por métodos.....	77
Número 26. Determinación de la Concentración Espermática.....	78
Número 27. Porcentaje Anormalidades de eyaculado por métodos.....	78
Número 28. Células espermáticas normales y anormales.....	80
Número 29. Concentración Espermática de eyaculado por edad.....	80
Número 30. Porcentaje Anormalidades de eyaculado por edad.....	81
Número 31. Costos parciales de la Vagina Artificial y Electroeyaculador.....	82

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Número 1. Grados de viscosidad del eyaculado.....	47
Número 2. Diluyente para la protección del shock térmico	49
Número 3. Estado Fisiológico.....	58
Número 4. Influencia de factores principales en el volumen y pH del semen de llamas.....	62
Número 5. Prueba por Duncan promedios de volumen y pH en semen de llamas	63
Número 6. Influencia de factores principales en la motilidad y vitalidad espermática del semen de llamas.....	68
Número 7. Prueba por Duncan de medias de motilidad y vitalidad espermática en semen de llamas.....	69
Número 8. Influencia de factores principales en la concentración espermática y anomalías del semen de llamas.....	74
Número 9. Prueba por Duncan de medias de concentración espermática y células espermáticas anormales en semen de llamas.....	75
Número 10. Costos parciales Vagina Artificial.....	83
Número 11. Costos parciales Electroeyaculador.....	84
Numero 12. Resumen General de resultados.....	85

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Número 1. Análisis SAS Volumen.....	101
Número 2. Análisis SAS pH.....	105
Número 3. Análisis SAS Motilidad.....	109
Número 4. Análisis SAS Vitalidad.....	113
Número 5. Análisis SAS Concentración Espermática.....	117
Número 6. Análisis SAS Anormalidades.....	121
Número 7. Aplicación de Xilacina.....	125
Número 8. Elaboración de Ración.....	126
Número 9. Planos (Mesa Recolectora, Corral de Empadre, Box y Laboratorio).....	128
Número 10. Diseño y Construcción de Electroeyaculador.....	130
Número 11. Planilla de Laboratorio.....	132
Número 12. Planilla de Campo (Control Vital).....	133
Número 13. Planilla de Campo Control de Estímulos.....	134
Número 14. Materiales Utilizados.....	135

RESUMEN

La llama (*Lama glama*) es una especie doméstica de Camélido Sudamericano (CSA). Está clasificada como una especie que adquirido en estos últimos años un alto valor de consumo según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), no obstante, como se siga incrementando su consumo , se requerirá estudios enfocados en su conservación. Una herramienta de conservación es la reproducción asistida, sin embargo, para hacer uso de ella, primero se requiere conocer la fisiología básica de la especie. En tal sentido, el presente estudio tuvo como objetivo desarrollar un protocolo de colección de semen en llamas mediante dos técnicas por Vagina Artificial y Electroeyaculador, así como caracterizar el eyaculado obtenido. Fueron utilizados 4 individuos machos adultos de *L.glama*, clínicamente sanos, pertenecientes a la Estación Experimental de Choquenaira. La electroeyaculación se realizó bajo contenciones físicas y químicas, físicamente mediante sujeción de los miembros superiores e inferiores y químicamente utilizando xilacina (2ml/100Kg-1PV). Las colecciones de semen se llevaron a cabo con una vagina artificial el cual contaba de (un tubo rígido de 20 cm de largo y 5.2 cm de diámetro con su respectivo tapón para el llenado de agua como también de una camisa latex, ligaduras para atar y el tubo colector) y Electroeyaculador que constaba de un transductor rectal de 2 cm de diámetro y 3 electrodos de cobre espaciados por 0,4 cm. Para la colección con vagina artificial se utilizó una hembra como señuelo y en el momento del coito se desviaba en pene a la vagina artificial, se colecto eyaculado en las doce repeticiones. Los valores seminales obtenidos por este método son los siguientes ($x \pm EE$): volumen 1,56 ml; pH 7,41; motilidad espermática no progresiva 53,25 %; concentración 252250 espermatozoides/ml; vitalidad 60,83 % espermatozoides normales 7,25 %. Para el Electroeyaculador, el animal fue colocado en decúbito y se le introdujo el transductor rectal lubricado de 10 a 15 cm dentro del recto. El protocolo de electroeyaculación consistió de estímulos progresivos desde los 2

hasta los 12 Voltios. Fue colectado eyaculado en las 12 repeticiones de los procedimientos. Los valores seminales encontrados son los siguientes ($x \pm EE$): volumen 0,25 ml; pH 7,08; motilidad espermática no progresiva 54,66 %; concentración 353500 espermatozoides/ml; vitalidad 69,66 % espermatozoides Anormales 7,91 %.

Con respecto a la edad en los animales de tres años se encontró lo siguiente; ($x \pm EE$): volumen 1,09 ml; motilidad espermática no progresiva 52,41 %; concentración 311583 espermatozoides/ml; vitalidad 60,58 % espermatozoides Anormales 6,33 %.en animales de cinco años se encontró lo siguiente ($x \pm EE$): volumen 0,725 ml; motilidad espermática no progresiva 55,500 %; concentración 294166 espermatozoides/ml; vitalidad 69,500 % espermatozoides Anormales 8,833 %.($P < 0,05$). Se concluye que la colección de semen por electroeyaculación en llamas es factible, asimismo las características seminales observadas en animales de cinco años de edad, mostraron ser mejores.

Palabras clave: Camélidos Sudamericanos, Sedación, Electroeyaculación, Vagina Artificial, características seminales.

ABSTRACT

The llama (*Lama glama*) is a domesticated species of South American camelid (CSA). It is classified as a species that has acquired in recent years a high consumption value according to the International Union for Conservation of Nature (IUCN), however, as they continue to increase their consumption will require studies focused on conservation. A conservation tool is assisted reproduction, however, to make use of it, you first need to know the basic physiology of the species. In this regard, the present study was to develop a protocol for collection of semen in llamas using two techniques for Artificial Vagina and electroejaculator and characterize the ejaculate obtained. 4 individuals were used (*L.glama*) adult male, clinically healthy, belonging to Choquenaira Experiment Station. The electroejaculation was performed under physical and chemical restraints, by physically holding the upper and lower limbs and chemically using xylazine (2ml/100Kg-1PV). Semen collections performed with an artificial vagina which consisted of (a rigid tube 20 cm long and 5.2 cm in diameter with its respective plug for filling a water jacket also latex, ligatures to fasten and the collector tube) and electroejaculator transducer consisting of a rectal diameter of 2 cm and 3 copper electrodes spaced by 0.4 cm. For the collection with artificial vagina was used as bait and a female at the time of intercourse was diverted into the artificial vagina penis, ejaculate was collected in twelve repetitions. Seminal values obtained by this method are (x + EE): 1.56 ml volume, pH 7.41, no progressive motility 53.25% 252250 sperm concentration / ml 60.83% normal sperm viability 75, 25%. For electroejaculator, the animal was placed supine and introduced him lubricated rectal transducer 10 to 15 cm into the rectum. The protocol consisted of electroejaculation stimuli progressive from 2 to 12 Volts. Ejaculate was collected in the 12 repeats of procedures. Seminal values found are (x ± SE): volume 0.25 ml,

pH 7.08, nonprogressive motility 54.66% 353,500 sperm concentration / ml; abnormal sperm viability 69.66% 7.91%.

With respect to age in animals of three years following was found; (x + SD): 1.09 ml volume, sperm motility, nonprogressive 52.41% 311,583 sperm concentration / ml, 60.58% abnormal sperm viability 6.33%. in five animals was found that (x + SE): 0.725 ml volume, sperm motility, nonprogressive 55.500% 294,166 sperm concentration / ml; feasibility 69.500% 8.833% abnormal sperm. (P <0, 05). It is concluded that the collection of semen by electroejaculation burning is feasible also seminal characteristics observed in animals of five years old, were shown to be best.

Keywords: South American Camelids, Sedation, electroejaculation, artificial vagina, seminal characteristics.

1. INTRODUCCIÓN

En los sistemas de crianza mixtos, de los ecosistemas de la región del altiplano central, destacan las llamas para la producción de carne, producto demandado por el alto contenido en proteína, 24,8% en fresco, y 52,6% en charque (Enciso, 2009); y complementariamente para la producción de fibra, con rendimiento promedio de 1,2 Kg en esquila anuales (Chiri, 2002)

Una mayor área de la región Alto andina de Bolivia, es adecuada para el repoblamiento de llamas (Rillo, 1998); sin embargo el crecimiento vegetativo de esta especie es de 6% anual (Bravo, 2002), y los porcentajes de fertilidad por debajo del 50 %, reportados por diferente autores, en diferentes sistemas de empadre, no garantizan el inicio de repoblamiento, mucho menos de mejoramiento genético.

Una de las biotecnologías reproductivas que con urgencia se debe desarrollar, es la inseminación artificial (IA), pero para ello se debe contar con semen de excelente calidad y suficiente volumen, la cual depende del método y de la época de colección (Delgado,2003).

Las reproducciones por monta natural de los camélidos, es muy especial, tiene muchas características propias de la especie, desde la posición decúbito ventral de la hembra, temperamento nervioso, hasta fallas de la libido en el macho, hacen que la obtención de semen sea dificultoso (Bustinza, 2001), complicándose su obtención y manipulación debido a la larga duración de la copula, el lugar de deposición, y su naturaleza viscosa (Solís, 1997).

Los camélidos sudamericanos tienen una reproducción muy sui generis, por lo cual es necesario diseñar técnicas de colección de semen especialmente adecuadas para dichas características, como es el prolongado tiempo de copula, la eyaculación intracervical y continua, la extrema viscosidad del semen, etc.

La inseminación artificial (IA) es una herramienta muy útil para el mejoramiento genético en especies domésticas de interés productivo (Novoa, 1994). La IA sería muy valiosa en alpacas y llamas para acelerar el mejoramiento genético que se requiere con urgencia para mejorar las tamas; pero, una dificultad ha sido el desarrollar una técnica sencilla y confiable para coleccionar semen y evaluar la capacidad reproductiva de los machos, (Novoa y Leyva, 1996).

El presente estudio se diseñó para comparar dos métodos de colección de semen utilizando la Vagina Artificial (VA), con presencia de una hembra receptiva como señuelo y aplicando la técnica del Electroeyaculador con contenciones físicas y químicas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Desarrollar una técnica sencilla y confiable de colección (Vagina Artificial y Electroeyaculador) de semen de llamas (*Lama glama*) en la Estación Experimental de Choquenaira.

2.2. Objetivos específicos

- Implementar y desarrollar dos protocolos de obtención de semen : Electroeyaculador y vagina artificial
- Implementar el diseño del Electroeyaculador para la colección de semen de Llamas.
- Evaluar el efecto de la edad y técnicas de colección sobre las características físicas del semen de Llamas
- Comparar los costos parciales de obtención de semen mediante las dos técnicas de colección.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Técnicas de colección de semen en otras especies

Varias técnicas han sido ideadas para la colección de semen en los animales domésticos. Entre las técnicas de colección de semen se han implementado diferentes tipos, algunas se adaptan a diferentes especies y otras son exclusivas de cada una, por ejemplo en cerdos para la evaluación de la fertilidad del semen de verraco se utilizan tres métodos de colección: electroeyaculación, vagina artificial y manual (Garabito, 2003).

- **Colección vaginal:** Consiste en la extracción del semen desde el interior de la vagina luego de un servicio natural y utilizando como ayuda espátulas, cucharas, jeringas, pipetas, etc. Es útil sólo como método para evaluar una muestra de semen, pero de ninguna manera sirve en el procesamiento del semen a gran escala para la inseminación artificial. (Perez, 2004).
- **Colectores peneanos o vaginales:** Guantes o condones de distintos materiales, que no han dado resultado en la colección de semen bovino, aunque sí ha sido de relativa utilidad en algunas yeguas. La causa del rechazo a esta técnica reside en que la hembra nota un [cuerpo](#) extraño en su vagina por lo que permanece inquieta, y el macho se torna reacio a la penetración (Parihuaca, 2000).
- **Método de la esponja:** Mediante esta técnica se colocaban esponjas en el fondo de la vagina y posteriormente a la cópula se retiraban y comprimían para exprimir el semen absorbido cuyos resultados no fueron satisfactorios (Sumar, 1981).
- **Manipulación mecánica:** Consiste en **masaje** rectal en reproductores dóciles y se manejan con calma. También se recomienda en animales que posean lesiones dolorosas en cuartos posteriores. Sin embargo, posee varias desventajas y quizás no sea práctica en todas las situaciones (Martin, 1996).
- **Manual:** Existen dos técnicas, la de mano enguantada descrita por Hancock y Howell (1959) y la de mano desnuda que resulta ser más simple y económica.

Este método permite obtener un normal y completo eyaculado. Una vez que el macho efectúa la monta y deja al descubierto el pene, se coloca el dorso de la mano contra la pared ventral del abdomen por delante del orificio prepucial, sujetándolo suavemente y ejerciendo una ligera tracción hacia delante con el fin de lograr su amplexación. (Martin, 1998).

- **Método de la vagina artificial:** San Martín (1961) reporta que, es un método universalmente utilizado en la mayoría de las especies animales domésticas, aunque en el ganado bovino no es de rutina en la mayor parte de los establecimientos ganaderos sino que es casi exclusivo de los centros de inseminación artificial, ocurriendo lo mismo en equinos, porcinos, ovinos.
- **Método de la electroeyaculación:** Permite extraer semen a los animales sin previo acostumbamiento. Esto es de suma importancia para la evaluación de reproductores a campo, donde la colección de semen se puede realizar en la manga en el mismo momento del examen clínico. Además, es muy utilizada cuando se trabaja con animales no domésticos, sino de vida silvestre o de zoológicos (Enciso, 2009).

3.2. Clasificación y taxonomía de la especie

Los Camélidos Sudamericanos (C.S.A.) han sido clasificados dentro de la siguiente taxonomía según .Giuliano et al.(2002):

- **Clase:** Mamíferos
- **Orden:** Artiodactyla
- **Familia:** Camelidae
- **Tribu:** Lamini
- **Especie:** Lama guanicoe - Guanaco
 - ✓ Lama glama - Llama
 - ✓ Vicugna pacos - Alpaca
 - ✓ Vicugna vicugna - Vicuña

Los camélidos sudamericanos se dividen en dos grupos:

- **Silvestres:** guanaco y vicuña
- **Domésticos:** llama y alpaca

Las cuatro especies tienen el mismo cariotipo ($2n=74$) y pueden entrecruzarse, produciendo crías fértiles. En forma natural los cruzamientos ínterespecíficos no se producen, sino que son forzados por el hombre. El cruce con la alpaca produce un híbrido denominado “huarizo” o “llapaca”, que tiene la ventaja de producir fibras más finas que la llama y en mayor cantidad que la alpaca. Menos común es el cruce con la vicuña, que se conoce como “llamovicuña”.

3.3. Reproducción de camélidos

La reproducción sexual requiere de hembras y machos sanos, capaces de reproducir gametos viables; es necesario, además que haya copula oportuna, que los gametos se unan para formar el cigoto que desarrolle y se implante en el útero (Sumar, 1992)

3.3.1. Bases anatómicas de la reproducción en el macho

El aparato reproductor del macho (Fig.1) consta de cordones espermáticos, testículos, glándulas accesorias, pene, prepucio y sistema de conductos masculinos

3.3.1.1. Estructura externa

- **Testículo.:** En los camélidos adultos los testículos se encuentran en la región perineal, en un escroto no pendulante, formando un abultamiento sub.-anal y están cubiertos por la cola, ambos testículos son casi del mismo tamaño en una alpaca adulto el testículo pesa 18 g. y en una llama pesa 24 g. que significa el 0,02 a 0,03 % del peso vivo (Chiri, 2002).

En los estadios pre-púberes en las llamas es frecuente observar, que uno de los testículos desciende primero que el otro a las bolsas escrotales, existiendo diferencias en el tamaño; esto se debe tener en cuenta cuando se seleccionan animales jóvenes, evitándose confundir con casos de hipoplasia o atrofia. El peso testicular, así como las dimensiones, se incrementan con la edad, alcanzando sus valores máximos a los cinco años de edad. (Sumar, 1983; señalado por Frank y Bollati, 2000), así mismo, las dimensiones principales son: Largo de 5-7 cm, ancho 2,5-3,5 cm y espesor 3,4 cm.(Flower, 1989;citado por Garabito 2003).

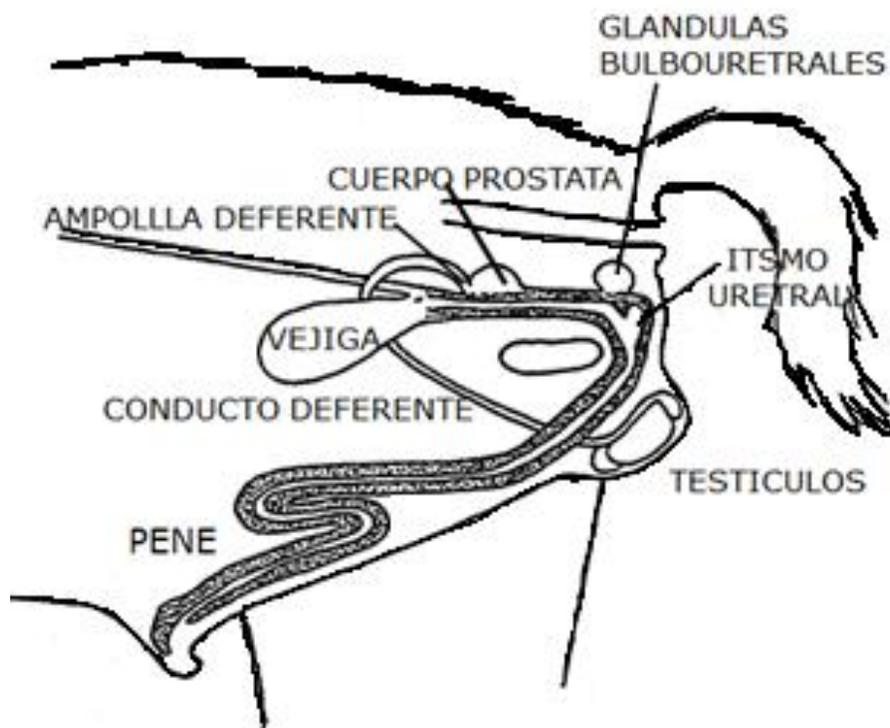


Figura 1. Aparato reproductor del macho

Fuente: Turin C. 2009. Reproducción de Camélidos .Facultad de Zootecnia-UNALM.

Pene y prepucio: El pene es fibroelástico, llegando a medir 35 – 45 cm, desde la punta al arco isquiático(Sumar, 1983).

El diámetro es relativamente delgado y no se expande apreciablemente durante la erección. La punta del glande, que es una proyección cartilaginosa firme, tiene una forma de gancho curvado ligeramente a la derecha, que sobrepasa a una proyección cónica rígida a la que se ha llamado " proceso uretral, de aproximadamente 1 cm de largo. La forma del glande tiene que ver con la penetración del pene por los anillos de la cérvix, para la deposición intrauterina del semen (Hafez, 2002).

El forro prepucial es triangular y esta formado a manera de una teta grande, con el orificio prepucial localizado en el ángulo libre del triangulo y dirigido caudalmente, cuando orina, el chorro se proyecta hacia atrás, entre las piernas posteriores, en posición similar a la hembra. Durante la erección, el forro prepucial triangular se endereza para adelante, gracias a los músculos protectores y el pene se adelanta bajo el vientre, como sucede en otros rumiantes domésticos (latcham,1922; mencionado por Garabito 2003).

Al nacimiento las llamas, tienen el pene totalmente adherido al prepucio por un tejido embrionario, que aproximadamente al año de vida, se van separando, cuando el pene desvaina del prepucio y/o se libera del prepucio (Martinez, 1980).

3.3.1.2. Estructura interna

En todas las especies los testículos están cubiertos por unl, tejido seroso que es la extensión del peritoneo. Esta capa se obtiene a medida que los testículos descienden al escroto y esta adherida a lo largo de la línea del epidídimo (Bearden, 1987).

La capa de los testículos, la túnica albugínea testicular, es una membrana delgada blanquecina de tejido conectivo elástico. Por debajo de la túnica albugínea testicular esta el parénquima, la capa funcional de los testículos. El parénquima tiene color amarillento y esta dividido en segmentos por tabiques incompletos de tejido conectivo (Fig. 2). Dentro de estos segmentos de tejido parenquimatoso están los túbulos seminíferos (sitios productores de espermatozoides), que se

forman a partir de los cordones sexuales primarios. Contienen células germinales (espermatozonias) y células de nutrición (células de Sertoli). (Holy,1987).

Holy (1987) señala que, las células de Sertoli son más grandes y menos numerosas que las espermatozonias. Bajo la estimulación de la Hormona Foliculo Estimulante (FSH), las células de Sertoli producen proteínas fijadoras de andrógeno e inhibina. Los túbulos seminíferos se unen en una red de túbulos denominada (rete testis), que se conecta a pequeños conductos eferentes, que convergen en la cabeza de epidídimo.

Las células de Leyding (intersticiales) se encuentran en el parénquima de los testículos, entre los tubos seminíferos. La Hormona Luteinizante (LH) estimula a las células de Leydig para producir la testosterona en pequeñas cantidades u otro andrógenos (Bearden y Fuquay, 1995)

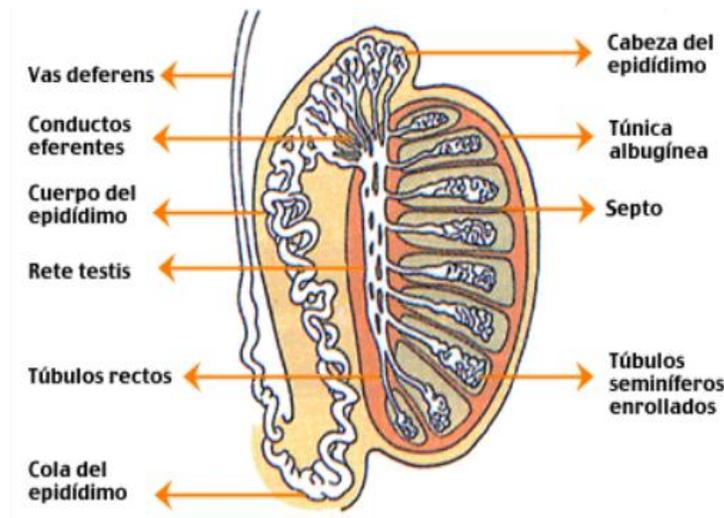


Figura 2 . Estructura del testículo.(Sección sagital)

Fuente. Revista Veterinaria Redved (2010)

➤ **Epidídimo y conducto deferente:** El epidídimo de la llama, como en otras especies animales, al examen macroscópico, se encuentra dividido en tres zonas diferentes(Osorio y San Martín, 1966; señalados por Garabito, 2003):

- (a) Una cabeza relativamente voluminosa, que se inserta en la parte posterior del testículo
- (b) Un cuerpo o porción intermedia, delgada y aplanada
- (c) Una cola o porción final, como un estrechamiento del cuerpo, que se sitúa en la parte anterior del testículo y se continúa con el conducto deferente.
- (d) Por palpación externa, es posible diferenciar estas tres regiones .

El conducto deferente presenta dos porciones; una anterior, muy delgada en su inicio (2mm), que continua a la cola del epidídimo y que esta exenta de glándulas, correspondiendo al conducto deferente propiamente dicho, y una porción posterior, cercana a la uretra, que muestra un ligero engrosamiento (4 mm), de aspecto glandular y que correspondería a lo que en otras especies es la ampolla del deferente. El largo total del conducto deferente es de 40 cm, aproximadamente (Osorio y San Martin, 1966; señalados por Frank y Bollati, 1995).

➤ - **Glándulas sexuales accesorias**

➤ **Próstata:** Tiene la forma de una " H " y se encuentra ubicada dorsalmente sobre el cuello de la vejiga. Está formada por el cuerpo prostático, que comprende dos lóbulos unidos entre sí y situados en el primer segmento de la uretra, y por la porción diseminada de la próstata que penetra el músculo uretral. La glándula tiene un diámetro aproximado de 4 cm y de 1 cm de grosor (Osorio y San Martín, 1966; citados por Hafez, 2002).

- **Glándulas bulbo uretrales.**

Sumar (1991), hace referencia a Osorio y San Martín (1986); Dehlon y VON Lawzewitsh (1986), quienes mencionan que las glándulas bulbo uretrales o de Cowper, son ovoides, pequeñas, a unos 7,5 cm de la próstata, cubiertas por una capsula muscular; se ubican lateralmente a la uretra en la salida pélvica y tienen, cada una, un diámetro aproximado de 1 cm. La llama y la alpaca, así como los camélidos silvestres, carecen de glándulas vesiculares o también llamadas vesículas seminales.

3.4. Pubertad en los machos

Cardozo (1977) señala, que la llama macho puede cumplir su ciclo reproductivo a partir de los 2 a 3 años de edad y las hembras a partir de los 2 años, pero ello está supeditado a factores hereditarios y ambientales.

Sumar (1989) menciona, que la pubertad en los camélidos tiene su inicio, cuando el pene empieza a liberarse del tejido prepucial, que previene su protrusión del prepucio; A la edad de un año y con un peso promedio de 34 Kg; algunas llamas machos muestran un interés sexual por las hembras. Sin embargo, a esta edad sólo alrededor del 8% de los machos jóvenes (tuis), se encuentran libres de las adherencias prepuciales; a la edad de 2 años y con un peso promedio de 48 Kg; El 70% de los machos ya no tiene estas adherencias, y a los tres años de edad, el 100% están completamente libres. El mismo señala, que la liberación pene-prepucial es fundamentalmente de naturaleza genética (Fig. 3)

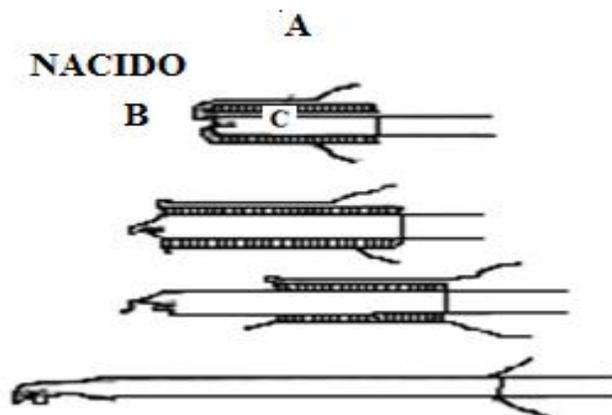


Figura 3. Diagrama de adherencia del prepucio a diferentes edades en Camélidos Sudamericanos (A=Prepucio adherido, B= Prepucio, C= Pene; Fowler et al. 2000, Pagina 384).

3.5. Regulación hormonal de la Espermatogenesis

En la regulación hormonal del proceso reproductivo masculino, intervienen tres órganos fundamentales: el hipotálamo que está localizado en el cerebro, la hipófisis o pituitaria y las gónadas que son los testículos (Bhasin, 2006).

En el hipotálamo se producen las neurohormonas a nivel de la adenohipofisis se produce la liberación de dos hormonas: la FSH (Folículo Estimulante), que produce el estímulo para la espermatogenesis, y la LH (Luteinizante) que provoca la estimulación de las células intersticiales, que son las que secretan la testosterona (Barden, 1982).

La testosterona estimula el crecimiento del aparato reproductor y la aparición de los caracteres sexuales secundarios y de la conducta sexual del macho; además es necesario en el desarrollo de una espermatogenesis normal y para regular la secreción de la LH por parte de la adenohipofisis. Las células de Sertoli producen la inhibina, cuya función sería regular la secreción de FSH en igual forma que la testosterona sobre la LH (Benson, 1994).

3.6. Espermatogénesis y producción espermática

Según Sumar (1991), la espermatogénesis es el proceso por medio del cual se forman los espermatozoides en los túbulos seminíferos del testículo.

En el epitelio seminífero están presentes espermatogonias de los tipos A y B, que difieren por su tamaño (Bravo, 2002).

Según Chiri (2002), las espermatogonias del tipo A, se caracterizan por los individuos celulares relativamente grandes, más o menos aplanados, lo que depende de su localización en la base del tubo seminífero. El núcleo es de forma ovoide envuelto en fina membrana nuclear.

Para Fraser (1988), las espermatogonias de tipo B, difieren del tipo anterior sobre todo por su tamaño menor y su núcleo esférico. Este tipo de espermatogonias se

separa de la membrana basal del túbulo durante su metafase, como producto de la espermiogonia de tipo B se desarrollan los espermiocitos primarios o de primer orden, los que en su inicio son muy parecidos a las células maternas.

La espermatogénesis se puede dividir en dos fases distintas (Anexo a). La primera es la espermatocitogénesis, que consiste en una serie de divisiones en las cuales la espermatogonia forma las espermatides. La segunda es la espermiogénesis, la fase en que las espermatides sufren metamorfosis para formar el espermatozoide (Bearden y Fuquay, 1995).

3.6.1. Espermatocitogénesis

Según López (2001), lo primero es la división mitótica de un espermatogonio latente y activo. Este permanece en el epitelio germinal cerca de la membrana basal para posteriormente repetir el proceso, sufrirá cuatro divisiones mitóticas, formando por último 16 espermatocitos primarios. En la siguiente etapa, cada espermatocito sufrirá una división meiótica para formar dos espermatocitos secundarios. Reduciendo el complemento cromosómico del núcleo a la mitad, por lo que el núcleo del espermatocito secundario contiene cromosomas (n) . Horas después de su formación cada espermatocito secundario se dividirá de nuevo formando así dos Espermatides.

De esta manera, se formaran cuatro Espermatides a partir de cada espermatocito primario, o 64 de cada espermatogonio activo (Frank y Bollati, 1995; Bearden y Fuquay, 1995).

3.6.2. Espermiogénesis

Durante esta fase las Espermatides se adhieren a las células de Seroti. Cada espermatogonio sufre una metamorfosis (cambio en morfología) formando un espermatozoide. Durante esta metamorfosis, el material nuclear se vuelve compacto en una parte de la célula formando la cabeza del espermatozoide que se formará a partir del aparato de Golgi de la espermatide que se pierde durante la

formación de la cola, se formara una gota citoplasmática en el cuello del espermatozoide. El espermatozoide recién formado se liberara entonces de la célula de Sertoli y será forzado a salir a través del lumen de los túbulos seminíferos hacia la rete testis. (Frank yBollati, 1995; Bearden y Fuquay, 1995)

Sumar (1991), menciona que; No existe información acerca de la duración del ciclo espermatogenico, ni de la producción espermática por gramo de masa testicular. La producción espermática de cada macho individualmente, esta relacionada proporcionalmente al tamaño de los testículos. Así mismo cita a Aman (1970), quien indica que la producción espermática de cada macho individualmente, está relacionado proporcionalmente al tamaño de los testículos.

El semen, esperma o eyaculado, que se forma precisamente durante el proceso de eyaculación, proviene tanto de los testículos como de las glándulas accesorias. Los testículos dan origen a la parte celular (nemaspermo), mientras que la parte liquida es segregada exclusivamente por las glándulas accesorias (Holý, 1987)

3.7. Mecanismo de eyaculación

La eyaculación propiamente dicha es el resultado de contracciones rítmicas de los músculos estriados del cuerpo cavernoso, bulbo esponjoso y otros músculos pélvicos.(Leyva, 1981)

El vaso deferente, el esfínter de la vejiga, la próstata, las vesículas seminales y el pene son estimulados por fibras nerviosas simpáticas provenientes del plexo nervioso pélvico, que está localizado retro peritonealmente al lado del recto (T10-L2). Por otro lado, la musculatura estriada perineal (incluyendo los músculos isqueocavernoso y bulbocavernoso) reciben inervación somática a través del nervio pudendo, proveniente de la región del sacro (S2-4) (Benson, 1994). Dichos sistemas nerviosos son representados en el Fig. 4.

Durante la emisión seminal la activación simpática causa que el musculo liso del conducto deferente se contraiga, el cuello de la vejiga se contraiga y el musculo

liso de la pared de la vejiga se relaje. Esto previene el pasaje retrogrado del semen dentro de la vejiga urinaria(Benson, 1994).

Simultáneamente existe una contracción rítmica del esfínter anal (McDonnell, 1992).

La micción envuelve inervación semejante al proceso de eyaculación y la contaminación del semen por orina es el problema técnico más común durante la electroeyaculación (Martin, 1978), técnica que será descrita más adelante.

La orina parece ser más problemática en el caso de colección de semen en camélidos y felinos (Seager y Platz, 1976; Tibary y Vaughan, 2006), probablemente por la menor separación anatómica de las inervaciones controladoras de la eyaculación y micción en estas familias de mamíferos (Watson, 1978).

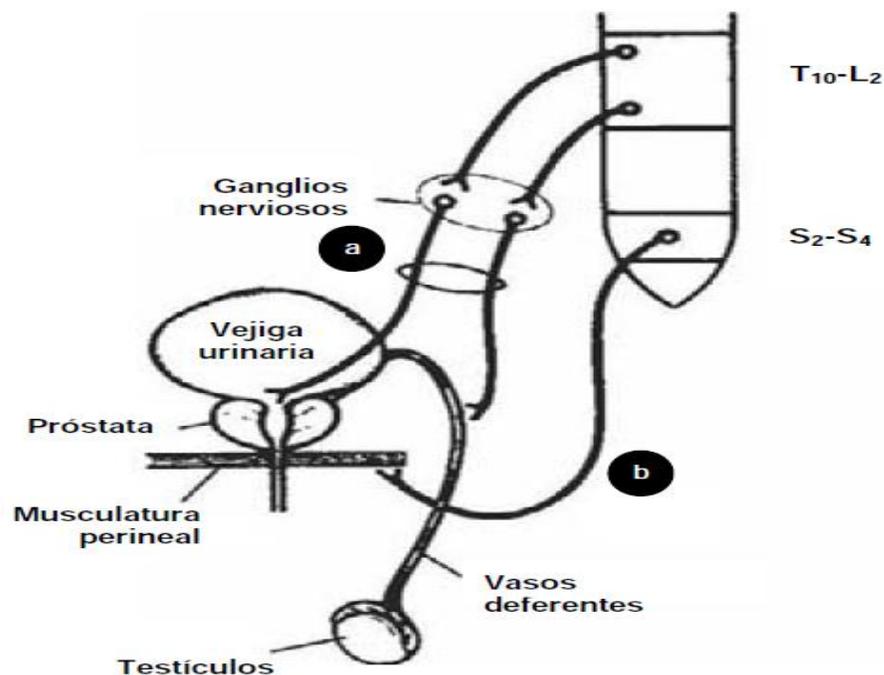


Figura 4. Sistema nervioso relacionado al mecanismo de eyaculación. a) Inervación simpática para el cuello de la vejiga y vasos deferentes, b) Inervación somática de los músculos estriados perineales. Fuente: Bhasin y Benson, 2006.

3.8 Características del semen

Raymundo et al.(2000) señala que; El volumen de semen, la concentración de espermatozoides, el porcentaje de espermatozoides vivos, porcentaje de espermatozoides normales, y la duración de la cópula, se ha observado que varían entre los machos , sin embargo el pH no difieren (Bravo et al. 1997b).

El volumen de cada eyaculación en promedio de alpacas es de 1-2 ml (Von Kubicek 1974, Garnica et al. 1995, Fowler et al. 1998). Los volúmenes son generalmente más bajos cuando el semen es colectado por Electroeyaculador que por el uso de una Vagina Artificial (Tibary et al. 1999b).

El semen es normalmente descrito como leche o crema de color blanco (Garnica et al. 1993, Bravo et al.1997^a, esto en función de la concentración de espermatozoides (Tibary et al. 1999b).

El semen de alpaca se compone de espermatozoides 11,5% y 88,5% en volumen líquido seminal (Garnica et al. 1993).

El semen de alpaca por la ausencia de la vesícula seminal tiende a ser muy viscoso (Garnica et al. 1993, Bravo et al. 1997^a, b), por lo que es difícil de manejar (pipeteado por ejemplo, manchas sobre un portaobjetos), es difícil la determinación de parámetros como la concentración de espermatozoides y la motilidad del esperma, y difícil para diluir (Garnica et al. 1993, Tibary et al. 1999b). El grado de viscosidad varía entre los machos (Tibary et al. 1999b) y disminuye al aumentar el número de eyaculaciones en un día (Bravo et al. 1997b). El semen se licua 23 horas (rango 8-30 horas) después de la colección (Bravo et al. 1994b).

La concentración de espermatozoides varía de aproximadamente 30.000 hasta 150 mil por ml en alpacas (Bravo 1995, Garnica et al. 1995, gaully et al. 1996). Tales variaciones se atribuyen a diferencias en los machos, los métodos de colecta de esperma y el número de la eyaculados(Tibary et al. 1999b). La

concentración se determina después de la licuefacción del semen, utilizando un hemocitómetro (Bravo et al. 1997^a).

El pH del semen varía de camélidos entre 7,2 y 8,6 (Bravo et al. 1997^a, Von Baer et al. 1998).

3.9. Morfología y estructura espermática

3.9.1. Morfología normal

Para Sumar (1991), la forma de los espermatozoides de la alpaca y llama es muy similar a la mayoría de los animales de granja.

El nemaspermio o espermatozoide normal está compuesto por cabeza, cuello y una cola, dividida en tres piezas, una principal, intermedia y una terminal (Bearden y Fuquay, 1995)

De acuerdo a Holy (1987), los componentes importantes de la cabeza incluyen el núcleo, que contiene el código genético en forma de ácido desoxirribonucleico (DNA); la cubierta postnuclear, que cubre la posición posterior del núcleo y el acrosoma. (Fig. 5) El acrosoma cubre la parte anterior del núcleo y contiene las enzimas necesarias para la penetración de la corona radiada y la zona pellucida "0" durante la fertilización.

Para Leyva (1981), el punto donde la cabeza se une con la cola contiene el centriolo proximal y se le conoce como sitio de implantación. La cabeza y la cola se separan en este punto durante la fertilización.

Según López (2001), una de las características de la cola es el filamento axial, que es un pequeño haz de delgadas fibrillas cuyas contracciones provocan el latiguo de la cola, lo cual impulsa hacia adelante al espermatozoide.

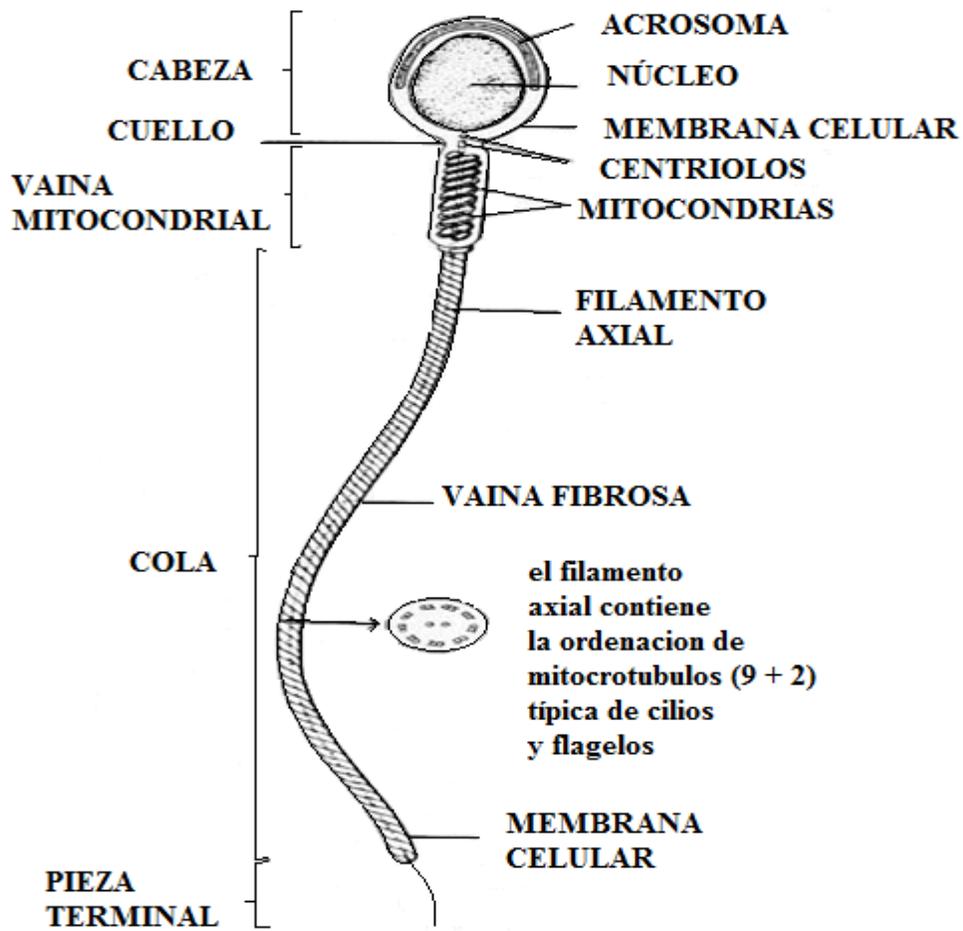


Figura 5. ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE

Fuente: Hidalgo y Tamargo 2005. Genética y reproducción animal; análisis de semen.

3.9.2. Morfología anormal

Para Bearden y Fuquay (1995) mencionan que los espermatozoides anormales se pueden clasificar como cabeza anormal, gota citoplasmática y cola anormal.

Según Mendoza (2001), las cabezas anormales que se han observado incluyen defectos como asimetría, adelgazamiento, formas gigantescas y micro, piriformes y cabeza doble.

Gota citoplasmática se forman en el cuello de los espermatozoides durante la espermiogenesis, perdiéndose durante su maduración en el epidídimo (Novoa, 1996).

En las colas anormales se incluye las alargadas, rotas dobladas, filiformes, truncadas y piezas intermedias dobles además de enroscadas y dobles colas. La mayor parte de los espermatozoides con anomalías en la cola no serán móviles o tendrán una movilidad anormal (Novoa, 1994).

Según Berden y Fuquay (1995) indican; que en cada eyaculación habrá espermatozoides anormales. El límite esperado de 8 a 10 % no tiene efectos adversos sobre la fertilidad. Si los espermatozoides anormales son más de 25% del total eyaculado, se puede anticipar una reducción de la fertilidad.

Para Sumar (1989), el semen de alpacas presenta un 41,23 % de formas anormales de espermatozoides, siendo las más frecuentes: cabezas solas, colas torcidas, micro cabezas, pieza intermedia engrosada, colas rotas, cabezas alargadas y macro cabezas, entre otras. La recolección se hizo mediante fundas vaginales.

Por otra parte Palomito, (1962) da un promedio de 11,65% de formas anormales, siendo las más frecuentes en orden decreciente, las siguientes. Cabezas solas, colas torcidas, colas enrolladas, colas quebradas, cabezas alargadas y micro cabezas.

Según Mendoza (2005), un alto porcentaje de anomalías por alteraciones secundarias, podrían deberse a la forma de colección del semen.

Sumar (1981) indica: que también que se encontró anomalías en el semen de llamas, tales como: gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal, colas torcidas, colas enrolladas, doble cabeza y cabezas pequeñas.

Bustinza (2001) indica que las anomalías de los espermatozoides generalmente se clasifican en dos grupos (Fig 6):

- Anomalías primarias : que provienen de disturbios testiculares
- Anomalías secundarias: que provienen de problemas de los conductos, especialmente del epidídimo o a la mala manipulación del semen en frotis o exposición al frío.

Según Perez (2001), las anomalías primarias encontradas en semen de alpacas son:

- Cabeza gigante (macrocefalo o megacefalo)
- Cabeza pequeña (microcefalo)
- Cabeza doble
- Pieza intermedia doble
- Pieza intermedia doblada
- Cola enrollada
- Cola doble

- Gota citoplasmática proximal
- Gota citoplasmática distal Las anomalías secundarias encontradas en semen de alpacas son: Cabeza sola ,Colas dobladas, Cola solas

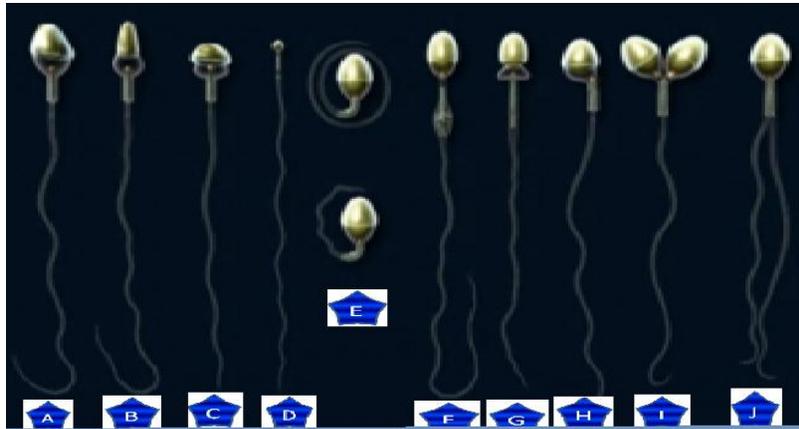


Figura 6. Anormalidades morfológicas de los espermatozoides (A = Cabeza gigante; B= Cabeza alargada; C= Cabeza achatada; D= Micro Cabeza; E= Cola chata enrollada, cola larga enrollada; F= Gota cytoplasmic; G=Apendice; H=Cola fuera de posición; I= Cabezas gemelas; J= Colas gemelas .**Fuente:** Giuluano, 2002. Morfología Anormal

3.10. a. Estación sexual

Según Martínez (1980), indica que en llamas, cuando los machos se mantienen junto con las hembras todo el año, el momento de la parición se circunscribe a la época de lluvias. Este comportamiento puede interpretarse como en la asociación continua de machos y hembras inhibe en alguna forma la actividad sexual de los machos. Sin embargo, el cambio de hembras actúa como un estímulo que contrarresta tal efecto inhibitor, reiniciándose la actividad copulatoria.

De acuerdo a Rodríguez (1986), manifiesta que bajo condiciones de crianza extensiva, la actividad sexual esta determinada por la disponibilidad de alimentos.

En aquellas explotaciones donde por razones de manejo se mantienen separados a los machos de las hembras, al iniciarse la época de lluvia y mejorar las condiciones ambientales (especialmente la disponibilidad de forrajes), los machos se tornan inquietos, escapan de su rebaño en busca de hembras, se exagera la libido y se incrementa notablemente la sexualidad, que paulatinamente desaparece en la época seca y fría (mayo a noviembre). El reinicio de la actividad

copulatoria de los machos, después de la etapa de inactividad sexual estacional, se debería al cambio de estación, con el consiguiente cambio en la disponibilidad alimenticia y a la presencia de un mayor número de hembras receptivas, como consecuencia de los partos (Rodríguez y Martínez, 1979).

3.10. b. Empadre

El empadre o copula es una actividad muy importante en el proceso productivo, dirigido a obtener el mayor número de crías, con el propósito de asegurar la renovación de la población, el mejoramiento genético y una adecuada saca de animales para los mercados. La condición física y la salud general de los machos antes y durante el empadre es de vital importancia, ya que de estos estarán expuestos a un intenso trabajo, con un consumo de energía corporal considerable (Sumar, 1991).

Así mismo Holy (1987), cita a Milovanov (1962), quien menciona que la libido de los machos, puede ser influenciado negativamente por el agotamiento sexual, después de un periodo prolongado de monta, extracciones frecuentes, como otros factores ambientales.

3.11. Selección de llamas para empadre

3.11.1. Estado general

Debe ponerse especial atención a los signos de salud, tales como aspecto general, buen movimiento y ausencia de cojera, buena condición y uniformidad de la fibra, alimentación y rumia activa y ausencia de heridas o abscesos visibles, una buena conformación de patas y pezuñas, descartar a los animales con polidactilia, igualmente se debe descartar a machos con ectoparásitos o cualquier signo patológico que interfiera con su actividad sexual. La inspección de la boca y dentición es importante; La vida útil y productiva de los machos esta relacionada con una buena dentición. Aquellos ejemplares que presenten prognatismo

mandibular superior o inferior, deben descartarse como reproductores, pues son anomalías hereditarias (Laguna, 1986).

3.11.2. Examen de los órganos genitales externos

Este examen debe comprender el escroto, ambos testículos, pene y prepucio, por inspección visual y palpación digital. El escroto debe estar libre de heridas, inflamaciones o lesiones traumáticas. Los testículos deben estar dentro de las bolsas escrotales, deslizarse libremente en ellas y ser más o menos del mismo tamaño; debe verificarse el tamaño de acuerdo a la edad del animal y la consistencia debe ser firme, turgente y elástica. Con un poco de práctica se puede palpar las partes del epidídimo, cabeza, cuerpo y cola, comprobando su existencia y normalidad.

El prepucio debe examinarse para descartar heridas, úlceras, dermatitis, adherencia o secreciones purulentas; el pene debe ser protruido del prepucio y sostenido entre el índice y el pulgar con una gasa, examinar por heridas, úlceras, desviaciones y adherencias. Deben destacarse aquellos ejemplares que presentan hipoplasia uní o bilateral de cualquier grado, criptorquidismo uní o bilateral, quistes palpables, así como cualquier otra alteración (Laguna, 1986).

Uno de los criterios de selección de los reproductores debe ser el buen tamaño testicular, tal como sucede en otras especies domésticas, donde existe una relación directa entre tamaño testicular y producción espermática (Rodríguez, 1986).

3.12. Conducta sexual

Para Cardozo (1977), la interacción sexual de las llamas puede ser dividida en dos partes, el cortejo y la monta o apareamiento. El primero incluye todos aquellos patrones de comportamiento por los cuales el macho y la hembra se comunican que están fisiológicamente listas para copular. La monta implica el acto de montar, inserción del pene, los empujes pélvicos y la eyaculación. Así mismo Rodríguez

(1979) menciona, que la eyaculación es un proceso de emisión intermitente prolongado y sin fracción, parecido a la eyaculación del cerdo.

Rodríguez e Iñiguez (1979), citan a England y col. (1971) quienes señalan que la fase de cortejo o exploratoria, se inicia cuando el macho, al ser introducido en el rebaño de hembras, persigue a cualquiera de ellas, embistiéndola por lo general y tratando de montarla. Si la hembra esta receptiva o en celo, se dejara montar en pies, para luego sentarse o adoptar la posición recumbente o prona, ubicándose el macho sobre la hembra, justo un poco por detrás de la misma. Para lograr la intromisión del pene, el macho ejecuta suaves movimientos pélvicos de aproximación y retiro, al mismo tiempo que se realiza la extensión y rotación del pene, facilitaran la intromisión del mismo por los labios vaginales.

Para Parihuaca (2000), la eyaculación parece producirse cuando el macho muestra la máxima aproximación pélvica, levantando ligeramente la cola. En estas circunstancias, los machos no presentan atención a otros animales o gente que se aproxime a ellos, por lo que es posible verificar la intromisión o manipular el pene.

Pacheco (2011) indica que al inicio del empadre, se señala que las indicaciones olfativas no eran muy importantes en los machos para ubicar a las hembras en celo.

El reflejo olfatorio o “Flehmen” que se observa en machos ungulados y que ocurre subsecuentemente a oler la orina y restregar la nariz en la zona genital de la hembra, para luego extender la cabeza y cuello hacia arriba con el labio superior levantado, se observa muy débilmente en los camélidos. Una indicación visual para el macho de que la hembra esta receptiva es cuando esta adopta la posición recumbente. El macho durante la copula, emite un sonido gutural o ronquido inflamando los carrillos, que parece constituir una señal o estímulo auditivo para las hembras en celo, muchas de las cuales adoptan la posición recumbente, junto a la pareja en empadre (Solis,1997).

Durante copulas prolongadas, la hembra tanto de llama como de alpaca puede adoptar la posición cubito-lateral sin interrumpir la copula (Sumar, 1983).

3.13. Tiempo de copula

Además Condorena y col. (1988), hace mención al tiempo de copula de 17,5 + 8, 0 min. En llamas bajo condiciones de monta controlada y con mas de 4 servicios diarios por macho.

Por su parte Fernandez-Baca, Novoa y Sumar (1972) coinciden, que cuando interviene mas de un macho en el empadre, después de una semana aproximadamente de intensa actividad copulatoria se inician una serie de agresiones, algunas veces violentas, con el objeto de establecer una jerarquía. Generalmente resultan dominantes aquellos machos que muestran mayor actividad copulatoria, interrumpiendo con mas frecuencia el servicio de otros y son menos agredidos por los demás machos.

3.14. Métodos de colección de Semen

3.14.1. Método de la vagina artificial

Mediante esta técnica el macho que eyacula desarrolla totalmente la cadena de reflejos y la mecánica del coito fisiológico, aunque no exista penetración ni eyaculación en la vagina de una hembra (Giuliano *et al.* 2002).

El principio del uso de la Vagina Artificial para esta especie como para otras es el de crear un ambiente de temperatura y presión similar al tracto genital de la hembra, capaz de producir estímulos suficientes en el macho y provocar la eyaculación (Delgado, 2003).

Según Turin (2009) esta le ofrece al macho condiciones parecidas a la vagina. Esta vagina artificial se compone de diversas partes, las cuales serán descritas a continuación:

- **Cuerpo de la vagina:** cilindro metálico rígido y duro con un aislante térmico provisto de un orificio o grifo, la vagina artificial para camélidos de la cual existen diversos tipos de fabricación tiene aproximadamente 20 cm de longitud x 5.5 cm de diámetro
- **Funda interna:** delgada y flexible, que se introduce en el tubo rígido y que se dobla sobre sus extremidades y se mantiene fija en estos lugares gracias a un anillo de goma y/o ligas. La cavidad cerrada limitada por estas dos estructuras constituye una cámara.
- **Cono de látex:** se fija en uno de los extremos de la vagina artificial cerca de la válvula para el agua.
- **Tubo colector de semen:** En uno de los extremos se adapta un vaso colector graduado de vidrio, al cual irá a acumularse el esperma, este vaso colector está provisto de un orificio, que permite la salida de aire con el fin de evitar un exceso de presión en este lugar.

3.14.2. Colecta de semen por medio de la vagina artificial

El extremo de la vagina artificial que sirve para la copula es lubricada con vaselina, con el fin de facilitar la introducción del órgano copulador, todo exceso de lubricante podría acumularse en el vaso colector y contaminar el semen por lo que una mínima cantidad es suficiente (Agraz, 1989).

Una vez preparada con su funda interior y copa colectora se cargará con agua caliente a 45 °C y por el grifo se inflara aire, imitando la temperatura y presión de la vagina natural, presentando una temperatura al momento del acoplamiento entre 39 a 40 °C. Observándose que algunos reproductores trabajan bien con vagina ajustada y otros la prefieren floja, sin embargo la presión más aproximada puede lograrse insertando el dedo índice dentro de la cavidad debiendo sentirse una pequeña presión, todo esto para estimular los nervios eyaculatorios del macho.(Fraser et al., 1988).

Posteriormente se trae al semental amarrado y se lo suelta dentro de la sala de empadre para que intente montar a la hembra, cuando ya la hembra seda y se

ponga de cubito ventral y el macho en posición de copula pasado 5 segundos se desvía el pene hacia la vagina artificial para la eyaculación. Se debe retirar la vagina artificial y proceder a darle un suave golpe a fin de permitir que todo el semen escurra hacia el tubo colector. (Haenlein y Caccese, 1984).

La mayoría de los machos se adaptan rápidamente a la vagina artificial. La temperatura del agua debe ser correcta, si es demasiado elevada, el órgano copulador puede herirse y el macho rehusará a efectuar la monta (Duarte, 1986).

La vagina artificial presenta las siguientes ventajas:

- Obtención de la totalidad del eyaculado.
- Medida exacta del eyaculado.
- Viabilidad del esperma, mejor que con cualquiera de otros métodos.
- Ausencia de todo tipo de secreciones exteriores.
- Dada su rapidez y limpieza, no es estresante para el semental.
- Es indudablemente el método más fidedigno en lo que respecta la calidad de la muestra colectada.
- Permite coleccionar semen, varias veces por semana sin producir malestar en el macho, (Gonzales, 1989).

Los cuidados que se deben considerar al momento de la colección por el método de la vagina artificial son:

- Cuando se colecta el semen al aire libre, hay que evitar que la muestra sufra acción del frío, de los rayos solares o de la luz protegiéndola con ambas manos, (Falcón, 1972).
- Bearden y Fuquay (1987), recomiendan que la vagina artificial, deberá estar limpia, seca y estéril, una misma vagina artificial sin limpiar, no se debe utilizar para distintas colecciones de semen, después de cada uso se debe lavar.

3.14.3. Método electroeyaculación

Para Fraser (1988), sostiene que se trata de estímulos con el uso de un electrodo que presenta varios contactos, este es colocado en el recto del macho y después de una ligera estimulación eléctrica se producirá la eyaculación.

- **Transductor:** el cual aloja a los electrodos distanciados entre si 0,5 cm
- **Generador de impulsos eléctricos:** cuya función es de generar descargas eléctricas.
- **Bateria:** la cual alimenta con energía al equipo

Por otra parte Evans y Maxwell (1990), definen que la electroeyaculación se debe usar cuando se precise recoger semen de un macho que no es posible entrenarlo a la vagina artificial (incapacitado). La electroeyaculación tiene el inconveniente de producir malestar en el macho, no pudiendo realizarse frecuentes colecciones de semen, por otra parte se contamina fácilmente con orina, durante la colección.

3.14.3.1. Colecta de semen por medio del Electroeyaculador

Es muy importante destacar que la cantidad de estimulación debe ser estimada a través de las respuestas del animal y no prestando atención al voltaje del equipo. La primera estimulación debe ser pequeña hasta que el macho demuestre una mínima respuesta. Las estimulaciones sucesivas deben ir siendo incrementadas de a poco, con una duración de uno o dos segundos y luego discontinuarse por medio segundo antes de comenzar con la siguiente estimulación. El fluido pre-seminal no debe recolectarse porque diluye el eyaculado y puede originar falsos resultados (Tibary, 2006).

Cuando éste comienza a tornarse más opaco y espeso comienza la colección en el cono o tubo de examinación colocado directamente en el pene. Si el animal no protruye el pene, el ayudante debe presionar sobre la flexura sigmoidea detrás del escroto y el operador debe estar listo con una gasa para tomarlo apenas protruya (Turin, 2009).

Aunque la estimulación se continúa hasta la obtención de 2 a 5 ml de semen, la cantidad de éste no tiene mucho que ver con la [calidad](#). La mayoría de los animales eyaculan sin mucha estimulación, sin embargo, si se ha alcanzado el máximo de estímulos sin obtener la eyaculación se deben dar 4 o 5 estímulos máximos seguidos de uno o dos minutos de descanso. El pene debe ser agarrado con una gasa y mantenido durante el período de descanso, dado que si lo dejamos libre luego no protuirá para la segunda colección (Howard, 1993)

La electroeyaculación es de particular relevancia en la colección de semen de animales en los cuales es imposible de utilizar vaginas artificiales o estimulación manual, habiendo de resaltar que en la gran mayoría de los casos la técnica de electroeyaculación debe ser utilizada en animales anestesiados (Watson, 1978). De esta manera, puede ser fácilmente adaptada en animales silvestres.

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. (Fernández Baca y Novoa, 1968).

En la colección de semen de alpacas por electroeyaculación, se ha obtenido un volumen 1,0 a 0,47 ml, concentración espermática $384,705 \pm 156,623$ por mm^3 motilidad de $48,2 \pm 15,6$ %, pH que oscila entre $7,1 \pm 0,2$, Vivanco y cardenas (1937), citado por Solis (2000).

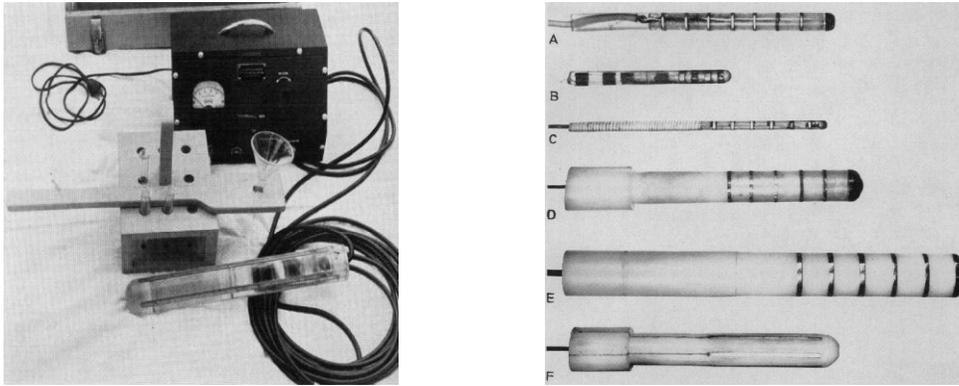


Figura 7. Los primeros equipos de electroeyaculación. 1. Electroeyaculador para toro y accesorios. 2. Diferentes tamaños y diseños de los transductores rectales. Dimensiones: longitud x diámetro (en mm). A: 205x21,5, B: 60x16,0, C: 130x10,5, D: 155x37,0, E: 200x49,0 y F:150x39,0. Fuente: Marden (1954) y Healey y Sadleir (1966).

Fernández Baca y Calderón (1966) realizaron estudios de colección de semen en Camélidos Sudamericanos a través de electroeyaculación utilizando un transductor rectal construido en fibra de vidrio y compuesto por un anillo y una punta de acero cromado. Se obtuvo cantidades variables de semen, y, en la mayoría de los casos, contaminación con orina. Posteriormente Calderón et al. (1968) obtuvieron mejores resultados en Camélidos Sudamericanos, utilizando un transductor rectal bipolar con dos anillos metálicos, aun considerando la gran variabilidad de respuestas en los animales.

El transductor rectal utilizado que cuenta con mayor eficiencia es el dotado con tres electrodos ventrales, estando los dos laterales interconectados y el central conectado separadamente (Seager y Platz 1976; Platz y Seager 1978).

La posición del electrodo, su tamaño y su forma son esenciales para la obtención de los eyaculados (Martin, 1978), y varía de acuerdo con la anatomía de la especie en cuestión. El estimulador eléctrico opera en corriente alterna (Dziuk et al., 1954; Marden, 1954; Dowling, 1961; Platz y Seager, 1978; Martin, 1978), y posee controladores de amperaje y/o voltaje con fusibles instalados en línea para la protección del animal y del operador (Platz y Seager, 1978). El rango de voltajes aplicado a las diferentes especies animales estudiadas va desde los 5 a los 45V.

En términos de eficacia de los estímulos y la seguridad del animal, el flujo de corriente es otro parámetro importante (Martin, 1978).

Según Rock (1976), corrientes por encima de los 100 microamperios (mA) pueden ser potencialmente riesgosas para la vida del animal.

La aplicación de los estímulos eléctricos consiste en el giro lento de la llave operadora, partiendo de 0V, para el voltaje pico y un mantenimiento de 3 segundos con un retorno rápido a 0V (Platz y Seager, 1978; Platz et al., 1983).

El uso de anestesia para la electroeyaculación fue probado por primera vez por Platz et al. (1976) en gatos domésticos, quien utilizó la asociación ketamina-acepromacina y tiletamina-zolazepam, obteniendo excelentes resultados, eliminando el estrés en el animal y los riesgos de accidentes con los operarios.

3.15. Importancia de la evaluación del semen

Inmediatamente después de la colecta se hace la verificación macroscópica del color, volumen y motilidad. Con esta apreciación del semen es evaluado antes de iniciar la temporada de empadre para determinar en el microscopio el número de espermatozoides activos (motilidad). (Agraz, 1989).

3.16. Características del semen

3.16.1. Valoración macroscópica del semen

La valoración macroscópica del semen se realiza en laboratorio y se evita el contacto directo del eyaculado con la luz solar, para valorar y/o evaluar el volumen, pH, color y densidad(consistencia). (Bustinza,2001).

3.16.1.1 Consistencia

Según Sumar (1989) define que, la densidad del semen depende de la relación entre las partes celular y plasmática. Indicando así mismo junto a Leyva(1981) que el semen de llamas presenta un aspecto viscoso y pegajoso .

3.16.1.2 Color

Por otro lado Sumar y Leyva (1981), sostiene que el color de los eyaculados varia de blanco lechoso a blanco cristalino, según la concentración de espermatozoides y el grado de contaminación con otros fluidos así mismo manifiestan que el color puede ser modificado por la presencia de elementos anormales.

3.18.1.3 Volumen

En este caso el volumen es muy variable, en alpacas de la raya del Perú el volumen del eyaculado es de 0,4 a 6,6 ml, en llamas de Condoriri Bolivia es de 0,5 a 2 ml (Chiri, 2002).

Por otro lado Bustinza,(2001) sostiene que el volumen se lee en un tubo graduado y este varia de 0,5 a 4,5 ml y en algunos casos puede llegar a 10 ml en alpacas con Vagina Artificial.

En general el volumen varia de acuerdo al método empleado Sumar (1981).

3.16.1.4 pH

Un pH aproximado de 7 (de 6,9 a 7,5 para las diferentes especies) cae en limites de actividad optima de la mayoría de las enzimas del espermatozoide. Por lo tanto, si se mantiene un pH neutro (7,0) se espera una tasa metabólica elevada. Si el pH del semen se desvía hacia la alcalinidad o hacia la acidez, se reducirá el índice metabólico. (Sumar, 1991).

La investigación en esta área establece la importancia de diluir el semen en un medio amortiguado que resista los cambios de pH, de manera que se pueda mantener la vida máxima fértil del espermatozoide. (Bearden y Fuquay, 1980 Traducido por Sumar, 1991).

3.16.2. Valoración microscópica del semen

Huanca (2005) menciona que, la valoración microscópica tiene gran valor, permite determinar la verdadera calidad del semen poblacional.

De acuerdo a Sumar y Leyva (1981) señalan; que la evaluación microscópica del semen debe realizarse en un medio constante (temperatura). Esta evaluación microscópica se realiza por dos métodos: la comprobación subjetiva o por estimación (motilidad), que informa rápidamente sobre el valor del semen, y la comprobación objetiva (concentración, morfología), que representa el método mas preciso y se usa para corregir los métodos subjetivos y poder analizar la calidad del eyaculado o la fertilidad probable del semen del semental.

3.16.2.1. Motilidad

No existe “motilidad masal” por la baja concentración relativa de espermatozoides y por una motilidad progresiva individual poco vigorosa (Sumar y Leyva, 1981). Este ultimo obedecería a que el plasma seminal es altamente viscoso (parecido a la clara de huevo), por lo que el movimiento de los espermatozoides es lento, comparado al del ovino o bovino. Al respecto Sumar (1991) menciona que. La motilidad individual o progresiva de los espermatozoides de la llama es lenta, lineal y rotatoria

Según Bustinza (2001) sostiene que. La motilidad se determina colocando una gota de semen sobre un portaobjetos y luego se lleva al microscopio para observar a 10x y 40x.

La lectura se realiza en la siguiente escala:

- ✓ 100 % de motilidad = Muy buena calidad
- ✓ 80 % de motilidad = Buena calidad
- ✓ 60 % de motilidad = Regular calidad
- ✓ 40 % de motilidad = Pobre calidad
- ✓ 20 % de motilidad = Muy pobre calidad
- ✓ 0 % de motilidad = Deficiente muestra

Este autor recomienda usar solamente eyaculados con motilidad igual o mayor a 60% o mínima del 50%, para realizar la crio conservación.

De acuerdo a Gonzalez (2000). La motilidad es una característica de la célula espermática y se trata de uno de los parámetros más importantes en las concentraciones seminales, debido a que es imprescindible para que se produzca la fecundación. Pero ojo, no es sinónimo de fertilidad.

- **Motilidad Individual:** Para la estimación de la motilidad individual presente en un determinado eyaculado debemos diluir previamente el semen con un diluyente seminal y con posterioridad, por medio de una pipeta Pasteur, procedemos a colocar una gota sobre un portaobjetos debidamente atemperado, se coloca encima un cubre objetos y se valora, por medio de un microscopio óptico, el porcentaje de espermatozoides que presentan un movimiento rectilíneo y progresivo (correcto), descartando de esta forma aquellos que presentan un movimiento circular (anormal). (Bustinza,2001).

3.16.2.2 Concentración Espermática.

La alta viscosidad del plasma seminal en llamas y alpacas, hace difícil la extensión y coloración del semen en el hematocimetro, Fernández-Baca y Calderón (1966), señalado por Sumar (1991), también mencionan que se ha obtenido semen por medio de la electroeyaculación, reportando una concentración que fluctúa de 1000 a **225000** espermatozoides por mm³ y en muestras de semen obtenidas con vagina artificial, Leyva y Col (1984), citado por Sumar (1991), reportaron concentraciones de 292900 ± 34321 de espermatozoides por mm³

3.16.2.3. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática refleja la capacidad de la membrana protoplasmática del espermatozoide vivo y muerto, de dejar pasar colorante vital si el espermatozoide esta muerto por tanto, queda teñido. En cambio los espermatozoides vivos no quedan teñidos.

3.16.3. Factores relacionados con la colección y calidad del semen

- **Frecuencia de colección:** En época reproductiva podría ser una causa de baja fertilidad por agotamiento de las reservas espermáticas en los machos.(Bravo y Col., 1997)
- **Duración de la copula:** No produce cambios considerables de volumen del eyaculado pero si en la concentración y el porcentaje de espermatozoides (Bravo y Col., 2002).
- **Época:** Así como la alimentación son importantes en la producción espermática concentración y porcentaje de anormalidades, sobre todo de la cola, teniéndose buenas características seminales durante el verano y la anormalidades se incrementa durante el invierno (Giuliano y Col., 2006).
- **Edad:** En alpacas, la edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática, ya que las características mejoran ligeramente de acuerdo aumenta la edad, pero dicha diferencia no es significativa (Bravo, 2002; Quispe, 1987).
- **Luz:** las intensidades lumínicas encontradas normalmente en el laboratorio pueden deprimir la tasa metabólica, la motilidad y fertilidad de los espermatozoides. los efectos adversos solo se notan si el semen esta en contacto con oxígeno(Bearden y Fuquay, 1980 Traducido por Sumano L.)
- **Presión osmótica:** La membrana de los espermatozoides es semipermeable, por lo cual las soluciones hipo e hipertónicas alteran la transferencia de agua a través de la membrana, lesionando la integridad de la célula, es muy importante utilizar solo soluciones isotónicas ya que los espermatozoides permanecen móviles por mas tiempo (Bearden y Fuquay, 1982).
- **Temperatura:** cuando la temperatura se eleva a más de 50°C los espermatozoides sufren una pérdida irreversible de su motilidad. Si se mantiene a la temperatura corporal, solo vivieran por unas pocas horas,

debido al agotamiento de los substratos de energéticos, a una caída del pH. (Bravo, 2002).

3.17. Técnicas de contención

Por su parte Novaes (1990) establece que las técnicas de contención se clasifican en: a) Físicas, cuando el animal es inmovilizado a través del uso de redes, guantes u otros equipos, y b) Químicas ó farmacológicas, cuando son utilizadas drogas

Según Fowler (1978), se deben tener en cuenta cuatro factores para la selección de la técnica de contención: 1. Ser segura para el equipo de trabajo que manejará al animal, 2. Ofrecer la máxima seguridad para el animal, 3. Permitir el acompañamiento seguro del animal durante los procedimientos que se desean realizar, y 4. Permitir la observación segura hasta la recuperación total del animal. La administración de xilacina o xilacina y ketamina ha sido descrita extensamente en alpacas y llamas (Gavier *et al.*, 1988; Fowler, 1989). Estas drogas ofrecen un efecto desde sedación hasta anestesia de corta duración, sin embargo, el grado (nivel de sedación o anestesia) y duración (de 10 a 60 minutos) es variable (Mama, 2008). En el Anexo 3 se presentan las dosis de estos fármacos para CSA (Camélidos Sudamericanos).

3.18. Tinciones vitales

De acuerdo a Hanses (1999), el valor de la determinación de espermatozoides vivos es comparable a la de la motilidad, en relación a la probable fertilidad del semen, a mayor cantidad de espermatozoides vivos mayor será la cantidad de espermatozoides vivos y mayor la calidad del semen.

Para el examen rutinario del porcentaje de espermatozoides vivos y muertos se puede utilizar la tinción de Eosina – Nigrosina en una proporción de:

- Eosina soluble en agua 5 %
- Nigrosina soluble en agua 10%
- Agua bi destilada, c.s.p. 100ml. (Evans y Maxwell, 1990).

El porcentaje de espermatozoides vivos de las muestras tomadas se determinan utilizando una sustancia colorante que no sea absorbida por los espermatozoides vivos; (Eosina) los espermatozoides muertos a diferencia de los vivos se tiñen con la Eosina (color rojo); en especial sus cabezas, absorben el colorante por permeabilidad celular. Las tinciones permiten diferenciar los espermatozoides vivos de los muertos. El examen de 100 células por frotis son suficientes para su determinación; estos frótis se observan a 40x, (Falcón, 1972).

Estudios realizado por Torres (1989), en la colección de esperma por vagina artificial, indica que el porcentaje de espermatozoides muertos no debe ser mayor a 12%. Y el porcentaje aceptable de espermatozoides vivos puede fluctuar de 88% a 96%, esto dependiendo de todos los factores que influyen sobre la supervivencia de los espermatozoides.

3.19. Características del dilutor para la evaluación microscópica

De acuerdo Hafez (2000), mantener una adecuada presión osmótica y balance electrolítico, abastecer nutrientes como fuente de energía, conservar un adecuado equilibrio del pH debido a la formación de ácido láctico, impedir el crecimiento bacteriano, extender el volumen del semen para que pueda ser usado para múltiples inseminaciones, proteger a los espermatozoides del efecto dañino del enfriamiento y congelamiento, fuente de nutrientes, un protector contra el frío, un amortiguador (buffer), y agentes antibacterianos.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Localización de la zona de estudio

El presente trabajo se realizó en la Estación Experimental de Choquenaira, dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés (U.M.S.A), localizado en la provincia Ingavi, del departamento de La Paz, a una altitud de 3.870 msnm, a 8 Km de la población de Viacha y a 38 Km de la ciudad de La Paz, entre los 14° 16' 45" de Latitud Sur y 65° 34' 23" de Longitud Oeste (Pacheco, 2000).

4.1.2. Descripción ecológica

4.1.2.1. Clima

La comunidad de Choquenaira según Holdrige (1982), es clasificada como "clima templado frío" con vegetación montano, estepa Espinosa. presenta una temperatura promedio anual de 7,7 °C con extremas que fluctúan entre -15 a 22 °C con una precipitación promedio de 349,10 mm. (Mamani, 2012).

4.2. Materiales y Equipos

4.2.1. Material Biológico para colección seminal

- ✓ Vagina artificial
- ✓ Fundas de látex
- ✓ Vasos colectores graduados
- ✓ Estufa eléctrica
- ✓ Gel lubricante para V.A.(Vagina Artificial)
- ✓ Jeringa de 60 ml
- ✓ Mesa de sujeción/colección macho (con orificio interno)
- ✓ Jeringa de 10 ml

- ✓ Agua
- ✓ Olla
- ✓ Papel toalla
- ✓ Secadores Electroeyaculador y sogas

4.2.2. Material de laboratorio

- ✓ Microscopio
- ✓ Laminas porta y cubre objetos
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Papel pH
- ✓ Cámara de Newbauer
- ✓ Pipetas
- ✓ Gradillas
- ✓ Tubos graduados de 10 ml
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Papel toalla
- ✓ Baño María
- ✓ Placa térmica calefactora
- ✓ Sistema de purificación de agua (destiladora)
- ✓ Refrigerador
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Cronómetro digital
- ✓ Vasos precipitados

4.2.3. Material químico

- ✓ Penicilina
- ✓ Tris
- ✓ Acido cítrico
- ✓ Glicerina
- ✓ Sedante
- ✓ Colorante (Eosina-Nigrosina)

- ✓ Alcohol de polivinilo
- ✓ Agua bi destilada
- ✓ Yema de huevo
- ✓ Alcohol y Fructosa

4.2.4. Material gabinete

- ✓ Registros de colección
- ✓ Calculadora
- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Computadora

4.2.5. Material cenobial

- ✓ 4 reproductores adultos llamas machos (Q´ara)
- ✓ 1 hembra adulta como señuelo

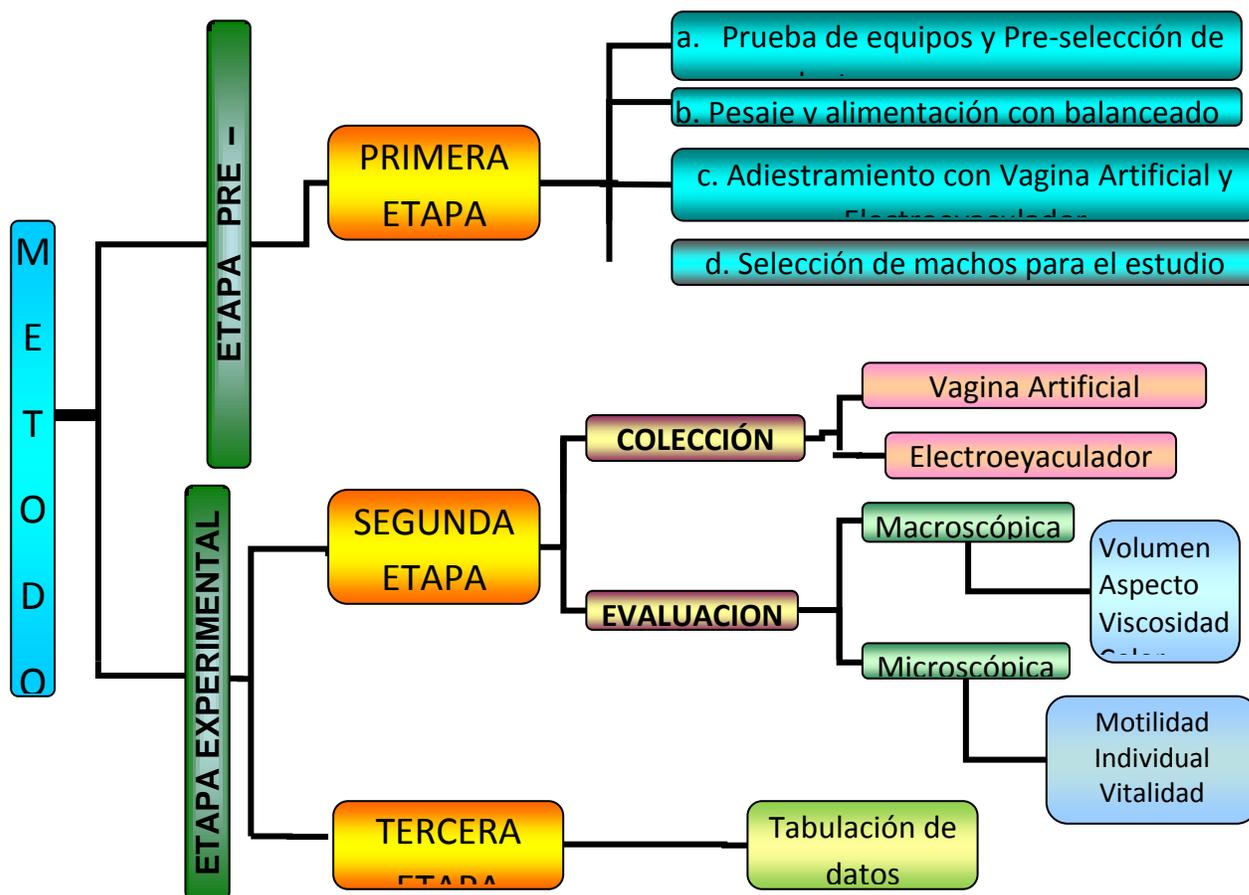
4.2.6. Instalaciones

Para el presente estudio se utilizo tres corrales de empadre interconectados entre si a 15 m de longitud por 9 m de ancho y una altura de 1,6 m.

Además de la sala Box para la colección de semen mediante el Electroeyaculador con 6m de longitud por 3,90 m de ancho y una altura de 5 m .

4.3. Métodos

La descripción cronológica de los métodos empleados en el trabajo de investigación, se describe en el siguiente diagrama.



4.3.1 Etapa pre-experimental

4.3.1.1. Primera etapa.

a) Selección de reproductores y entrenamiento

➤ Vagina Artificial

La etapa pre-experimental se realizó entre los meses de agosto a noviembre de 2011, cuando se inicio la pre-selección, de los seis machos reproductores para realizar la prueba de colección de semen por el método de la vagina artificial, para ello se utilizó una llama hembra adulta machorra como señuelo de cinco años de edad, cuya colección duro diez minutos por colecta

➤ Electroeyaculador

Para este método fue realizado en el mes de enero de 2012, debido a que el equipo fue construido durante el mes de diciembre de 2011 por funcionarios de la Estación Experimental de Choquenaira y la prueba del mismo fue realizado con un macho de tres años de edad (ensallo del equipo), cuya colección duro treinta minutos (diez minutos desde la aplicación e inicio del efecto del sedante y veinte minutos para la colección de semen) .

b) Pesaje y alimentación

Los seis machos reproductores fueron pesados, con la finalidad de garantizar una buena calidad y cantidad de semen, se suministro una ración como suplemento a la dieta diaria en una cantidad de 300 g/día, durante las mañanas en un bañador, en condiciones de pastoreo , es decir cuando el animal estaba comiendo en la pradera nativa amarrado a una estaca con una jáquima.

c). Selección de machos reproductores para el estudio

➤ Vagina Artificial

La totalidad de machos (reproductores) del Centro Experimental de Choquenaira, todos fueron adiestrados y acostumbrados a la vagina artificial, y de acuerdo a su capacidad de servicio y su vigor sexual, fueron seleccionados aquellos que mostraron mayor interés por cubrir a la hembra machorra en el tiempo de dos semanas.

Posterior a la etapa de adiestramiento se seleccionaron cuatro machos del tipo Q´ara de 3 y 5 años de edad, con 100,5 a 137 kg de peso vivo, los que fueron mantenidos estabulados. Los animales seleccionados se alojaron a campo abierto, expuestos al fotoperiodo natural. Se les proporcionó heno de cebada y de alimento comercial (afrecho, torta de soya y rocsalfost), conteniendo 14% de proteína a razón de 300 g/animal/día, respectivamente. El agua se administró ad libitum en un bañador de plástico.

Se realizó el examen clínico de los órganos genitales externos (testículos, pene y prepucio) por medio de exámenes de inspección y palpación, dando especial atención al tamaño y forma de los testículos y epidídimos, palpados a través del escroto, estos se mostraron firmes y elásticos, no se observaron lesiones, deformidades ni adherencia pene-prepucial.

➤ Electroeyaculador

Los machos seleccionados para esta prueba, sólo se tomaron en cuenta a aquellos cuatro seleccionados para la vagina artificial, con la finalidad de hacer una comparación de ambos métodos, el cual fue el objetivo principal del presente estudio.

d) .Adiestramiento con Vagina Artificial y Electroeyaculador

➤ Vagina Artificial

El adiestramiento de los animales seleccionados se realizaron con la finalidad de acostumbrar y adiestrar a los reproductores para la colección de semen con la vagina artificial, colocando adecuadamente a una temperatura de 42°C en el momento de la colección, se realizó en horas de la mañana y tarde por un periodo de dos veces por semana (día por medio).

En el acostumbramiento, los machos no mostraron indiferencia a la hembra, por causa de este medio(VA), tampoco hubo presencia de temperamento nervioso característico de las llamas por presencia de una persona.

En las repeticiones del proceso de adiestramiento los cuatro machos reproductores seleccionados respondieron positivamente a la monta voluntaria y a la vagina artificial, haciéndose automática y mecánica la respuesta del macho a esta acción.

➤ Electroeyaculador

La electroeyaculación consiste en extraer semen a los animales sin previo acostumbramiento. Esto es de suma importancia para la evaluación de reproductores a campo. (Gunn ,1936). Está basada en la aplicación rítmica de un estímulo eléctrico por vía transrectal estimulando el sistema nervioso autónomo y somático, que conduce a la obtención de secreciones de las glándulas accesorias y finalmente a la eyaculación (Delgado, et. al. 2003); Por tal motivo, se probó el equipo, en un macho que no pertenecía al grupo experimental, para realizar las correcciones y ajustes respectivos.

4.3.2. Etapa experimental

4.3.1.1. Segunda etapa

Para evitar la [contaminación](#) de la muestra, se cortó los pelos del orificio prepucial y de la periferia del mismo y se procedió a su limpieza con suero fisiológico, este procedimiento se lo realizo 30 minutos antes de toda extracción.

Para la colección con vagina artificial no se realizo ningún tipo de contenciones a los machos, debido a la presencia de una hembra machorra como señuelo, la cual producía el cortejo subido del macho seguido por la monta y la desviación del pene a la Vagina Artificial sin producir ningún tipo de estrés ni por presencia de quien lo manipulaba.

El Electroeyaculador producía estrés en los machos, para ello se tuvo que someter al macho a contenciones químicas (uso de xilacina) y físicas(sujeción por amarre) para seguridad al momento de colocarlo en posición decúbito ventral sobre una mesa, la cual tenia 101cm de altura y 2 m de largo con 83 cm de ancho, además de presentar un orificio interno de 33 x 18 cm por el cual se exponía el pene para la colección del semen .

Esta etapa comprendió desde la colección de semen de los animales adiestrados, hasta la evaluación macro y microscópica del semen.

Colección

a)Vagina artificial

El experimento con vagina artificial tuvo una duración de dos semanas, semanalmente se obtuvo dos eyaculados por animal, la vagina artificial empleada fue el de ovinos; el cual tiene 20 cm. de largo y 6 cm. de diámetro

Para la colección del eyaculado se tomó en cuenta, la siguiente preparación del equipo: lavado de la camisa de látex y tubo colector de vidrio se lo realizo con

[agua](#) destilada y detergente neutro, enjuagadas luego con la misma [agua](#) destilada. Se los dejó secar. El cilindro fue lavado de la misma manera y esterilizado por ebullición en agua.

Para el montado, se colocó la camisa de látex dentro del cilindro. Como la primera era más larga que el tubo rígido, se revertieron los extremos de la camisa sobre las extremidades del mismo. Ambos extremos fueron fijados con ligaduras, principalmente en el extremo peneano, para evitar posteriores pérdidas.

Una vez armada la vagina, se llenó el espacio vaginal con [agua](#) caliente a 65 – 70 grados Celsius, para lograr una temperatura interna que oscile entre 45 y 52 grados, esta temperatura fue confirmada introduciendo un termómetro al interior de la vagina artificial, tocando con éste la camisa de látex todo esto según bibliografía anteriormente mencionada.

El [agua](#) se colocó primero con la vagina en posición horizontal hasta que su rebalse, y luego en forma vertical desalojando el excedente. De esta manera, la presión intravaginal fue la correcta en el momento de la introducción del pene en la vagina, tomando en cuenta que esta presión dependió mucho del tamaño del órgano.

Una vez llena de [agua](#), se colocó el tubo colector de vidrio en los pliegues fijos de la camisa látex, posteriormente al tubo colector se lo cubrió con la manga de una chamarra para evitar la exposición del semen colectado a los rayos del sol, ya armado el equipo y antes de comenzar la extracción se lubricó la entrada con vaselina sólida esterilizada.

Electroeyaculador

El electroeyaculador tuvo una duración de dos semanas obteniéndose dos eyaculados/animal, comprendió desde la prueba del equipo, hasta la evaluación macro y microscópica del semen

El equipo utilizado para la generación de electrochoques fue proporcionado por la Estacion Experimental de Choquenaira bajo el control del técnico laboratorista de la Estacion este equipo fue portátil semejante al utilizado para electroeyaculación de ovinos y caprinos. (Fig. 8)



Figura 8. Equipo de Electroeyaculación

La alimentación del equipo fue por la energía de un adaptador de voltaje de 12Voltios, y presentaba dos llaves que permitía la graduación del voltaje y su intensidad desde 2Voltios subiendo gradualmente cada 0,2 Voltios hasta llegar a 10 Voltios y 100 μ A(micro amperios). Para la electroeyaculación fue utilizado un electrodo rectal bipolar, con tres tiras longitudinales de cobre de 9 cm de largo . Las tiras de cobre presentaban 0,4 cm de distancia entre ellas y fueron construidas de forma que estuviesen salidas en aproximadamente 0,2 cm. El diámetro del transductor rectal fue de 2,0 cm de ancho.

La Xilacina fue aplicada en función al peso de cada animal cuyo efecto empezaba a los 8-10 min de ser inyectados intramuscularmente y su duración total fue de alrededor de 30-35 min.

El transductor rectal fue debidamente lubricado con gel e introducido en el recto de 10 a 15 cm de acuerdo al animal. Las tiras longitudinales posicionadas ventralmente, ejercio una ligera presión en la pared rectal, con el objetivo de aumentar el contacto con la región del plexo nervioso pélvico.

Los electrochoques fueron realizados en una serie de : 10 estímulos de 2V, 10 estímulos de 4V , 10 estímulos de 6V , 10 estímulos de 8 V y 10 estímulos de 10V. haciendo un total de 50 estímulos y tres repeticiones de la serie.

Entre cada cambio de voltaje fueron dados de 4 a 5 segundos para el descanso del animal. La generación de cada estímulo fue realizada girando lentamente la llave de comando del electroeyaculador hasta llegar al voltaje deseado, el cual fue mantenido de 2 a 3 segundos, y enseguida retornado rápidamente a 0V (apagado). La duración de los estímulos fue alrededor de 20 minutos

e). Evaluación del semen fresco

Las muestras del electroeyaculador inmediatamente a la obtención del semen se procedió a su dilución para proteger a los espermatozoides del shock térmico

Las muestras de semen fueron conservadas en baño María a 37.5 °C para luego evaluarlas mediante dos instancias.

- i. Macroscópica (volumen, color, pH, aspecto, viscosidad).
- ii. Microscópica (motilidad masal, motilidad individual, vitalidad, concentración espermática, porcentaje de anomalías).

i). Evaluación macroscópica

Volumen

El volumen del eyaculado se determinó por lectura directa registrándose el colector de la vagina artificial graduada en ml.

Este dato se tomó después de 8 minutos de realizar la colección de semen, ya que el semen tenía un aspecto espumoso y viscoso y tardó un cierto tiempo en bajar de la funda al tubo colector

Color o tonalidad

El examen del color o tonalidad se realizó mediante la observación directa, en el mismo vaso de colección inmediatamente de colectado, considerando para tal fin tres tonalidades de acuerdo a los reportes encontrados por Arroyo,(1998).

pH

La determinación del pH se realizó utilizando papel pH con una escala de 1 – 12.

Aspecto

La evaluación del Aspecto del semen se lo realizo por simple inspección del mismo.

Viscosidad

Para la evaluación de este dato se procedió a la observación de 0,5 ml de muestra en una pajuela, observando la ausencia o presencia de elasticidad del fluido durante su precipitación (gota colgante), se le dio un valor según el cuadro 1:

Grado A	Con poca viscosidad
Grado B	Media viscosidad
Grado C	Mucha viscosidad

Cuadro 1. Grados de viscosidad del eyaculado

(Fuente:Garabito,2003)

De acuerdo al tiempo que tarda en precipitar la muestra, ya que la bibliografía indica que este dato es subjetivo y cuantitativo de acuerdo a un criterio personal (Perez G. 2001).

ii) Evaluación microscópica

Para el análisis fue necesario tener los utensilios y equipos esterilizados día antes de la colecta, se lavo los utensilios como ser porta y cubre objetos pipetas, vaso precipitado y cámara Newbawer con detergente biodegradable neutro y fueron escurridos y esterilizados en el horno.

El día de la colecta se preparo un diluyente a base de tris fructosa, para la dilución del semen, el mismo que figura en el Cuadro 2:

Tris	3,0828 g
Acido citrico	1,675 g
Fructosa	1,25 g
Glicerina	8,0 ml
Agua bi-bidestilada	92 ml
Yema de huevo(+ antibiotico)	25,0 ml

Cuadro 2. Diluyente para la protección del shock térmico

Extracción de la yema de huevo (Figura 9):

- Separación de la yema y la clara de huevo
- La yema se coloco sobre un papel toalla esterilizado
- Se rompió la membrana que cubría la yema y por precipitación se coloco la yema en un vaso precipitado.

Pesado de los reactivos y homogenización de los mismos, se mezclo con la yema y posteriormente con glicerina.



Figura 9. Preparación de la solución protectora

Motilidad individual

Para la determinación de la motilidad individual se utilizaron: un portaobjetos, un cubre objetos y el microscopio, de la siguiente manera:

Portaobjetos y cubreobjetos fueron calentados en la placa térmica a una temperatura de 39°C aproximadamente.

Se colocó una gota de semen diluido con citrato de sodio al 2.9 % en el portaobjeto y luego se cubrió con una lámina cubreobjetos.

La muestra fue llevada al microscopio para su evaluación en una lente a 40x, luego se observó en diez campos por muestra, extensamente espaciados para proporcionarle una estimación del porcentaje de motilidad de espermatozoides con movimiento lineal progresivo.

Inmediatamente y fijando la vista en un sector determinado del campo de observación del microscopio, se contó 10 espermatozoides al azar y de acuerdo a cuantos espermatozoides con movimiento progresivo se observaron dentro de 10 contados, se fue registrando la motilidad de cada muestra según Enciso,(2009).

Para la evaluación de la motilidad se utilizo la siguiente formula:

$$\text{Motilidad} = \frac{\text{Espermatozoides móviles}}{\text{Total de espermatozoides}} \times 100$$

Fuente: Enciso,(2009).

Porcentaje de vivos y muertos

Para la determinación de espermatozoides vivos y muertos se utilizó la técnica de Evans y Maxwell (1990), empleo la tinción de Eosina – Nigrosina; usó un portaobjeto templado a 37°C aproximadamente, para luego llevarlo al microscopio; el proceso fue:

- ✓ Se mezcló de la gota de semen con Eosina al 5% y nigrosina al 10%
- ✓ Posteriormente se realizó el frotis
- ✓ Se secó la muestra y para observarlo al microscopio con aumento de 40x.
- ✓ La lectura se realizó, en diez campos por muestra, contando 100 células espermáticas entre vivos y muertos determinándose en porcentaje.
- ✓ Para diferenciar los vivos de los muertos con la coloración de la Eosina - Nigrosina, se tomaron en cuenta los resultados obtenidos por diferentes autores, los que señalan que los espermatozoides muertos a diferencia de los vivos se tiñen con la Eosina (color rojo) en especial sus cabezas (por permeabilidad celular), mientras que los vivos permanecen incoloros según se aprecia contra el fondo oscuro de Nigrosina. (Falcón, 1972; Derivaux, 1982; Fraser et al., 1988; Torres, 1989; Agraz, 1989).

La determinación dada en porcentaje se estimó con la siguiente fórmula según (Garabito, 2003).

$$\%EV = \frac{\text{N}^\circ \text{EV}}{\text{N}^\circ \text{Esperm. Contados (Vivos + Muertos)}} \times 100\%$$

Concentración espermática

Para realizar este análisis las células espermáticas tienen que estar muertas.

La concentración espermática se determinó por el método Hemocito metro o cámara de Neubauer con una dilución de 1:100; se siguió la técnica descrita por Derivaux (1982), de la siguiente manera:

- Se aspiró semen con la pipeta cuenta glóbulos rojos hacia la marca de 0.5.
- Inmediatamente se completó con agua destilada fría (debido a que es capaz de matar o fijar a los espermatozoides), hasta la marca de 101 sobre el bulbo de la pipeta.
- Se agitó la pipeta tomándola entre los dedos medio y pulgar por un tiempo de dos a tres minutos aproximadamente, posteriormente se eliminó las primeras tres gotas.
- Se dejó caer una gota a la cámara de Neubauer para que se distribuya por capilaridad entre la cámara y el cubreobjetos.
- Se esperó cinco minutos antes del recuento, considerando que la cámara está compuesta de una cuadrícula que delimita un grupo de 25 cuadrados grandes y cada uno de los cuales se encuentra dividido a su vez en otros 16 cuadrículas pequeñas, se contó las cabezas de los espermatozoides contenidos dentro de la doble rejilla superior y derecha, no se contaron las cabezas que se encontraron en la doble raya de la izquierda e inferior, es decir se contaron 5 cuadrantes (cuatro extremos y uno al centro de los 25 cuadrados grandes). Se procedió a sumar el total de espermatozoides encontrados.
- Este se multiplicó por el factor 10 obteniéndose como resultado el número de espermatozoides por mm³.
- Se volvió a multiplicar por 1000 y se obtuvo la concentración en cm³ o ml.

$$C = NEC5C \times 10 \times 1000$$

Fuente: Pacheco (2011)

Donde:

NEC5C = Número de espermatozoides contados en 5 campos
10 y 1000 = Son constantes

Porcentaje de espermatozoides anormales

Para su determinación, se utilizó los frotis hechos para el porcentaje de vitalidad, prosiguiendo de la siguiente manera:

Se contaron todos los espermatozoides encontrados en los cuatro campos microscópicos del frotis; enumerando las formas anormales encontradas.

El examen se llevó a cabo, anotando las anormalidades que presenten los espermatozoides en cada campo microscópico.

Para diferenciar las anormalidades primarias y secundarias, se utilizó como referencia las anormalidades descritas por (Derivaux, 1982; González, 1989; Agraz 1989; Háfez, 1996; López, 2001) en Camélidos Sudamericanos.

Anormalidades primarias

Cabeza gigante, microcéfalo, colas enrolladas, colas rotas, cabezas dobles, doble cola, colas torcidas alrededor de la cabeza de los espermatozoides.

Anormalidades secundarias

Cabeza suelta o sola, cola sola, colas en gancho, cola doblada

La determinación dada en porcentaje, se estimó con la siguiente fórmula según(Mendoza, 2001):

$$\% \text{ ANORM} = \frac{\text{N}^\circ \text{ esp Anormal}}{\text{N}^\circ \text{ Esperm. Contados}} \times 100\%$$

4.4. Modelo estadístico para la evaluación de las características macroscópicas y microscópicas del semen

Para el análisis de los valores resultantes del volumen, pH, motilidad (%) anomalidades (%), espermatozoides vivos y muertos (%), concentración espermática, se analizó de acuerdo al Modelo Estadístico Completamente al Azar bi-factorial, considerando para ello cuatro llamas machos como tratamientos y 3 repeticiones.

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SAS. El modelo lineal aditivo. Según (Ochoa, 2007).

$$\underline{X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}}$$

X_{ijk} = Una observación cualquiera

- μ = Media general
- α_i = Efecto de la i – esima edad de los machos reproductores
- β_j = Efecto de la j – esima técnica de colección de semen
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Interacción de la i – esima edad de los machos reproductores con la j – esima técnica de recolección de semen. Interacción Edad x técnica de colección.
- ϵ_{ijk} = Error experimental

VARIABLES DE RESPUESTA ESTUDIADAS PARA ESTA FASE

- Volumen
- Aspecto
- Color
- Vitalidad
- Porcentaje de anomalidades
- ▶ pH
- ▶ Viscosidad
- ▶ Motilidad individual
- ▶ Concentración espermática

4.5. Costos Parciales

Para realizar los costos parciales se hizo la valoración de todos los componentes directos para la colección del semen y su respectiva comparación entre ambas técnicas de colección

Ademas para realizar una toma de decision con respecto a cual de los metodos es mejor, es necesario realizarlo en funcion a los resultados obtenidos de las evaluaciones de cada eyaculado, por tal motivo fue pertinente realizar la comparacion de ambos.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El equipo utilizado para la generación de electrochoques fue construido en la Estación Experimental de Choquenaira basado en los planos proporcionados por la **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, ISSN 1695-7504, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> (Anexo 10).**

Previamente al estudio con Electroeyaculador se realizaron pruebas con el equipo y un macho fuera de estudio aplicando a este un ensayo en blanco, al mismo tiempo se probó la dosis de un sedante (Xilacina) recomendada por Garcia-Pereira *et al.*, (2006); Fowler,(2007); Mama,(2007).

La contaminación del eyaculado con orina por la técnica del Electroeyaculador no ocurrió en ningún individuo, resultando bastante satisfactorio si consideramos que éste es el principal problema en el procedimiento de electroeyaculación (Fernández Baca y Calderón, (1966); Giuliano *et al.*, (2002), esto podría estar asociada a que el animal fue sometido a un correcto ayuno de agua y comida el día anterior, y al control del posicionamiento no craneal del electrodo en el momento de la electroeyaculación, ya que parece haber cierta proximidad entre la inervación controladora de la micción y la inervación controladora de la eyaculación (Scott y Dziuk, 1959; Martin, 1978; Watson, 1978; Howard, 1993).

5.1. Protocolo de inmovilización

Es importante señalar que las dosificaciones de Xilacina (sedante), utilizadas en el estudio fueron aplicadas según posología, de acuerdo al Peso Vivo (PV) de cada animal, el cual están por encima de las reportadas en otros trabajos, esto podría deberse a factores inherentes a los animales, como edad, estado fisiológico, nivel de estrés, etc.

Evaluando independientemente los protocolos de contención química para cada animal de muestreo, no se observaron diferencias en los períodos de tiempo de duración del período anestésico.

5.1.1. Contención química

En la colección seminal por Vagina Artificial se utilizaron cuatro ejemplares de Llamas (*Lama glama*), en los cuales no se requirió contención química, por no presentar indicios de temperamento nervioso del macho ni de la hembra señuelo. Del mismo modo para el Electroeyaculador se utilizaron cuatro ejemplares machos y por el temperamento que presentaban se aplicó sedante (Xilacina). La dosis utilizada fue de 2,39 mg Kg⁻¹ PV de Xilacina mayor al reportado por Enciso (2009) quien utilizó 1,20 Kg⁻¹ PV de xilacina con mezclas de otros sedantes como la ketamina, midazolam y atropina (**Fig. 10**).



Figura 10. Aplicación de xilacina (Contención química)

El tiempo de inducción anestésica general fue en promedio, de 10,32 minutos. Sin la sedación completa del animal, se obtuvo una excelente analgesia y relajación muscular, presentaron poca movilidad y mínima respuesta a estímulos musculares, que garantizaron el bienestar del animal y la seguridad del equipo de trabajo.

Con respecto a la contención química con xilacina y contención física por sujeción, aplicada y descrita en la metodología, se mostró muy eficiente para los procedimientos de electroeyaculación, al proporcionar la analgesia y la relajación muscular deseada, garantizando el bienestar para el animal y la seguridad para el

equipo de trabajo. La dosis de Xilacina de 0,075 mg Kg⁻¹ PV, recomendada por la mayoría de los autores Garcia-Pereira *et al.*,(2006); Fowler, (2007); Mama, (2007), no fueron utilizados en el presente estudio ya que no proporcionaban relajación muscular esperada como describían en sus estudios, por lo que se puede afirmar que la recomendación mencionada por los autores no fue precisa ni adecuada, por tal motivo solo se siguió el protocolo de posología del medicamento el cual una vez realizado el calculo en función al peso del animal proporciono desde un principio relajación muscular adecuada haciendo ingresar al animal a un estado anestésico deseado, con una dosis de xilacina en promedio de hasta los 2,39 mg Kg⁻¹.

El retorno de la anestesia tuvo un inicio en promedio de 20 min de iniciada la inmovilización, observándose generalmente un ligero aumento de la FR (Frecuencia Respiratoria), movimientos de la cabeza y de las patas. En general, el retorno completo de la anestesia se daba de forma lenta y tranquila.

La electroeyaculación es la técnica base para la colección de semen en especies silvestres segun Howard *et al.*,(1983); Wildt *et al.*, (1984); Howard, (1993), y es también de amplio uso en CSA (Camelidos Sudamericanos) segun Giuliano *et al.*, (2002); Huanca, (2005), Giuliano *et al.*,(2008).

Fernández Baca y Novoa (1968), trabajando con colección de semen en vicuñas, utilizaron un protocolo que empleaba hasta 25 Voltios de intensidad en los impulsos eléctricos, con aparentemente el 100% de efectividad. Similares resultados fueron los obtenidos por Giuliano *et al.* (2002), quien utilizó un protocolo de electroeyaculación gradual, desde 1 hasta 8Voltios.

El protocolo de electroeyaculación sugerido por Platz *et al.* (1976), adaptado por Wildt *et al.*(1993) para todas las especies, y por Giuliano *et al.* (2008) para CSA, no se mostró bastante eficiente, ya que a medida que se subía las intensidades eléctricas, el animal entraba en estrés ocasionando reacciones de incomodidad como movimientos, saltos y lo mas desfavorable fue el repliegue del pene al prepucio, haciendo desaparecer la erección del mismo, de los protocolos

utilizados, solo se obtuvieron eyaculados cuando los voltajes permanecían fijos en 6 y 8 voltios.

En el estudio se considero utilizar hasta 8 Voltios como máximo, debido que a los 6 Voltios había respuesta eyaculatoria en los animales, se podía observar erección, tumefacción del pene y hasta movimientos de la extremidad distal del pene, característicos de los CSA (Bravo *et al.*, 2002).

Asimismo, enfatizamos que habiendo llegado hasta los 8 Voltios inclusive, no hubo riesgo para los animales debido a que el amperaje máximo utilizado fue de 100 microamperios (μA), valor muy inferior a los máximos sugeridos de hasta 100 miliamperios (mA) (Rock, 1976).

5.1.2. Contención física.

Con la V.A., lo único que se realizo fue una contención física aplicando un bozal al macho, cuya finalidad fue de ayudar a meter y sacar al corral de empadre. Hubo desconfianza con respecto a la reacción del animal al ser sometido a descargas eléctricas, por tal motivo se realizó la contención física con el Electroeyaculador, por seguridad para el equipo de trabajo y de quien realizaba la colección del eyaculado. **(Fig. 11).**

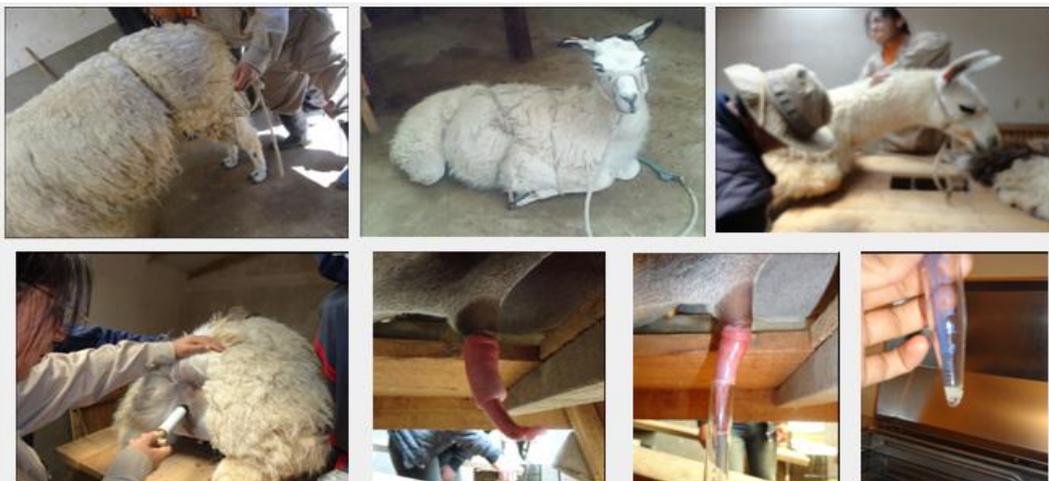


Figura 11. Contención física e introducción del transductor

Con respecto a las variables fisiológicas observadas durante el anestésico, éstas no sufrieron cambio alguno, notándose el incremento de las Frecuencia Cardiaca(FC) y Frecuencia Respiratoria(FR) poco antes de la recuperación de los animales. También se observaron ligeros aumentos durante el tiempo de la aplicación de los pulsos eléctricos, sin embargo, ninguna de éstas alteraciones fueron significativas, lo que demuestra la buena calidad del protocolo anestésico utilizado (Cuadro 4)

La (FC) se mantuvo en promedio en 116,83 latidos/minutos (LPM), la (FR) se mantuvo en 30,83 (RPM) y la temperatura general (T°) se mantuvo a 38,14 °C .

USO DE XILACINA : 2 ml por cada 100 Kg					INICIO RELAJACION : 10 min		
LUGAR DE APLICACIÓN : INTRAMUSCULAR					DESAPARICION : 30 min		
N°	ARETE	EDAD (años)	PESO [kg]	DOSIS Xilacina [ml]	FRECUENCIA		T °
					CARDIACA (LPM)	RESPIRATORIA (RPM)	
1	01 - 0113	5	132,50	2,65	117,33	30,33	38,23
2	34	3	114,17	2,28	117,00	31,33	38,03
3	210	5	130,47	2,61	117,00	30,67	38,10
4	50	3	101,67	2,03	116,00	31,00	38,20
TOTAL	PROMEDIO	4	119,70	2,39	116,83	30,83	38,14

Cuadro 4. Estado Fisiológico Normal del Reproductor

Las variables fisiológicas observadas durante el procedimiento anestésico, no sufrieron mayor cambio, notándose el incremento de las FC y FR poco antes de la recuperación de los animales. También fueron observados ligeros aumentos en estas constantes durante el tiempo de la aplicación de los pulsos eléctricos, sin embargo, ninguna de éstas alteraciones fueron significativas, lo que demuestra la buena calidad del protocolo anestésico utilizado.

Es importante resaltar que el uso de mantas que cubrieran los ojos de los animales ayudó significativamente a que las llamas entren en estado de anestesia y relajación más rápido. Con esas observaciones confirmamos lo sugerido por

Michaud *et al.* (2006), respecto a que el uso de estas capuchas o vendajes oculares mejoraron el manejo de las llamas, reduciendo el estrés.

5.2. Evaluación de las técnicas de colección y el efecto de la edad sobre las características físicas del semen de llamas

Para la evaluación de las dos técnicas de colección anteriormente ya mencionadas, se estudiaron los siguientes parámetros:

5.2.1. Evaluación macroscópica

La evaluación macroscópica consiste en evaluar todo aspecto visible y medible a simple vista, como ser: Viscosidad, Color, Aspecto del Eyaculado, Volumen y pH.

5.2.1.1. Viscosidad

En el presente trabajo de investigación; por medio de la técnica Vagina Artificial, se obtuvo una colección seminal de consistencia viscosa; a diferencia de lo obtenido por Electroeyaculador el cual presentaba una consistencia semiviscosa.

Esta diferencia de viscosidad entre ambas técnicas podría deberse al tipo de estimulación de cada técnica, así en la Vagina Artificial en presencia de la hembra receptiva pudo inducir el eyaculado a nivel hormonal, dando paso a la estimulación de las glándulas accesorias, las cuales contienen muco proteínas según Garabito (2003), y son expulsadas con el eyaculado; en cambio; con el Electroeyaculador no hubo tal estimulación a nivel hormonal solo se estimulo el testículo por el sistema nervioso eyaculatorio, tales resultados coinciden con los reportados por Giuliano *et al.* (2002), y por Enciso(2009).

Sin embargo las muestras colectadas de semen de llamas tenían una consistencia viscosa y pegajosa muy similar a la clara de huevo, mostrando una gran elasticidad durante la precipitación de la gota colgante.

Para medir la viscosidad se le dio un valor de **grado A**, con poca viscosidad; **grado B** medio, y **grado C** con mucha viscosidad; estas fueron evaluadas por simple inspección, el tiempo de caída de la gota colgante oscilaba entre tres a cinco segundos .

5.2.1.2. COLOR

El color del semen, obtenidas con la Vagina Artificial, y el Electroeyaculador fueron blanco lechoso con poca variación en su coloracion, similar al señalado por Giuliano *et al.* (2002), quien añade que el color del semen indica la concentración de espermatozoides en animales adiestrados y estabulados, descripción que no difiere al mencionado por (Garabito,2000), quien indica el color blanco lechoso del semen, colectado con V.A. al igual del semen colectado en un tubo graduado por Electroeyaculado, descripción corroborada por (Bustinza, 2001) quien indica que en alpacas el color del semen es blanco cristalino a blanco lechoso, asociados con valores de concentración de espermatozoides (**Fig. 12**)



Figura 12. Eyaculado limpio y Contaminado

5.2.1.3. Aspecto

El aspecto del semen colectado con VA fue espumoso; y tardo un cierto tiempo en bajar de la funda al tubo colector, a diferencia de la apariencia del semen

colectado con un Electroeyaculador, que no presento espuma, la evaluación fue realizada por simple inspección (Fig. 13)



Figura 13. A) Muestra de semen con espuma por Vagina Artificial ; B)Muestra de semen sin espuma por Electroeyaculador .

La consistencia del semen fue semilíquido en las muestras obtenidas con Electroeyaculador, resultado similar a lo obtenido por Enciso(2009) , mientras que en muestras obtenidas con Vagina Artificial el eyaculado fue acompañado con espuma , al igual de los reportes de Giuliano *et al.* (2002). La presencia de espuma en el eyaculado colectado por Vagina Artificial podría deberse a dos factores, el primero, a que la muestra de semen fue sometido a movimientos bruscos ocasionado por el macho en el momento de la copula con la Vagina Artificial, siendo estos movimiento normales en el acto copulatorio según Enciso(2009).

Y el segundo factor podría deberse a que la espuma nos indica la presencia rica en proteína y albumina de la muestra (Bravo *et al.*, 2002).

5.2.1.4. Volumen y pH



Figura 14. Volumen de semen con Electroeyaculador y Vagina artificial

Para el volumen y pH del semen de llamas, obtenidos con Vagina Artificial y Electroeyaculador, arrojaron los resultados que figuran en el cuadro 4.

Factores principales	Volumen (ml)	pH
Edad	*	NS
Técnicas de obtención	*	*
Edad x Técnicas de obtención	NS	NS
Estadísticos generales		
N	12	12
X	0.908	7.3
CV (%)	25.0	2.8
ml = mililitros; NS = no significativo (p>0.01); * = significativo (p<0.05)		

Cuadro 4. Influencia de factores principales en el volumen y pH del semen de llamas

Según el cuadro 4, la edad del animal tuvo una influencia significativa ($p<0.05$) sobre el volumen, pero no sobre el pH del semen en llamas. En cambio las dos técnicas de obtención de semen probadas en el presente estudio, afectaron significativamente ($p<0.05$) tanto el volumen como el pH del semen de llamas, pero no la interacción ($p>0.01$): edad del animal por técnicas de colección de semen de llamas.

Respecto al coeficiente de variación, este presenta una dispersión moderada (CV = 25 %), debajo del límite recomendado por Ochoa,(2007), consecuentemente los resultados obtenidos para el volumen son confiables.

El pH del semen de llamas promedio fue, de 7.3 inferior al reportado por Sumar(1991) el cual fue de 7.5, con respecto al Coeficiente de Variabilidad (CV) fue de 2.8 %, cuya variabilidad fue menor al 30 % recomendada como un máximo para los trabajos de investigación pecuarios según (Steel y Torry, 1986).

Factores principales		Promedios			
		Volumen (ml)		pH	
		Prom.	(p<0,05)	Prom.	(p<0,05)
Edad	3 años	1.09	A	-----	-----
	5 años	0.73	B	-----	-----
Técnica de obtención	Vagina artificial	1.57	A	7.4	A
	Electroeyaculador	0.25	B	7.1	B

Cuadro 5. Prueba Duncan, promedios de volumen y pH en semen de llamas

Si bien no era necesario realizar la prueba de Duncan porque ya se había detectado diferencia significativa en el análisis de variancia entre edades y técnicas: sin embargo se utilizo esta prueba para confirmar que las llamas de 3 años de edad producen, mayor volumen (1.09 ml) de semen que las llamas de 5 años (0.73 ml); además por la técnica de la (V.A.), se obtuvo mayor volumen de semen (1,57 ml) , y un pH también superior (7.4); en comparación a lo obtenido por Electroeyaculador el cual fue de 0,25 ml de semen y un pH de 7.1 ,

Para poder explicar la probable causa de la diferencia de volumen entre ambas técnicas, se debe recordar que los órganos encargados de la evacuación de liquido seminal y espermático son el testículo, cuerpo de la próstata y las glándulas bulbouretrales según Tibary (2006), estas dos ultimas son dependientes

de las hormonas FSH (foliculo estimulante), LH(luteinizante) y TT(Testosterona), las cuales son producidas desde el hipotálamo del macho cuya activación es por la excitación y/o estimulación por presencia de una hembra.

Según Turin, (2009). Señala que entre en 15 al 20 % de espermatozoides son liberados desde el testículo y entre el 80 al 85 % son liberados del cuerpo de la próstata y de las glándulas bulbo uretrales.

En el presente estudio el volumen obtenido por la vagina artificial fue mas elevado porque se lo realizo con presencia de una hembra, lo que pudo estimular el eyaculado del macho desde el hipotálamo, la obtención fue a nivel hormonal por excitación del macho. En cambio el volumen de eyaculado obtenido por el Electroeyaculador fue mas bajo, esto podría deberse a que no hubo una excitación previa por presencia de una hembra, el eyaculado obtenido solo pudo provenir del testículo y no de las glándulas bulbouretrales ni del cuerpo de la próstata las cuales son dependientes de ciertas hormonas (FSH, LH y TT). La colección simplemente pudo haber sido por las descargas eléctricas que solo obligo al testículo a que este libere su contenido.

Con los valores de volumen seminal obtenidos por la técnica de V A, hay cierta concordancia con los valores de Fernández Baca y Novoa (1968) y Giuliano *et al.* (2002), ya que ambos muestran valores por encima de 1 ml. El volumen promedio obtenido en el presente estudio fue de 1,5ml por VA, 0,25ml por Electroeyaculador, 1,09 ml de machos de tres años y 0,71ml de animales de cinco años $\pm 0,12$ ml.

Con respecto al pH, los valores de Giuliano *et al.*, (2002) y los nuestros, son muy similares esto podría deberse a que se procuro no estresar al macho en el momento de la colección seminal como también se tubo mucho cuidado en el manipuleo del mismo para evitar contaminación ya que se podría desnaturalizar las proteínas que conforman al eyaculado y además aunque las variaciones sean muy pequeñas alteran el equilibrio homeostático y pueden provocar secuelas.

Generalmente una ligera variación de pH indica una alteración metabólica o bien puedes ser el factor determinante en la proliferación de un hongo, virus o bacteria

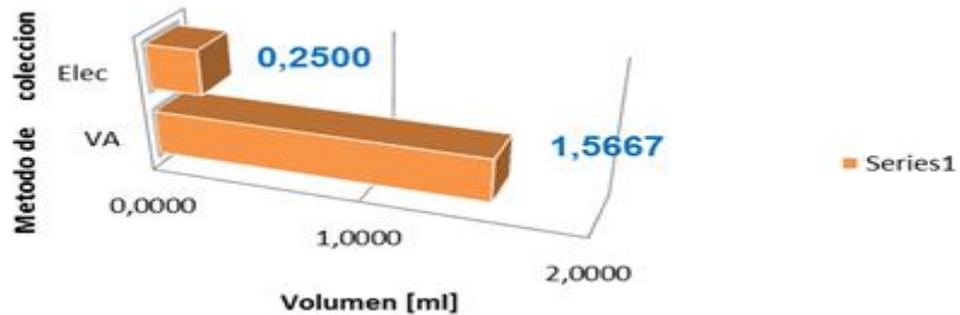


Figura 15. Comparación del Volumen de Semen en llamas

La Figura 15, refleja que el mayor volumen de semen de llamas se registro de la colección por medio de la Vagina Artificial con un volumen promedio de 1,6 ml el cual difiere y supera con 1,3 ml a las colecciones por Electroeyaculador, cuyo reporte promedio del volumen fue de 0,3 ml.

La diferencia puede deberse a que la colección de semen con ambas tecnicas se la realizo en la epoca humeda por los meses de Diciembre de 2011 a Febrero de 2012 meses en los cuales la propagacion de facionala es abundante en los lugares humedos y por tal motivo solo recibieron forraje de las laderas ademas de la racion de complemento, la temperatura tiende a bajar , según Enciso(2009), menciona que la alimentacion es fundamental para la obtencion de un buen eyaculado.

Por tal motivo otro efecto probable sobre la cantidad del volumen obtenido tanto con el electroeyaculador y vagina artificial estaria relacionado con la alimentacion a pesar de que se complemento a la alimentacion diaria con alimento concentrado esto probablemente no fue suficiente para amortiguar la escasas de forraje verde cuyas propiedades nutritivas son necesarias para obtener un eyaculado de mejores propiedades.

Según reportes de investigación indican que el volumen es muy variable, en alpacas de Perú el volumen del eyaculado con Vagina Artificial es de 0,4 a 6,6 ml, en cambio en llamas de Condoriri Bolivia es de 0,5 a 1,5 ml (Chiri R. 2002), esta descripción es corroborada por otros autores los cuales mencionan que en general el volumen varía de acuerdo al método empleado (Sumar,1981).

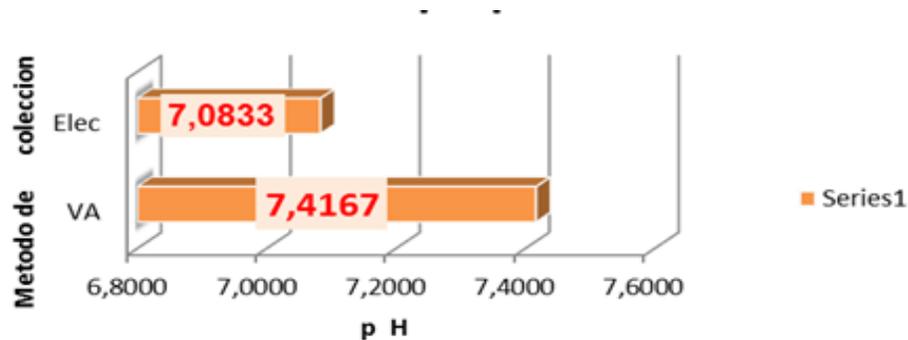


Figura 16. Nivel de pH en el eyaculado

La figura 16, muestra que el nivel de pH en el semen de llamas registrado por medio de la Vagina Artificial dio un valor promedio de 7,4 el cual difiere y supera con 0,3 a colecciones por Electroeyaculador, cuyo promedio fue de 7,1.



Figura 17. Medición del pH

Esta diferencia puede deberse a la técnica de colección y más aun al diluyente aplicado al eyaculado, que cierta manera tuvo efecto en el mismo, amortiguando los cambios de pH que podrían afectar de forma directa a la vitalidad espermática.

La investigación en esta área, establece la importancia de diluir el semen en un medio amortiguado, que resista los cambios de pH, de manera que se pueda mantener la vida máxima del espermatozoide (Bearden y Fuquay, 1992).

Al respecto, Sumar(1991).menciona que un pH próximo a 7 (de 6,9 a 7,5 para las diferentes especies) cae en limites de actividad optima de la mayoría de las enzimas del semen, por tal motivo el presente resultado se encuentra dentro del rango optimo.

Por su parte Fernandez Baca y Calderon, (1966) reportan valores cercanos a la neutralidad, con ligera tendencia a la alcalinidad, complementariamente Kubicek, (1974) obtuvo un promedio de 7,5 con valores extremos de 7,0 a 8,0. Beardeny Fuquay (1980),mencionan que si se mantiene un pH neutro (7,0) se espera una tasa metabólica elevada. Si el pH del semen se desvía hacia la alcalinidad o acidez, se reducirá también el índice metabólico

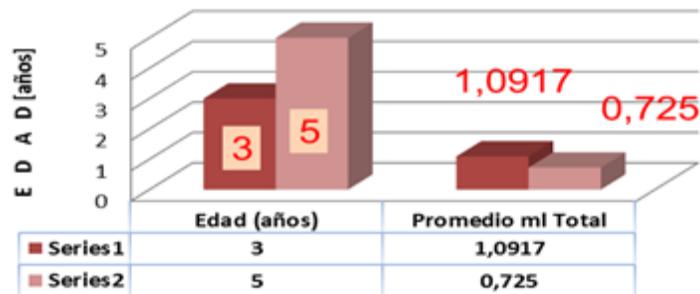


Figura 18. Volumen de eyaculado por edad en Llamas

La figura 18, refleja que el mayor volumen de semen de llamas se registró en los machos reproductores de tres años de edad con 1,1 ml el cual supera con 0,2 ml a las colecciones de los machos de cinco años, cuyo volumen promedio reportado fue 0,7 ml.

Según Chiri, (2002). El volumen es muy variable, ya que la cantidad de eyaculado dependerá no solo de la edad, sino del estado fisiológico, al igual que de aquellos factores exotérmicos y alimenticios, los cuales son relevantes para la obtención de un buen Volumen de eyaculado, reportando volúmenes superiores de aquellos machos jóvenes que inician la vida sexual a partir de los dos años de edad, el cual es un eyaculado rico espermáticamente con alta viabilidad reportado de épocas húmedas.

Del mismo modo, Bustos, (2007) menciona que, un mayor porcentaje de volumen de semen de llamas obtenido en época húmeda, 3,4 cc diferente y superior a 2 cc obtenido en época seca.

5.2.2. Evaluación microscópica

5.2.2.1. Motilidad y Vitalidad Espermática



Figura 19. Semen para observación al microscopio (Motilidad Progresiva)

El análisis de variancia para la motilidad y vitalidad espermática del semen de llamas, obtenido con Vagina Artificial y Electroeyaculador, proyectaron los resultados que figuran en el cuadro 6

<i>Factores principales</i>	<i>Motilidad (%)</i>	<i>Vitalidad (%)</i>
Edad	NS	*
Técnicas de obtención	NS	*
Edad x Técnicas de obtención	NS	NS
Estadísticos generales		
N	12	12
X	53,96	65,04
CV (%)	8,11	9,24
ml = mililitros; NS = no significativo (p>0.01); * = significativo (p<0.05)		

Cuadro 6. Influencia de factores principales en la motilidad y vitalidad espermática del semen de llamas

Según el cuadro 6, la edad del animal no tuvo una influencia significativa ($p < 0.05$) sobre la motilidad espermática, pero si sobre la vitalidad espermática del semen en llamas. En cambio las dos técnicas de obtención de semen probadas en el presente estudio, solo tuvo efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la vitalidad y no así en la motilidad espermática, pero la interacción ($p > 0.01$): edad del animal por técnicas de colección de semen de llamas no afecto de ninguna manera a la motilidad y vitalidad de los espermatozoides.

Respecto al coeficiente de variación, este presenta una dispersión moderada de ($CV = 8,11\%$), debajo del límite recomendado por (Ochoa, 2007), y la motilidad promedio fue del 54% superior al reportado por Mendoza, (2001) y Perez, (2004). Que fueron de (44.3 ± 5.3 y 46.08 ± 2.5 %) con Vagina Artificial y Electroeyaculador respectivamente, consecuentemente los resultados obtenidos para la motilidad espermática son confiables.

Con relación a la vitalidad de los espermatozoides del semen de llamas, la vitalidad promedio fue del 65% superior al reportado por Mendoza, (2001) y Perez, (2004). Los cuales fueron de (40.2 ± 3.1 y $55 \pm 2.2\%$) con Vagina Artificial y Electroeyaculador respectivamente, el $CV = 9,24$ %, siendo esta variabilidad menor al 30 % el cual es recomendado como un máximo para los trabajos de investigación pecuarios según Steel y Torry, (1986).

<i>Factores principales</i>		<i>Promedios</i>			
		<i>Motilidad (%)</i>		<i>Vitalidad (%)</i>	
		<i>Prom.</i>	<i>(p<0,05)</i>	<i>Prom.</i>	<i>(p<0,05)</i>
Edad	3 años	52,42	A	60,58	B
	5 años	55,50	A	69,50	A
Técnica de obtención	Vagina artificial	53,25	A	60,83	B
	Electroeyaculador	54,67	A	69,25	A

Cuadro 7. Prueba por Duncan de medias de motilidad y vitalidad espermática en semen de llamas

Con la prueba de Duncan, se confirmó que las llamas de 3 años de edad presentaban, menor (52,42%) motilidad espermática que las de 5 años (56%); además con el método del Electroeyaculador se obtuvo mayor motilidad espermática, con 54,67%, y una vitalidad superior al 69%; y apenas de 53% de motilidad con una vitalidad espermática de 61% con la vagina artificial.

Con respecto a la motilidad, los valores de Giuliano *et al.*, (2002) y los valores obtenidos en el estudio, son muy similares, donde refiere valores menores al 45%, siendo los encontrados por nosotros considerablemente más altos, con sólo una muestra con motilidad menor del 53 %.

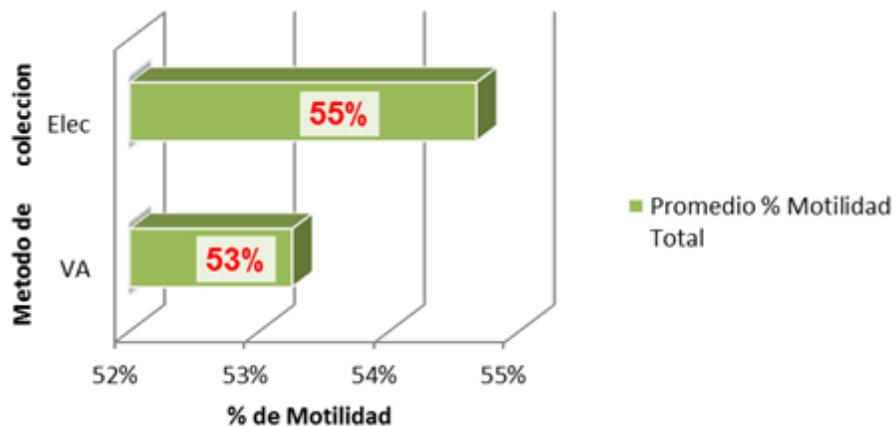


Figura 20. Porcentaje de Motilidad en el semen del eyaculado

El la figura 20 refleja que el mayor porcentaje de Motilidad de semen de llamas se registro de la colección por Electroeyaculador con un porcentaje de motilidad de 55% el cual difiere y supera con 2 % a las colecciones por Vagina Artificial cuyo reporte promedio fue de 53%.

Esta diferencia puede deberse a la siguiente razon; si bien la vagina artificial trata de simular una vagina natural y el electroeyaculador estimula las zonas nerviosas del aparato reproductor del macho, sin embargo ambas no presentan enzimas proteolíticas que ayude a degelificar el eyaculado, por lo cual el plasma seminal es altamente viscoso (parecido a la clara de huevo), lo que dificulta el movimiento y/o

motilidad masal de los espermatozoides presentando tan solo una motilidad progresiva después de la aplicación del dilutor y licuefaccion.

La colección de semen por medio del Electroeyaculador fue del 55%, siendo superior a Giuliano *et al.* (2002) quienes reportan motilidad progresiva menor a 20% y superior a Enciso (2009), quien indica motilidad progresiva de 28 %.

Con respecto ala vagina artificial se obtuvo un 53%, siendo superior a Mendoza (2005) quien reporta motilidad progresiva de 34,2 con maniquí.

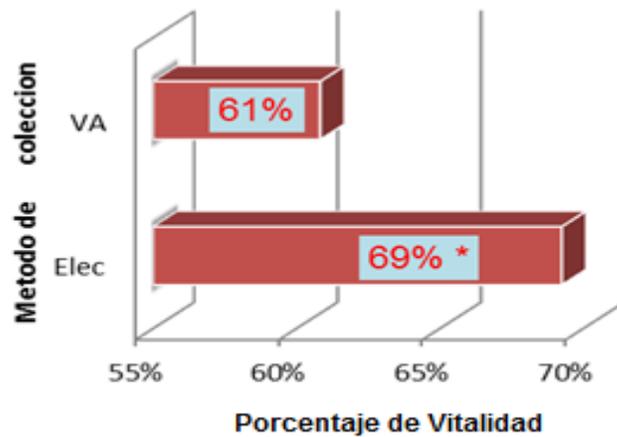


Figura 21. Porcentaje de Vitalidad en el semen del eyaculado

La figura 21, refleja que el mayor porcentaje de vitalidad espermatica de llamas se registro por Electroeyaculador con un porcentaje de celulas vitales de 69% el cual difiere y supera con un 8% a las colecciones por Vagina Artificial cuyo reporte de vitlidad promedio fue de 61%

Esta diferencia puede deberse a los diferentes factores adversos como la luz el cual pudo deprimir su vitalidad, temperatura cuya variacion pudo provocar la reduccion de su tasa metabolica provocando una perdida irreversible de la vitalidad espermática.

Los resultados obtenidos son confirmados por Arroyo, (1998) quien menciona que existen una serie de factores que afectan la vitalidad de los espermatozoides, por

lo que una vez colectado el semen se debe tener cuidado de algunos factores adversos que afectarían la calidad del eyaculado,

La vitalidad obtenida con el Electroeyaculador fue del 69% el cual es superior a resultados obtenidos por Pacheco, (2011), quien reporta un promedio de 24,78%, esto podría deberse a que se tomo muy en cuenta las recomendaciones realizadas por otros autores Enciso, (2009); Pacheco,(2011); Garabito,(2003), quienes sugirieron tomar en cuenta al diluyente empleado para proteger a los espermatozoides de factores externos como el cambio de temperatura.

La investigación en esta área establece la importancia de diluir el semen en un medio amortiguado que resista los cambios de pH, de manera que se pueda mantener la vida máxima fértil del espermatozoide.

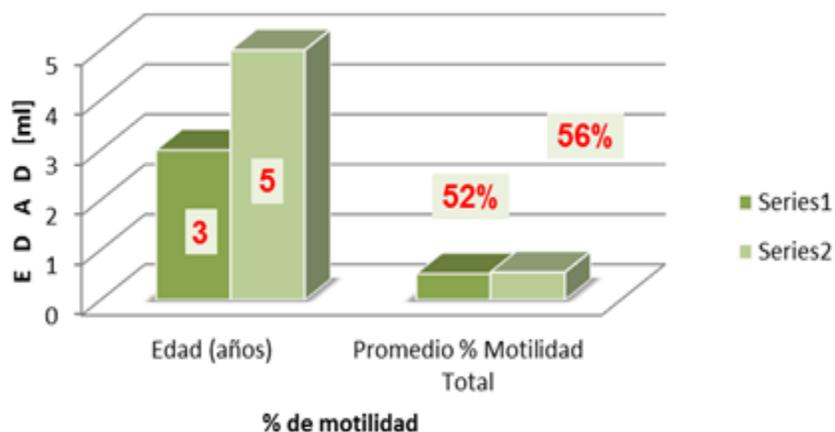


Figura 22. Porcentaje de Motilidad de eyaculado por edad

La figura 22, refleja que el mayor porcentaje de Motilidad Espermática en semen de llamas se registro en los machos de cinco años de edad con 56% el cual difiere y supera con 4% a las colecciones de tres años reportando una motilidad promedio de 52%.

Esta diferencia puede deberse a una variacion minima de temperatura la cual pudo provovar la perdida ascendente e irreversible de de su motilidad y la Luz la cual pudo deprimir la motilidad y fertilidad de los espermatozoides como un ligero

contacto con oxígeno, en los resultados obtenidos solo se presencia una motilidad progresiva esto debido a que sin importar la edad existio la presencia de liquido seminal viscoso que afectaba a su motilidad masal .

Este resultado es corroborado por Sumar y Leyva, (1981), quien menciona que No existe “motilidad masal” por la baja concentración relativa de espermatozoides y por una motilidad progresiva individual poco vigorosa . Este ultimo obedecería a que el liquido seminal es altamente viscoso (clara de huevo), por lo que el movimiento de los espermatozoides es lento, comparado al del ovino o bovino



Figura 23. Tinción de la muestra del eyaculado

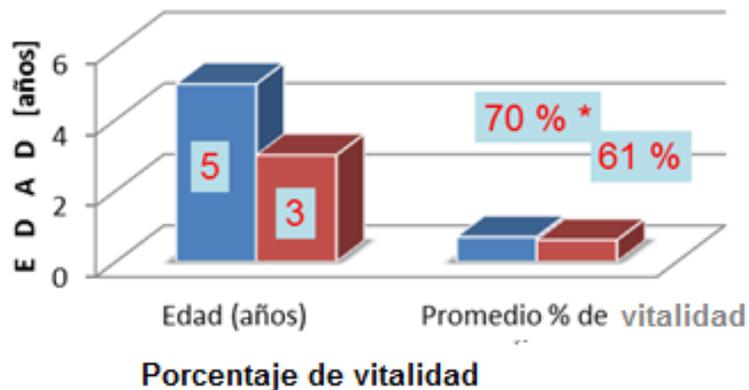


Figura 24. Porcentaje Vitalidad de eyaculado por edad

La figura 24, refleja que el mayor porcentaje de vitalidad espermatica de llamas se registro en los reproductores de cinco años de edad con 70% el cual difiere y

supera con un 9% a las colecciones de los machos de tres años, de los cuales se reporto una vitalidad promedio de 61 %.

Esta diferencia puede deberse a la resistencia a factores adversos de los espermatozoides, adquiridos a medida en que aumentan la edad los camelidos.

Según Bravo(2002), menciona que en llamas, la edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática y vitalidad, ya que las características mejoran ligeramente según aumenta la edad, pero dicha diferencia no es significativa.

5.2.2.2. Concentración Espermática y Anormalidades

El análisis de variancia para la Concentración Espermática y Anormalidades de los espermatozoides del semen de llamas, obtenidos con Vagina Artificial y Electroeyaculador, arrojaron los resultados que figuran en el cuadro 8

<i>Factores principales</i>	<i>CE (mil esp/cc)</i>	<i>Anormal (10%) (% CEA)</i>
Edad	NS	*
Técnicas de obtención	*	*
Edad x Técnicas de obtención	NS	NS
Estadísticos generales		
N	12	12
X	302875	7,583
CV (%)	9,11	6,59
ml = mililitros; NS = no significativo (p>0.01); * = significativo (p<0.05)		

Cuadro 8. Influencia de factores principales en la concentración espermática y anormalidades del semen de llamas

Según el cuadro 8, la edad del animal no tuvo un efecto significativo (p>0.01) sobre la Concentración Espermática, pero si en el porcentaje de células

espermáticas anormales del semen. En cambio las dos técnicas de obtención de semen, afectaron significativamente ($p < 0.05$) tanto en la concentración espermática como en el porcentaje de células espermáticas anormales del semen de llamas, pero no a la interacción ($p > 0.01$): edad del animal por técnicas de colección de semen de llamas, Respecto al CV, presenta una dispersión moderada del 9,11%, debajo del límite recomendado por Ochoa(2007), siendo confiables los resultados.

Con relación al porcentaje de células anormales presentes en el semen de llamas, el promedio encontrado fue de, 7,6 % inferior al reportado por Mendoza(2001); Perez(2004), Quienes encuentran (14.9 ± 1.1 y $11.3 \pm 1.2\%$) con Vagina Artificial y Electroeyaculador respectivamente, el CV de 6,59 %, fue menor esta variabilidad al 30 % el cual es recomendada como un máximo para los trabajos de investigación pecuarios según (Steel y Torry, 1986).

<i>Factores principales</i>		<i>Promedios</i>			
		<i>CE (mil esp/cc)</i>		<i>Anormalidad (%)</i>	
		<i>Prom.</i>	<i>(p<0,05)</i>	<i>Prom.</i>	<i>(p<0,05)</i>
Edad	3 años	311583	A	6,33	B
	5 años	294166	A	8,83	A
Técnica de obtención	V.A.	353500	A	7,25	B
	Elec.	252250	B	7,92	A

Cuadro 9. Prueba por Duncan de medias de concentración espermática y células espermáticas anormales en semen de llamas .

Como en los anteriores resultados obtenidos en el presente estudio no era necesario realizar la prueba de Duncan por haberse detectado diferencia significativa en el análisis de variancia, entre edades y técnicas: Con la prueba de Duncan, se confirmo que las llamas de 3 años de edad producen, mayor (311583

esp/cc) cantidad de semen que las llamas de 5 años (294166 esp/cc); además el método que permitió obtener mayor concentración espermática de semen fue el de Vagina Artificial (311583 esp/cc) con una presencia de células anormales inferior (7,25%) ; y con células espermáticas (252250 esp/cc) en el semen y una presencia de células anormales (7,92%) con el electroeyaculador.

En cuanto a la concentración, los valores de Giuliano *et al.*,(2002) son en general, muy similares a los hallados en la gran cantidad de estudios hechos en la alpaca (Bravo *et al.*, 1997^a, 1997b, 2002; Dávalos y Olazábal,2002; Giuliano *et al.*, 2008). Según Enciso,(2009) los CSA(Camélidos Sudamericanos) son especies que difieren de los demás mamíferos por la pésima producción espermática en relación a su volumen corporal, a comparación de los ovinos.

Con respecto a los valores de anormalidad de espermatozoides, el promedio obtenido, de 7,77 el cual está dentro del rango reportado por Giuliano *et al.*(2002); sin embargo, el porcentaje de las normalidades espermáticas observadas es ligeramente inferior. Las causas de baja calidad espermática y elevado índice de espermatozoides morfológicamente anormales son de difícil interpretación.

Generalmente las alteraciones en la calidad espermática están relacionadas a tres grandes factores: genéticos, nutricionales y ambientales. Por ejemplo, Vaughan (2002), en estudios realizados en Australia, menciona que es común el hallazgo de elevados índices de espermatozoides anormales en CSA(Camélidos Sudamericanos) domésticos, dato relacionado a la baja tasa de fertilidad que tienen éstas especies.

En nuestro país, la tasa de fertilidad no llega ni al 5 % en explotaciones alpaqueras Novoa, (1970); sin embargo, en un estudio realizado en Chile son referidas tasas de fertilidad en Llamas bajo control reproductivo, superiores al 7,9%, lo que podría indicar que el factor de la baja calidad seminal de los machos no sería tan determinante en la producción de crías Parraguez y Raggi (2008).

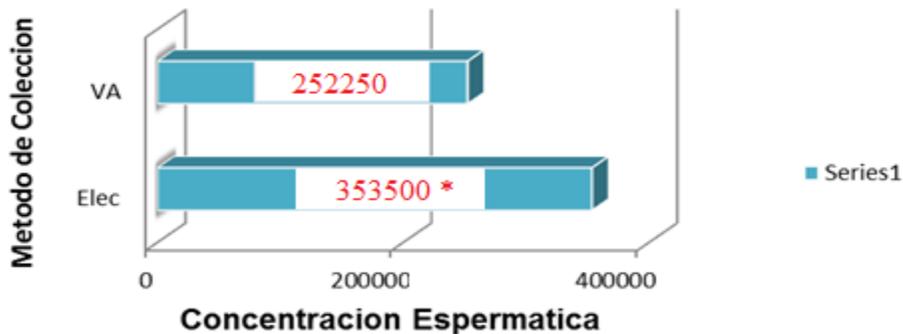


Figura 25. Concentración Espermática del eyaculado

La Figura 25. muestra que la mayor concentracion espermatica se registro con el Electroeyaculador con 353500 cel/esp/cc el cual difiere y supera con 101250 cel/esp/cc a las colecciones en Vagina artificial, reportando una Concentracion Espermatica promedio de 252250 cel/esp/cc.

Esta diferencia puede deberse a la epoca de coleccion la cual fue en una epoca Humeda por los meses de Diciembre de 2011 a Febrero de 2012 meses en los cuales la combinacion de algunos factores adversos como la frecuencia de coleccion, duracion de la colecta pudieron afectar a la concentracion espermática esperada de cada tecnica de coleccion.

Los resultados mencionados están corroborados por Bravo (1995); Garnica et al. (1995); gauly et al. (1996) quienes hacen referencia que la concentración de espermatozoides varía de 30.000 hasta 150 mil por ml en llamas. Tales variaciones se atribuyen a diferencias de edad, métodos de colecta espermatica y el número de la eyaculados Tibary et al. (1999b). La concentración se determina después de la licuefacción del semen, utilizando un hemocitómetro Bravo et al. (1997^a).

El tiempo de colecta con las diferentes técnicas de colección, no produce cambios considerables de volumen del eyaculado pero si en la concentración y el porcentaje de espermatozoides Bravo y Col., (2002).

La concentración por el Electroeyaculador tuvo un promedio de 353500 cel/esp/cc, esta concentración es superior a reportes previos, quienes reportan concentraciones de 140 000 a 166 000/mL Giuliano *et al.*, (2002); Enciso, (2009) y de 6 25000/ml Pacheco,(2011),esta mayor concentración podría deberse a que los machos utilizados se encontraban aislados y por lo tanto en abstinencia sexual.



Semen en la cámara Newbawer

Observación por campos

Figura 26. Determinación de la Concentración Espermática

Sumar (1991), mencionan la obtención del semen por medio de la electroeyaculación, y reportaron una concentración que fluctúa de 1000 a 225000 espermatozoides por mm³ y en muestras de semen obtenidas con VA, Leyva y Col (1984), citado por Sumar (1991), reportaron concentraciones de 292900 \pm 34321 de espermatozoides por mm³ y 32,8 + 4,3 (x10⁴/ml) con maniqui (Mendoza, 2005).

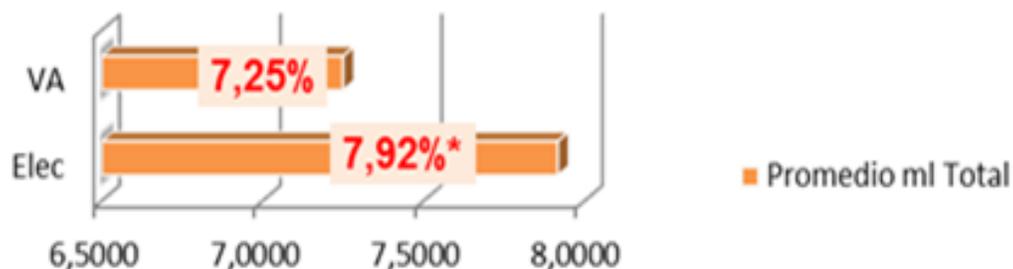


Figura 27. Porcentaje Anormalidades de eyaculado por métodos

La figura 27, refleja el mayor porcentaje de células espermáticas anormales registrado por medio del Electroeyaculador con un porcentaje de anomalía de 7,92 %; el cual difiere y supera con 0,67 % a las colecciones por VA con un reporte de promedio de 7,25 %

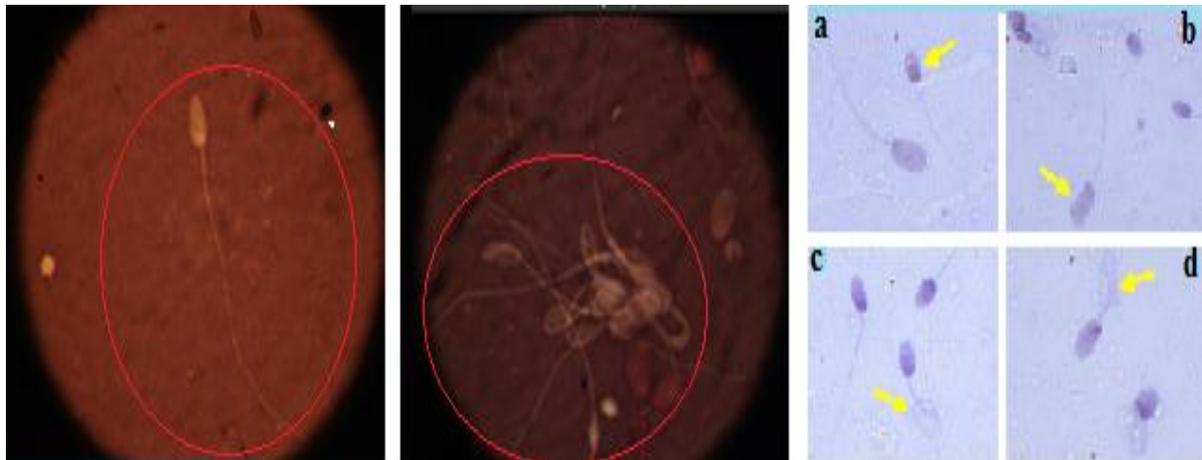
Esta diferencia se debe probablemente a la época de colección del semen en los meses de Diciembre de 2011 a Febrero de 2012 meses en los cuales la temperatura tiende a bajar y la alimentación con forraje es escasa, sin embargo el porcentaje de espermatozoides anormales se encuentran dentro del rango permisible, entre las anomalías más frecuentes se reporta la presencia de: cabeza gigante, doble cabeza, cabeza chata, gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal, colas torcidas, colas enrolladas y cabeza sin cola

Los resultados obtenidos son corroborados por Berden y Fuquay (1995) quienes indican, que en cada eyaculación habrá espermatozoides anormales. El límite permitido es de 8 a 10% los que no tienen efectos adversos sobre la fertilidad. Si los espermatozoides anormales son más de 25% del total eyaculado, se puede anticipar una reducción de la fertilidad.

Por otra parte, Palomito, (1962) obtuvo un promedio de 11,65% de formas anormales, siendo las más frecuentes: Cabezas solas, colas torcidas, colas enrolladas, colas quebradas, cabezas alargadas y micro cabezas. Un alto porcentaje de anomalías por alteraciones secundarias, podrían ser efecto de la forma de colección del semen como a la abstinencia sexual

Con el electroeyaculador se reporta un 7,92% de espermatozoides anormales, inferior al reporte de Giuliano et al. (2002) quienes obtuvieron entre 25 a 44% de anomalías; en cambio Pacheco(2011), obtuvo anomalías del 13,38%, también es inferior al reporte de Enciso (2009), quien reportó 37,23 % de anormales.

Para la VA se reporta un 7,25% de espermatozoides anormales el cual es inferior a los datos reportados por Mendoza,(2005) llegando a obtener 14,9% con un maniquí



Esp. Normal
b)Macrocefalico,

Esp. Anormal : a) Microcefalico,

c)Cola enrollado, d) Desprendimiento de

cola

Figura 28. Células espermáticas normales y anormales

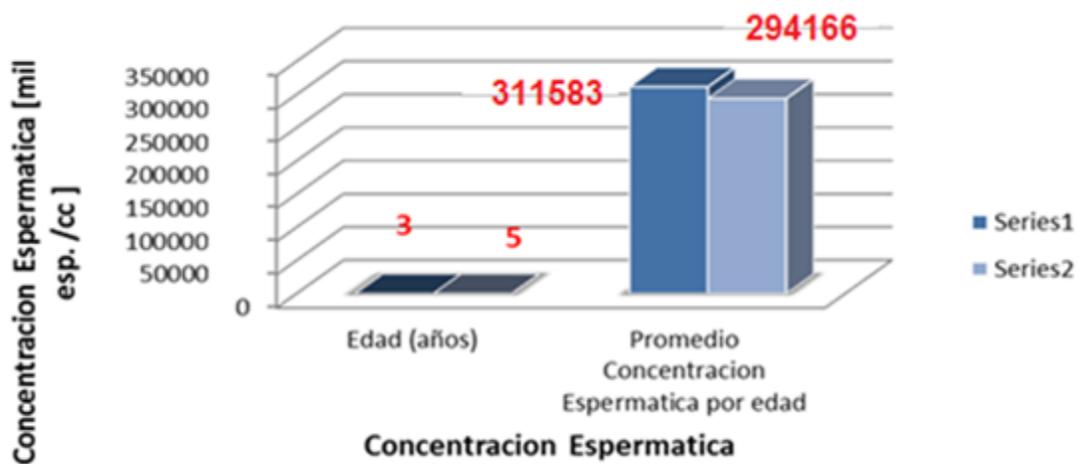


Figura 29. Concentración Espermática de eyaculado por edad

La figura 29, nos muestra que existe mayor concentración espermática en los reproductores de tres años de edad con 311583 cel/esp/cc que es diferente y superior con 174166 cel/esp/cc con respecto a los reproductores de cinco años de los cuales se obtuvo una concentración espermática de 294166 cel/esp/cc.

Esto podría deberse a que la edad es un factor determinante en la producción y concentración espermática, permanentemente asociado a la alimentación, la duración de colección, y la época de colección .

Resultado corroborado por Bravo,(2002) quien afirma , la edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática y viabilidad, ya que las características mejoran ligeramente cuando aumenta la edad, pero dicha diferencia no es significativa. Según Bravo y Col., (2002).La Duración de la copula No produce cambios considerables de volumen del eyaculado pero si en la concentración y el porcentaje de espermatozoides

Por ultimo se establece que la alimentación es importante en la producción espermática concentración y porcentaje de anormalidades, sobre todo de la cola, teniéndose buenas características seminales durante el verano y la anormalidades se incrementa durante el invierno Giuliano y Col., (2006).

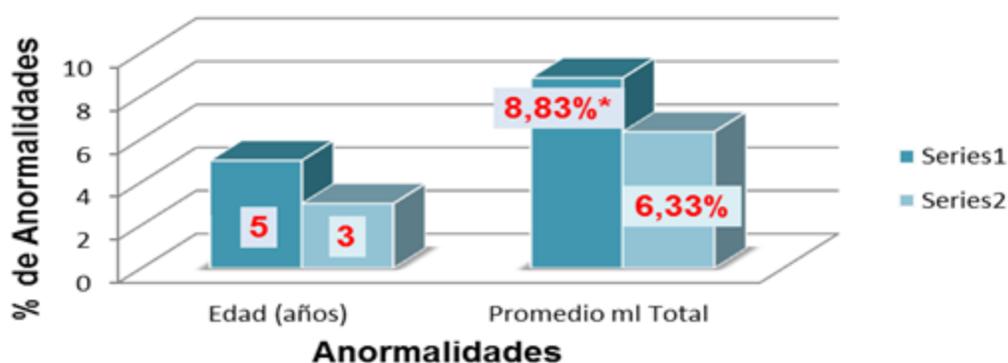


Figura 30. Porcentaje de Anormalidades en función a la edad

La figura 30, refleja que la mayor porcentajes de células espermáticas anormales en semen de llamas se registró en aquellos reproductores de cinco años de edad

con 8,83% el cual difiere y supera con un 2,5% a las colecciones de aquellos machos de tres años, reportándose porcentajes de células anormales de 6,33%.

La diferencia puede deberse a la procedencia de los espermatozoides de animales de diferentes edades; cuyas diferencias repercutían y/o se reflejaban en la calidad de los espermatozoides como también, la alimentación y época de colección de semen el cual se lo realizó en la época húmeda por los meses de Diciembre de 2011 a Febrero de 2012 meses en los cuales la temperatura tiende a bajar y la alimentación con forraje es escasa, sin embargo el porcentaje de anomalías provenientes de ambas edades están dentro del límite aceptable.

Los resultados obtenidos son corroborados por Giuliano y Col., (2006), quienes afirman que la época, así como la alimentación son importantes en la producción espermática y porcentaje de anomalías, sobre todo de la cola, teniéndose buenas características seminales durante el verano y las anomalías se incrementa durante el invierno (Giuliano y Col., 2006)

6. COSTOS PARCIALES

Los costos parciales solo se lo realizó desde la colección seminal hasta el análisis de laboratorio.



Figura 31. Costos parciales de la Vagina Artificial y Electroeyaculador.

Como se puede apreciar en la figura 31, los costos parciales reflejan que el mayor costo producido fue registrado de la colección de semen por medio del Electroeyaculador con un costo parcial de 36699 Bs el cual difiere y supera con 13593 Bs a las colecciones por Vagina Artificial con un reporte de 23106 Bs.

Ítems	Unidad	Costo Unitario	Cantidad	Costo Total
costos directos				
vagina artificial	pieza	21000	1	21000
funda recta de jebe	pieza	70	1	70

tuvo colector	pieza	35	10	350
gel lubricante	frasco 30ml	20	2	40
termómetro	pieza	120	1	120
hornilla eléctrica	pieza	50	1	50
suero fisiológico	bolsa de 1l	10	2	20
guantes de goma	Par	5	1	5
Jeringa	pieza	1	1	1
análisis en laboratorio	muestra	100	10	1000
diluyentes elaborado	MI	400	1	400
mano de obra	jornal	50	1	50
TOTAL				23106

Cuadro 10. Costos parciales vagina artificial

Ítems	Unidad	Costo Unitario	Cantidad	Costo Total
costos directos				
Electroeyaculador	pieza	35000	1	35000

gel lubricante (glicerina)	frasco de 30ml	20	2	40
tuvo colector	pieza	35	6	210
sedante (xilasina)	frasco de 20mg	70	2	140
termómetro	pieza	120	1	120
frazadilla de protección	pieza		1	0
suero fisiológico	bolsa de 1l	10	2	20
Sogas	M	3	6	18
Jeringa	pieza	1	1	1
análisis en laboratorio	muestra	100	6	600
mano de obra	jornal	50	3	150
diluyentes elaborado	MI	400	1	400
TOTAL				36699

Cuadro 11. Costos parciales Electroeyaculador

CARACTERISTICA	METODO		EDAD (años)	
	Vagina Artificial	Electroeyaculador	3	5
Viscosidad (insp)	Viscosa	semi viscosa		
Color (insp)	blanco lechozo	blanco lechozo		
Aspecto (insp)	espumoso	sin espuma		
Volumen (ml)	1,5667*	0,25	1,0917*	0,725
Ph (insp)	7,4167*	7,0833		
Motilidad (%)	53,250*	54,667*	52,417	55,500*
Vitalidad (%)	60,833	69,25*	60,583	69,500*

Con.Esp. (esp/cc)	252250	353500*	311583*	294166*
Anormalidad (10%)	7,25	7,9167*	6,3333	8,8333*
CONCLUSION	B	A	B	A

Cuadro 12. Resumen General de Resultados.

Como se puede apreciar el cuadro 12 se puede mencionar lo siguiente:

Con respecto al costo, la vagina artificial resulto ser mas accesible y mas económica que el Electroeyaculador, pero al referirnos de un estudio lo que se busca es la calidad de los resultados seminales, por lo cual el Electroeyaculador a pesar de su elevado costo mostro una mejor calidad en sus resultados obtenidos en relación a los presentados por la vagina artificial.

Por ultimo vale mencionar que los animales de cinco años de edad mostraron mejores características seminales que los que tenían tres años de edad, esto debido a que la edad es un factor importante para la producción seminal, este resultado es respaldado por Bravo(2002) y Quispe (1987) quienes mencionan que en alpacas, la edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática, ya que las características mejoran ligeramente de acuerdo aumenta la edad.

7. Conclusiones

- El método de la vagina artificial tiene como principal desventaja de requerir el uso de animales dóciles y entrenados, junto con un súcubo adecuado. Sin embargo es una técnica que permite obtener, eyaculados muy limpios, con baja [contaminación](#) cuando se realiza correctamente y con un equipamiento base de muy bajo costo, permitiendo observar toda la cadena de reflejos de excitación y líbido sexual.

- El costo, de la vagina artificial resulto ser mas accesible y mas económica que el Electroeyaculador, sin embargo el Electroeyaculador a pesar de su elevado costo mostro una mejor calidad en sus resultados
- Con respecto al Electroeyaculador se puede afirmar que este es un método completamente antinatural, muy traumático para el animal (por la posibilidad de producirle lesiones internas) siempre y cuando sea mal utilizado, solo se debe emplearse como último recurso, cuando no se ha podido de ninguna manera extraer semen por medio de la vagina artificial u otros métodos.
- En general, las diferencias entre el semen obtenido por electroeyaculación y por vagina artificial resultan en una mayor concentración espermática, mayor número de espermatozoides por eyaculado, y una mayor contaminación, todo esto por el método de la electroeyaculación las cuales difieren de las colecciones realizadas por Vagina Artificial
- La edad tiene un efecto muy sutil en la producción espermática, ya que las características mejoran ligeramente de acuerdo aumenta la edad, pero dicha diferencia no es significativa .
- Con respecto a los costos parciales la vagina artificial resulto ser mas económica y accesible en comparación al Electroeyaculador, pero en función a los resultados obtenidos de las evaluaciones realizadas con los eyaculados, el Electroeyaculador mostro ser mas efectivo proporcionando colecciones deseables para su conservación.

8. Recomendaciones

En base al estudio realizado, podemos extraer las siguientes recomendaciones, para la ejecución de posteriores investigaciones.

- ✓ Se recomienda continuar la investigación utilizando dilutores convencionales y comerciales ya que con este medio se puede obtener mejores resultados de protección contra el shock térmico.
- ✓ Existen muchos factores que afectan la calidad de los espermatozoides después de la colección de semen por lo que deben tomarse cuidados para asegurar que el semen no sea expuesto a condiciones desfavorables durante o después de la colección.
- ✓ Particular atención debe ser puesta en la limpieza de todo el material de colección, laboratorio y el manejo subsiguiente del semen a 35- 37 °C.
- ✓ Realizar prácticas de colección, en ambientes limpios de estiércol y polvo, evitando la influencia de estos elementos en el análisis de las características físicas y químicas del semen
- ✓ Se recomienda realizar un estudio de colección de semen en época húmeda para corroborar los resultados de otros autores quienes mencionan una mejoría de sus características en cuanto a volumen, motilidad, concentración espermática y viabilidad reportado por otros autores de otros camélidos sudamericanos.
- ✓ Considerar un periodo de entrenamiento más prolongado y habituar a los animales, a contactos más frecuentes con el medio artificial, aislándolos de toda actividad reproductiva colateral durante el periodo de colección, para evitar la influencia negativa del agotamiento sexual en las características del eyaculado.
- ✓ Llevar a cabo el análisis de muestras colectadas de forma inmediata, en un ambiente atemperado aproximadamente a 25°C, para retardar la gelificación del eyaculado, que dificulta la terminación de cualquier característica física del semen.

- ✓ Realizar investigación aplicando enzimas proteolíticas degelificantes para optimizar las evaluaciones a nivel microscópicas del eyaculado.
- ✓ Efectuar trabajos de investigación, dirigidos a los análisis bioquímicos del semen en llamas, ya que el conocimiento de estas características determinará una comprensión más adecuada sobre la manifestación de ciertos parámetros físicos del eyaculado.

9. REVISION BIBLIOGRAFICA

Agraz, 1989. "Caprinotecnia" 2da ed, Ed. Limusa. Mexico.;pp. 65-70.

Aman E. 1970. An overview of reproduction in camelids. In: Allen WR, Higgins AJ, Mayhew IG, Snow D, *Proceedings of the First International Camel Conference*. R&W Publications, Newmarket, ;pp. 109-113.

Arroyo F. 1998."Producción de Caprinos" 1era. ed. Ed.Acribia, Madrid España;pp.4-6.

Bearden, J. y Fuquay, 1987. "Reproducción Animal aplicada". 2da. Edición, Editorial El Manual Moderno . México DF; pp.32-34

Bearden,J. Fuquay, J.1995. Reproducción Animal Aplicada.4ta ed, Ed. El Manual Moderno. México, D.F.220 Pag.

Bearden y Fuquay, 1980 . Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa; 2da ed, Ed. El Manual Moderno. México, D.F; pp. 621 - 628.

Bearden, J. H. y J.W. Fuquay. 1982. Reproducción Animal aplicada, 1ra ed, Ed. El Manual Moderno. México, D.F; 46-69.

Benson G.S. 1994. *Male sexual function: erection, emission, and ejaculation*. Raven Press, New York. EE.UU;Pp.189-306.

Bhasin S., G.S. Benson. 2006. *Male sexual function*. En: Neill J.D. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3rd ed. Academic Press, St. Louis. EEUU; pp.1173-1194.

Bravo PW. 1995. Physiology of reproduction and fertility evaluation in the male alpaca. *Proceedings of Post Graduate Foundation in Veterinary Science* In:

Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia ; pp.61-66.

Bravo P.W., D. Flores, C. Ordóñez. 1997a. Effect of repeated collection on semen characteristics of Alpacas. *Biology of Reproduction*. In: Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia pp:520-524.

Bravo P.W., U. Flores, J. Garnica, C. Ordóñez. 1997b. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology*. In: Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia pp:619-626.

Bravo P.W., R. Moscoso, V. Alarcón, C. Ordóñez. 2002. Ejaculatory process In: Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia;pp: 100-132

Bravo PW, Skidmore JA, Zhao XX. 2000a. Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. *Animal Reproduction Science* In: Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia ; pp:173-193

Bravo PW, Johnson LW.1994b. Reproductive physiology of the male camelid. In: Johnson LW (ed) *Update on Llama Medicine. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* WB Saunders, Philadelphia; pp:259-264.

Bustinza J. 2001. Curso de manejo de alpaca. Vol. 2. Univ. Andina "Néstor Cáceres" Juliaca-Perú. pp-64.

Bustos A. 2007, "Reproducción Animal e Inseminación Artificial" Tomo II Ed. Hemisferio Sur. S.A. pp. 85 - 90

Calderon W, Sumar J, Franco E. 1968. Avances en la inseminación artificial de las alpacas (*Lama pacos*). Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru ;pp:19-35

Cardozo A. 1977. Proyección de la ganadería de ovinos y camélidos. En el Departamento de Oruro. La Paz – Bolivia. Ed. Academia Nacional de Ciencias de Bolivia.pp-127.

Chiri R. 2002. Producción de Camélidos Sudamericanos Copyright Duplicación Digital Oruro - Bolivia.

Condorena N, Sumar J, Franco E, Alarcon V.1988. Largo de gestación en llamas (*Lama glama*). In: *XI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*, Lima, Peru ; Abstract E.11.1.

Dávalos R., J. Olazábal. 2002. Evaluación de dos formas de colección de semen en alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. pp:98-99.

Delgado P., Flores, F., Fernandez, R., Gonzales, V.,Maceda, E., Copa, S. Medina, J. 2003. Técnicas de colección de semen en llamas. III Congreso mundial de camélidos. Potosí Bolivia.

Derivaux D.F., 1982 . Electrical stimulation of ejaculation in the bull. *The Australian Veterinary Journal*. pp:176-181.

Dowling, 1961. Reproduction in the male llama (*Lama glama*), a South American camelid. I Spermatogenesis and organisation of the intertubular space of the mature testis. *Acta Anatomica* ; pp. 59-66.

Duarte, C. 1986. “Inseminación Artificial en Cabras” Seminario de producción Animal Lima Universidad Nacional Agraria La Molina Facultad de Zootecnia.pp: 45-46

Enciso Hoyos M., 2009 “Reproducción en la vicuña macho *Vicugna vicugna*: evaluación del método de contención química, colección de semen, análisis del eyaculado y biometría testicular” Tesis Ing. Zoot. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Peru.

Evans G.y Maxwell,WMC.1990. Inseminación artificial de ovejas y cabras Ed. Acribia, Zaragoza-España: pp. 87-139

Falcón, A. 1972. “Estudio preliminar sobre las características del semen del macho cabrío” Tesis Ing. Zoot. Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima. pp:45-50

Fernández Baca S., W. Calderón. 1966. Métodos de colección de semen de la alpaca. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM*. Pp:13-20:45-56

Fernández Baca S., C. Novoa. 1968. Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña (*Vicugna vicugna*). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM*.pp:9-17.

Fernandez-Baca S, Sumar J, Novoa C, Leyva V.1972. Relacion entre la ubacacion del cuerpo luteo y la localizacion del embrion en la alpaca. *Rev Inv Pec (IVITA)*. Universidad Nacional de San Marcos ; pp:131-135.

Fowler M.E. 1978. *Restraint and handling of wild and domestic animals*. Iowa State University Press, Ames. Estados Unidos. 332p.

Fowler M.E. 1998. *Anesthesia*. En: Fowler M.E. (ed.). *Medicine and surgery of South American Camelids*. 2nd ed. Iowa State University Press, Iowa. EEUU.pp:89-107

Fowler M.E. 2007. *Artiodactyla – Camelidae*. En: Cubas Z.S., J.C.R. Silva, J.L. Catão-Dias (eds.). *Tratado de Animais Selvagens. Medicina Veterinária*. Ed. Roca, São Paulo. Brasil. pp.630-640.

Fowler M.E. 1989. *Anesthesia*. En: Fowler M.E. (ed.). *Medicine and surgery of South American Camelids*. Iowa State University Press, Iowa. EEUU;pp:51-63.

Frank F, Bollati A. 2000. *Socioecology of the vicuña*. University Microfilms International, Ann Arbor. EEUU; 169p.

Frank F, Bollati A,1995. Evaluation of a combination of xylazine, ketamine and halothane for anesthesia in llamas. *American Journal of Veterinary Research*.pp:345-355.

Fraser S.S. 1988. *Biology of spermatogenesis and spermatozoa in mammals*.Springer-Verlag, Berlín. Alemania. 430p.

Garabito A.2003.Evaluación física de semen en llama (lama glama) khara y tampulli. U.T.O. Oruro - Bolivia ;pp .90-93.

Garnica J, Flores E, Bravo PW.1995. Citric acid and fructose concentrations in seminal plasma of alpaca. *Small Ruminant Research* ; pp:95-98

Garcia Pereira F.L., S.A. Greene, M.-M. McEwen, R. Keegan. 2006. Analgesia and anesthesia in camelids. *Small Ruminant Research*. pp:227-233.

Garnica J, Achata R, Bravo PW. 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Animal Reproduction Science* ; pp:85-90.

Gauly M, Leidinger H. 1996. Semen quality, characteristic volume distribution and hypo-osmotic sensitivity of spermatozoa of *Lama glama* and *Lama guanicoe*. *Proc 2nd European Symposium on South American camelids* (Gerken M, Renieri C, eds). Publ Universita Degli Studi Di Camerino.;pp. 235-244.

Giuliano, S., Director, A., Gambarotta, M., Trasorras, V. Y Miragaya, M. 2008. Características seminales de la especie lama glama:efectos del método de extracción, del macho utilizado y de la estación del año. Memorias del II

Simposium internacional de investigaciones sobre camélidos sudamericanos. Arequipa Perú;pp:45-46

Giuliano SM, Spirito SE, Miragaya MH, Capdevielle EF, Agüero A, Boquet MD, Ferrari MR. 2006. Electroejaculation and seminal parameters in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology* ;pp:67:83.

Giuliano SM, Agüero A. 2002. Efecto de eyaculaciones sucesivas sobre las características del semen de alpacas. Tesis FMVZ-UNA-Puno. Perú

Gonzales, M.1989. Evaluación del efecto del dilutor en la viabilidad de los espermatozoides de semen de alpacas. Programa Nacional de Investigación Camelidos, UNMSM-Lima-Perú; pp:34-36.

Gonzalez, R. 2000. Contratación seminal Edit. Redondo BBAA-Argentina;pp:56-60

Gunn I.1936. Alpaca field trials. Rural Industries Research and Development Corporation Project;pp:108-110 .

Haenlein H. Caccese L. 1984. Handbook of wildlife chemical immobilization. 3rd ed. Ed. Terry J. Kreeger. Estados Unidos. 432p

Hafez, E. 1996. Reproducción e Inseminación Artificial en Rumiantes, 6ª ed. en castellano. Edit. McGraw-Hill;pp:300-330.

Háñez, E. 2000. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. En: Háñez, E.S.E. and Háñez. B (eds), *Reproduction in farm animals*, 7th ed;pp:78-79

Hafez ESE.2002. Artificial insemination. In: Hafez ESE (editor). *Reproduction in Farm Animals*. 6th ed. Lea & Febiger, Baltimore. ;pp:424-439.

Hanses D.1999. Seasonal effects on seminal and endocrine traits in the captive snow leopard (*Panthera uncia*). *Journal of Reproduction and Fertility*. pp:222-236.

Hancock y Howell 1959. The technique of electroejaculation and its use in dairy bulls. *Journal of Dairy Science*. pp. 1035-1041.

Healey P., R.M.F.S. Sadleir. 1966. The construction of rectal electrodes for electroejaculation. *Journal of Reproduction and Fertility*. Pp.:299-301.

Hidalgo y Tamargo 2005. Genética y reproducción animal; análisis de semen pp.9-20

Holdrigez, H. 1982, Artificial insemination of a bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *International Zoo Yearbook* ;pp:3-94

Holy,1987.Reproduccion e inseminacion artificial (Traducido por Ocampo L.Garcia, C.Sumano,H)Quinta edicion.Edit. Interamericana. Htm. E-mail:Imrubion@hotmail.com

Howard J.G. 1993. *Semen collection and analysis in carnivores*. En: Fowler M.E. (ed.). *Zoo & Wild Animal Medicine. Current Therapy 3*. W.B. Saunders, Philadelphia. Estados Unidos. pp.390-399

Huanca, W. Y Gauly, M. 2005. Conservación de semen refrigerado de llamas. *Rev. Inv. Vet. Perú*. Pp. 460-464.

Kubiceck, J. 1974. sanementnahme beim alpaka durch eine harnrihrenfistel. *Z Tierzuechtung Zuechtungsbiologe* pp. 90.

Laguna,V. 1986. Manual de crianza de alpaca y llama. MACA INFOL. La Paz-Bolivia. Pp-35-37

Leyva O., Slater D, Adam CL, Bourke DA. 1984b. Collection, evaluation and cryopreservation of llama semen. *Journal of Reproduction and Fertility*. abstract pp.49-:56.

Leyva J. 1981. Ejaculatory pattern of llamas during copulation. *Theriogenology* .pp:285-291.)

López J. 2001. Evaluación de la morfología espermática del semen de camélidos sudamericanos tratado con tripsina. III Congreso mundial de camélidos. Potosí Bolivia.

Mama K.R. 2007. *Camelids*. En: West G., D. Heard, N. Caulkett (eds.). Zoo & Wild Animal Immobilization and Anesthesia. Blackwell Publishing, Ames. Estados Unidos. p.585-594. Marden W.G.R. 1954. New advances in the electroejaculation of the bull. *Journal of Dairy Science*. pp:556-561.

Marden J. 1954. Preputial prolapse in an alpaca. *Canadian Veterinary Journal* pp: 29-45

Martin I.C.A. 1998. The principles and practice of electroejaculation of mammals. *Symposium of the Zoological Society of London*. pp:127-152

Martin J.C. 1996. Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. *Revista Chilena de Historia Natural*. pp:121-140.

Martin T. 1998. Male reproductive function and semen. Springer-Verlag, New York. Estados Unidos. 495p.

Martinez, Z. 1980. Estudio Preliminar De Las Épocas Reproductivas En Llamas. Informe Anual 1979-1980. Estacion Experimental Patacamaya. La Paz, Bolivia. IBTA. Pp.30-37

McDonnell S.M. 1992. Ejaculation: physiology and dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. pp:57-70.

Mendoza LM. 2005. Refrigeration of epididymal sperm from lama with three different extenders. II Congreso Mundial sobre Camelidos. Cusco Perú.).

Mendoza O. 2001. Determinación de la sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca (*Lama pacos*) colectados del conducto deferente con el uso de tres dilutores. Tesis FMVZ-UNA-Puno. Perú.

Michaud T. 2006, Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. In: Llama Theriogenology –Youngquist. Academy Press. pp:67-80.

Novaes A.P. 1990. *Contenção mecânica e farmacológica de animais*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA), São Carlos. Brasil. 68p.

Novoa C. 1996. Reproduction in camelidae. Review. *Journal of Reproduction and Fertility*. pp:3-20.

Novoa C. 1994. Genetic improvement of South American Camelids. *Revista Brasileira de Genética*. pp:123-135.

Ochoa, (2007), Diseños experimentales. Fac. Agronomía. UMSA, La Paz- Bolivia

Osorio J., San Martín .1986; Aspects of reproduction in the alpaca. *J. Reprod. Fertility* pp 395-399.

Pacheco C. Efecto de la tripsina y colagenasa sobre el acrosoma espermatozoide y su relacion con la fertilidad del semen de alpaca. MVZ Thesis, Prog Med Vet Zootec Univ Catol Santa Maria, Arequipa, Peru 2000;52pp.

Pacheco T. 2011. Llamas, llama production and llama nutrition in the Ecuador highlands. *Journal of Arid Environments* ;pp:67-71.,

Palomito ,H.1962. Espermatograma y dimensiones de los espermatozoides de la alpaca Tesis de bachiller. Fac. Med.Vet. UNMSM. Lima, Peru. 77 .p-30

Paricahua, E. 2000. Evaluación del eyaculado sin la secreción de las glándulas anexas en Alpacas. Tesis de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional del Altiplano, Puno.

Parraguez y Raggi (2008). Estudio del semen de la alpaca. Tesis de bachiller Fac. Med.Vet. UNMSM. Lima, Peru ;pp:46-49

Perez J. 2001. Determinación de la sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca (*Lama pacos*) colectados del conducto deferente con el uso de tres dilutores. Tesis FMVZ-UNA-Puno. Perú.

Pérez, G., Apaza, E. y Deza, W. 2004. Congelación de los espermatozoides procedentes de los conductos deferentes de camélidos en el buffer tris con diferentesproporciones de yema de huevo y glicerol. XVII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Tacna, Perú.

Platz C.C. Jr., T. Follis, N. Demorest, S. Seager. 1976. *Semen collection,freezing and insemination in the domestic cat*. En: Proceedings of 8th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Krakow. Polonia. pp.1053-1055.

Platz C.C. Jr., W.J. Seager. 1978. Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Journal of American Veterinary Medical Association*.pp:1353-1355.

Platz C.C. Jr., D.E. Wildt, J.G. Howard, M. Bush. 1983. Electroejaculation and semen analysis and freezing in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*).*Journal of Reproduction and Fertility*. pp:9-12.

Quispe G. 1987. Inseminacion artificial en alpacas (*Lama pacos*) con semen diluido a diferentes concentraciones: I Zootec Thesis, Fac Agron Zootec, Univ Nac San Antonio Abad, Cusco, Peru . 103pp.

Raymundo F, Huanca W, Huertas S, Gaully M. 2000. Influence of different extenders on the motility in alpaca (*Lama pacos*) semen. 2nd Int Camelid Conference Agroconomics of Camelid Farming Almaty,Kazakhstan . 79 (abstract)

Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ,ISSN 1695-7504,
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Rillo M. 1998. Refrigeration of epididymal sperm from lama with three different extenders. II Congreso Mundial sobre Camelidos. Cusco Perú.

Rock K.C. 1976. *Safe use of electronic equipment*. En: Klemm W.R. (ed.). *Applied electronics for veterinary medicine and animal physiology*. Charles C. Thomas, Springfield. Estados Unidos. pp.442-450.

Rodriguez-Martinez H, Larsson B.1979, Laboratory assessment of viability and fertilizing capacity of frozenthawed bull spermatozoa and their relationship to conception rate. In: *Predicting and monitoring the fertility of artificial insemination sires* Project UQ050 Dairy Research and Development Corporation ; pp 24-30.

Rodríguez, C, T.1986.Algunos aspectos relacionados con el mejoramiento genético de camélidos. En convención nacional en producción de Camelidos Sudamericanos. Oruro, Bolivia. CORDEOR. p 146-154.

Rodríguez T., e Iñiguez L.1979. Estimación de la vida productiva y la influencia de algunos factores ambientales específicos en llamas. In. II Reunión nacional de investigadores en ganadería. Chipiriri, Bolivia.

Rodríguez,T., Martinez, Z. 1979.Epocas de cruzamiento en llamas informe anual 1978-1979. estacion experimental Patacamaya. La Paz, Bolivia. IBTA. pp,31-46.

San Martin, F. 1961. Fisiología de la reproducción de la alpaca. An. Symp. Sobre problemas ganaderos. Lima Perú Solis (2000).

Solis ,F. 2000. Uso de la yema de huevo y la glicerina en la sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca. Tesis FMVZ-UNA Puno.Perú.

Solis, R. 1997. Producción de camélidos sudamericanos. Imprenta Ríos. Huancayo Perú.

Sorensen F. 1982. Anesthesia in the Llama. *Veterinary Surgery*. Pp.400-404.

Steel L. Torry N. 1986. Electrical ejaculation in the bull. *The Veterinary Record*. pp:326-327.

Sumar, J. y Leyva, V. 1981. Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca Mem.IV Convención Internacional sobre camélidos Sudamericanos Corp. Nac. For. e Ints. De la Patagonia. Punta Arenas, Chile.

Sumar J. 1989. Studies on reproductive pathology in alpacas. Masters Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala and Universidad Nacional Mayor de San Marcos . pp:90-103.

Sumar, J. 1991. Fisiología de la reproducción del macho y manejo reproductivo en avances y perspectivas del conocimiento de los Camelidos Sudamericanos. Santiago –Chile. FAO pp. 11-148.

Sumar, J. 1983. Pubertad en llamas machos, Men. XI Congreso Panamericano Ciencias vet. Lima-Perú pp. 62-70.

Sumar, J. 1992. Los Camelidos domésticos en el Perú. Edit. Los Pinos, IERL. Bol. Lima, N°79. pp.86-96.

Tibary A, Memon MA. 1999b. Reproduction in the male South American Camelidae. *Journal of Camel Practice and Research* .pp:235-248.

Tibary A., J. Vaughan. 2006. Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research*. pp:283-298.

Torres H. 1989. *South American Camelids. An action plan for their conservation*. IUCN/SSC South American Camelids Specialist Group. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN), Gland. Suiza. 48p.

Turin C. 2009. Reproducción de Camélidos .Facultad de Zootecnia-UNALM.Lima-Peru; pp: 109-125

Vaughan J. 2003. *Improving the efficiency of reproduction and breeding in alpacas*. Rural Industries Research and Development Corporation, Barton. Australia. 20p

Vivanco y cardenas 1937 Ductus epididymis compartments and morphology of epididymal spermatozoa in llamas. *Anatomy, Histology and Embryology* ;pp: 23-27

Von Baer A, Hellemann C. 1998. Semen characteristics in the llama (*Lama glama*). *Archivos de Medicina Veterinaria* . pp:171-176.

Watson P.F. 1978. A review of techniques of semen collection in mammals. *Symposium of the Zoological Society of London*. pp:97-126.

Wildt D.E., D. Meltzer, P.K. Chakraborty, M. Bush. 1984. Adrenal-testicularpituitary relationships in the cheetah subjected anesthesia/electroejaculation. *Biology of Reproduction*. pp:665-672.

10. ANEXOS.

ANEXO 1. ANALISIS SAS VOLUMEN:

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2
Number of observations		12

Dependent Variable: volumen

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	5.68750000	1.89583333	36.84	<.0001
Error	8	0.41166667	0.05145833		
Corrected Total	11	6.09916667			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	volumen Mean
0.932504	24.97368	0.226844	0.908333

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	0.40333333	0.40333333	7.84	0.0232
metrec	1	5.20083333	5.20083333	101.07	<.0001
edad*metrec	1	0.08333333	0.08333333	1.62	0.2389

Duncan's Multiple Range Test for volumen

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.051458
Number of Means	2
Critical Range	.3020

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	1.0917	6	2
B	0.7250	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for volumen

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.051458
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.302

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
A	1.0917	6	2
B	0.7250	6	1

Duncan's Multiple Range Test for volumen

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.051458
Number of Means	2
Critical Range	.3020

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
A	1.5667	6	1
B	0.2500	6	2

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for volumen

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.051458
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.302

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	1.5667	6	1
B	0.2500	6	2

ANEXO 2. ANALISIS SAS PH:

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2
Number of observations		12

Dependent Variable: pH

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.41666667	0.13888889	3.33	0.0770
Error	8	0.33333333	0.04166667		
Corrected Total	11	0.75000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.555556	2.815505	0.204124	7.250000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
metrec	1	0.33333333	0.33333333	8.00	0.0222
edad*metrec	1	0.08333333	0.08333333	2.00	0.1950

Duncan's Multiple Range Test for pH

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.041667
Number of Means	2
Critical Range	.2718

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	7.2500	6	1
A	7.2500	6	2

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pH

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.041667
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.2718

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
A	7.2500	6	1
A	7.2500	6	2

Duncan's Multiple Range Test for pH

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.041667
Number of Means	2
Critical Range	.2718

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
A	7.4167	6	1
B	7.0833	6	2

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pH

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.041667
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.2718

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	7.4167	6	1
B	7.0833	6	2

ANEXO 3. ANALISIS SAS MOTILIDAD:

Class Level Information

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2

Number of observations 12

Dependent Variable: motilidad

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00730625	0.00243542	1.27	0.3477
Error	8	0.01531667	0.00191458		
Corrected Total	11	0.02262292			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	motilidad Mean
0.322958	8.109211	0.043756	0.539583

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	0.00285208	0.00285208	1.49	0.2570
metrec	1	0.00060208	0.00060208	0.31	0.5903
edad*metrec	1	0.00385208	0.00385208	2.01	0.1938

Duncan's Multiple Range Test for motilidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.001915
Number of Means	2
Critical Range	.05825

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	0.55500	6	2
A	0.52417	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for motilidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.001915
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.0583

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
A	0.55500	6	2
A	0.52417	6	1

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.001915
Number of Means	2
Critical Range	.05825

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
A	0.54667	6	2
A	0.53250	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for motilidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.001915
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.0583

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	0.54667	6	2
A	0.53250	6	1

ANEXO 4 . ANALISIS SAS VITALIDAD:

Class Level Information

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2
Number of observations		12

Dependent Variable: viabilidad

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.04970625	0.01656875	4.58	0.0378
Error	8	0.02891667	0.00361458		
Corrected Total	11	0.07862292			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	viabilidad Mean
0.632211	9.243522	0.060121	0.650417

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	0.02385208	0.02385208	6.60	0.0332
metrec	1	0.02125208	0.02125208	5.88	0.0415
edad*metrec	1	0.00460208	0.00460208	1.27	0.2919

Duncan's Multiple Range Test for viabilidad

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.003615
Number of Means	2
Critical Range	.08004

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	0.69500	6	2
B	0.60583	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for vitalidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.003615
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.08

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
A	0.69500	6	2
B	0.60583	6	1

Duncan's Multiple Range Test for vitalidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.003615
Number of Means	2
Critical Range	.08004

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
A	0.69250	6	2
B	0.60833	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for viabilidad

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.003615
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.08

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	0.69250	6	2
B	0.60833	6	1

ANEXO 5. ANALISIS SAS CONCENTRACION ESPERMATICA:

Class Level Information

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2

Number of observations 12

Dependent Variable: ce

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	3.1665229E16	1.0555076E16	13.88	0.0015
Error	8	6.0838333E15	7.6047917E1		
Corrected Total	11	3.7749063E16			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ce Mean
0.838835	9.105006	27576787	302875000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	9.1002083E14	9.1002083E14	1.20	0.3058
metrec	1	3.0754688E16	3.0754688E16	40.44	0.0002
edad*metrec	1	520833333333	520833333333	0.00	0.9798

Duncan's Multiple Range Test for ce

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	7.605E14
Number of Means	2
Critical Range	36714634

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	311583333	6	1
A	294166667	6	2

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ce

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	7.605E14
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	3.67E7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
----------------	------	---	------

A	311583333	6	1
---	-----------	---	---

A	294166667	6	2
---	-----------	---	---

Duncan's Multiple Range Test for ce

Alpha	0.05
-------	------

Error Degrees of Freedom	8
--------------------------	---

Error Mean Square	7.605E14
-------------------	----------

Number of Means	2
-----------------	---

Critical Range	36714634
----------------	----------

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
-----------------	------	---	--------

A	353500000	6	2
---	-----------	---	---

B	252250000	6	1
---	-----------	---	---

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ce

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	7.605E14
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	3.67E7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	353500000	6	2
B	252250000	6	1

ANEXO 6. ANALISIS SAS ANORMALIDADES:

Class Level Information

Class	Levels	Values
edad	2	1 2
metrec	2	1 2
Number of observations		12

Dependent Variable: anormalidades

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	20.41666667	6.80555556	27.22	0.0002
Error	8	2.00000000	0.25000000		
Corrected Total	11	22.41666667			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	anormalidades Mean
0.910781	6.593407	0.500000	7.583333

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
edad	1	18.75000000	18.75000000	75.00	<.0001
metrec	1	1.33333333	1.33333333	5.33	0.0497
edad*metrec	1	0.33333333	0.33333333	1.33	0.28

Duncan's Multiple Range Test for anormalidades

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.25
Number of Means	2
Critical Range	.6657

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	edad
A	8.8333	6	2
B	6.3333	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for anormalidades

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.25
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.6657

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	edad
A	8.8333	6	2
B	6.3333	6	1

Duncan's Multiple Range Test for anormalidades

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.25
Number of Means	2
Critical Range	.6657

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	metrec
A	7.9167	6	2
B	7.2500	6	1

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for anormalidades

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	8
Error Mean Square	0.25
Critical Value of Studentized Range	3.26115
Minimum Significant Difference	0.6657

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	metrec
A	7.9167	6	2
B	7.2500	6	1

ANEXO 7. APLICACION DE XILACINA

Cuantos mg/kg PV se debe administrar a un camélido.

CONDICION:

$\frac{100 \text{ Kg pv}}{2 \text{ ml xila}}$; $\frac{20 \text{ mg xila}}{1 \text{ ml xila}}$

RESOLUCION

$$136,4 \text{ kg} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ kg}} \times \frac{20 \text{ mg xila}}{1 \text{ ml xila}} = 54,56 \text{ mg xila}$$

$$136,4 \text{ kg} \times \frac{2 \text{ ml xila}}{100 \text{ kg}} = 2,7 \text{ ml xila}$$

Por tanto:

Por cada 2,7 ml de xilacina aplicado a una llama de 136,4 kg de pv, se le estará suministrando 54,56 mg de xilacina

En tonces:

$$\begin{array}{r} 136,4 \text{ kg} \text{ ----- } 54,56 \text{ mg xila} \\ \underline{1 \text{ kg} \text{ ----- } X \text{ mg xila}} \end{array}$$

$$X = 0,4 \text{ mg de xilacina/kg de peso vivo}$$

Por cada kg de peso vivo se aplica 0,4 mg de xilacina o se aplica 0,4 mg de xilacina por cada kg de peso vivo.

ANEXO 8 . ELABORACION DE RACION

Preparando una ración para llamas, cuyo requerimiento de PC (proteína cruda) es de 14%, considerando los insumos encontrados en la estación los cuales se presentan a continuación.

INSUMO	% PC	Kg	Aportes	Nueva Mezcla (kg)	Aporte Final(% PC)
Torta de Soya	42	20	8,4	6,03	2,4
Afrecho	14,8	20	2,96	33,97	5,0
Avena	11	60	6,6	60	6,6
TOTAL		100	17,96	100	14,0

Modificado para 9,3 kg de alimento Concentrado (C. C.) / mes la mezcla será

:

INSUMO	ANTES (para 100 kg)	MODIFICADO (para 9,3 kg)
Torta de Soya	6,03	0,56
Afrecho	33,97	3,16
Avena	60	5,58
TOTAL	100	9,3

Torta de Soya....	Afrecho	Avena...
100 kg ----- 42 % PC	100 kg ----- 14,8 % PC	100 kg ----- 11 % PC
<u>20 kg ----- X % PC</u>	<u>20 kg ----- X % PC</u>	<u>20 kg ----- X % PC</u>
X = 8,4 % PC	X = 2,96 % PC	X = 6,6 % PC

Diferencia : 17,96 - 14 = 3,96 % PC

Luego :

1 kg T.S. -----	0,42 % PC	1 kg A. Sust. -----	0,27 % PC
1 kg Afre. -----	<u>0,148 % PC</u>	<u>X kg -----</u>	<u>3,8 % PC</u>
	0,272 % PC		X = 13,97 kg

Luego...

Torta Soya -----	20 - 13,97 = 6,03 kg
Afrecho -----	20 - 13,97 = 33,97 kg
<u>Avena -----</u>	<u>= 60 kg</u>
Total -----	= 100 kg

Nuevo Aporte

TS----- 100 kg -----	42 % PC	Afrecho ----- 100 kg -----	14,8 % PC
<u>6,03 kg -----</u>	<u>X % PC</u>	<u>33,97 kg -----</u>	<u>X % PC</u>
X = 2,43 % PC		X = 5,0 % PC	

Finalmente..... 6,6 + 2,4 + 5,0 = 14 % PC

Si 100 % 80% Pradera
20 % Concentrado

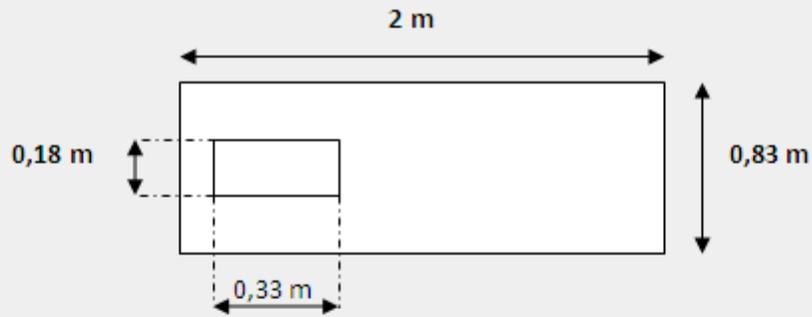
1 llama ----- 1,5 kg Alimento / día

1,5 kg -----	100 % PN	1,5 kg -----	100 % CC
<u>X kg -----</u>	<u>80 % PN</u>	<u>X kg -----</u>	<u>20 % CC</u>
X = 1,2 Kg		X = 0,3 Kg = 300 g/ dia de CC	

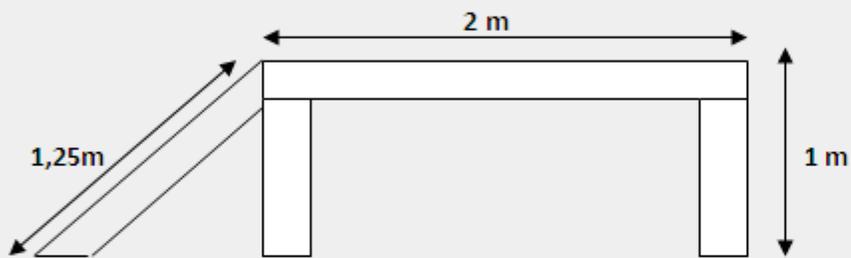
1 dia -----	0,3 Kg C.C.	Si:	100 kg Ali----	33,97Kg Afr
31 dias -----	<u>X g C.C.</u>		100 kg Ali----	6,03 Kg TS
			<u>9,3 kg Ali---</u>	<u>X kg Afr</u>
			<u>9,3 kg Ali---</u>	<u>X kg TS</u>
X = 9,3 Kg CC		X = 0,56 kg TS		X = 3,16 kg Afrecho

Por ultimo:

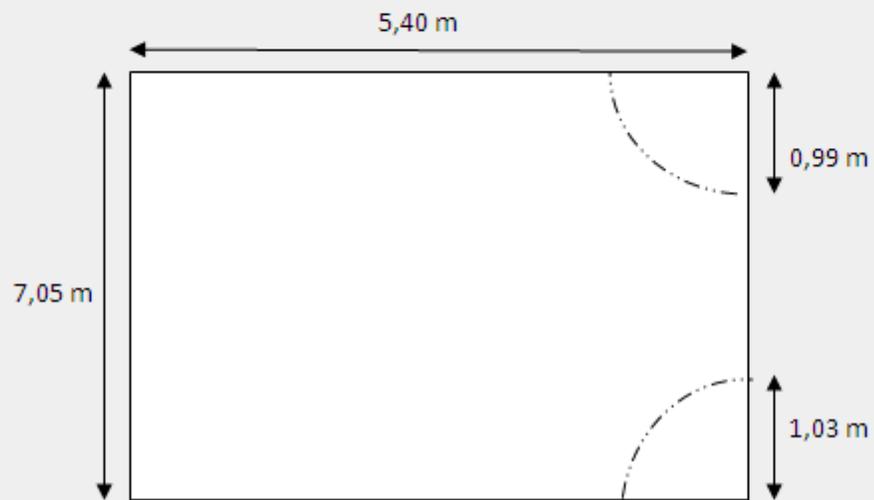
ANEXO 9. PLANOS (MESA RECOLECTORA, CORRAL DE EMPADRE, BOX Y LABORATORIO)



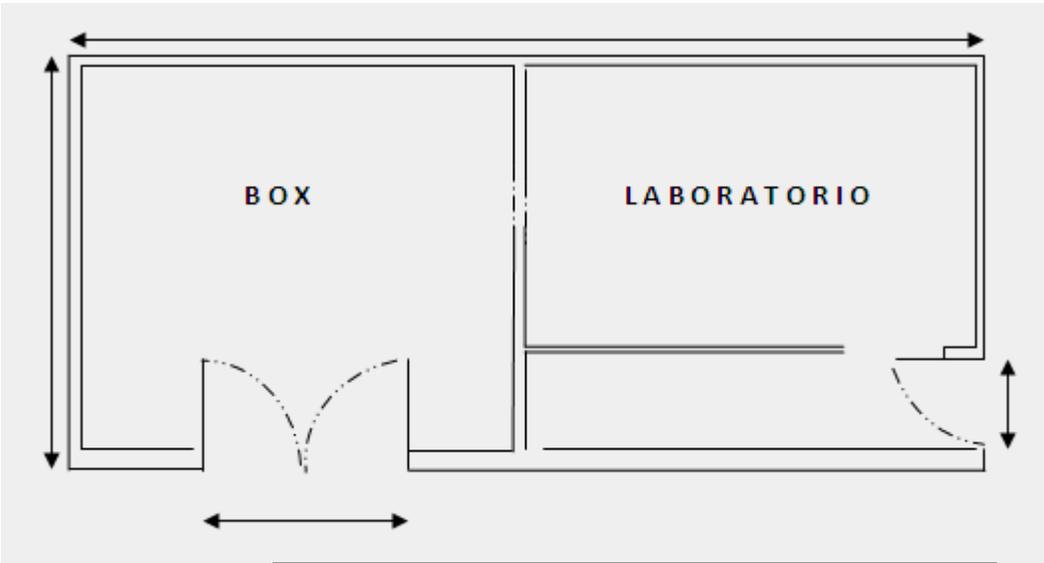
VISTA DE PLANTA (MESA RECOLECTORA)



VISTA DE LATERAL (MESA RECOLECTORA)



VISTA DE PLANTA (CORRAL DE EMPADRE)



VISTA DE PLANTA (BOX Y LABORATORIO)

ANEXO 10. DISEÑO Y CONSTRUCCION DE ELECTROEYACULADOR

Revista Electrónica de Veterinaria REDVET

ISSN 1695-7504

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Vol. VI, N° 8, Agosto 2005 –

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html>



Diseño y construcción de electroeyaculador para ovinos y caprinos

Alberto Yamasaki Maza. Pastor Pedraza Villagómez. Mc. Marisela Peralta Lailson. Gilberto Yong Angel; Jorge E. Roths Schuh Villanueva.; D.I Leonardo Yamasaki Maza.

Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia Campus II. México



CUERPO DEL TRANSDUCTOR

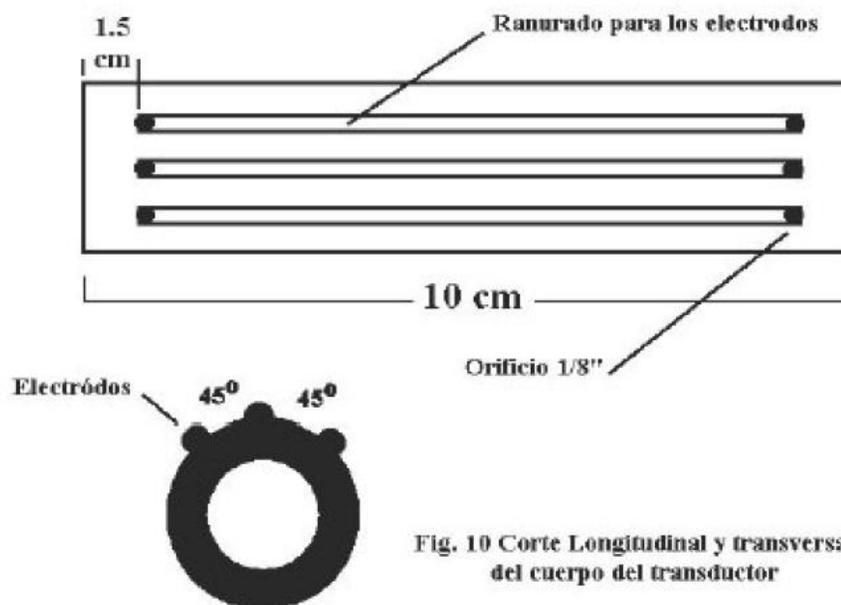


Fig. 10 Corte Longitudinal y transversal del cuerpo del transductor

DIAGRAMA UNIDAD GENERADORA DE IMPULSOS ELECTRICOS PARA ELECTROEYACULACION EN OVENOS Y CAPRINOS

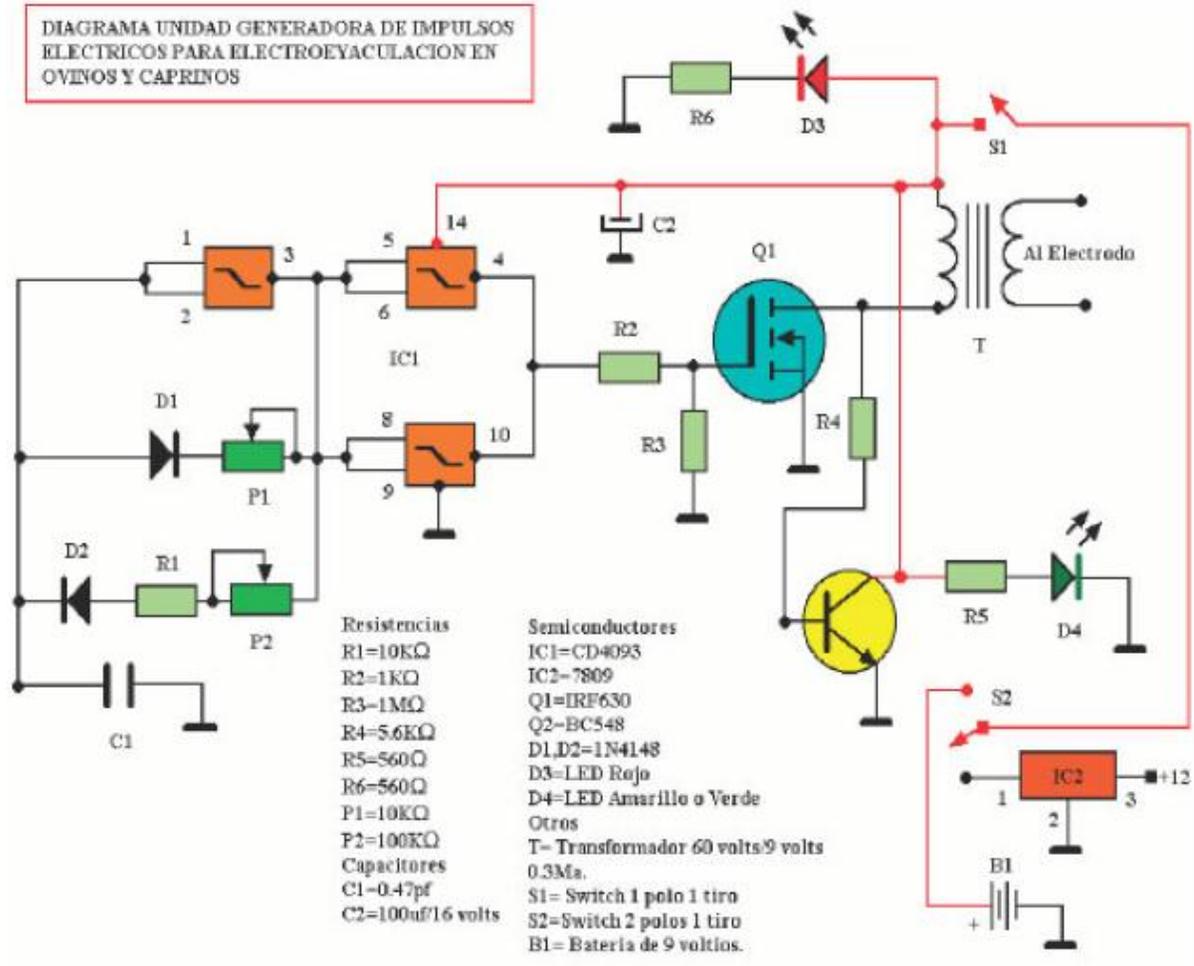


Diagrama esquemático de la unidad generadora de pulsos eléctricos



ANEXO 11. PLANILLA DE LABORATORIO



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

FACULTAD DE AGRONOMIA

INGENIERIA AGRONOMICA



Responsable: Egr. Eliana Miroslaba Valle Zapata

Fecha:.....**Método de colección:**.....

PLANILLA REGISTRO DE CARACTERISTICAS DEL SEMEN DE LLAMAS

Especificaciones del método de colección

EVALUACION	IDENTIFICACION DE PLANILLA N°				OBSERVACIONES
	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	PROMEDIO	
ASPECTOS MACROSCOPICOS					
Volumen (cc)					
Aspecto					
Densidad					
Color					
PH					
ASPECTOS MICROSCOPICOS					
Motilidad					
Vitalidad					
Concentración					
Anormalidades					

ANEXO 12. PLANILLA DE CAMPO (CONTROL VITAL)



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

FACULTAD DE AGRONOMIA

INGENIERIA AGRONOMICA



Responsable: Egr. Eliana Miroslaba Valle Zapata

Fecha:.....**Método de colección:**.....

PLANILLA

REGISTRO DE ESTADO FISIOLÓGICO DE LAS LLAMAS

PARTICULARIDADES:

.....

Nº	ARETE	EDAD (años)	PESO (Kg)	FRECUENCIA		T °	OBSER.
				CARDIACA	RESPIRATORIA		
1							
2							
3							
4							

ANEXO 13. PLANILLA DE CAMPO CONTROL DE ESTIMULOS)



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

FACULTAD DE AGRONOMIA

INGENIERIA AGRONOMICA



Responsable: Egr. Eliana Miroslaba Valle Zapata

Fecha:.....**Método de colección:**.....

PLANILLA

REGISTRO DE COLECCIÓN DE SEMEN DE LAS LLAMAS



PARTICULARIDADES:

.....

SERIE	ESTIMULOS		VOLTAJE	VOLUMEN	ESTIMULOS		VOLTAJE	VOLUMEN
PRIMERA		1				1		
		2				2		
		3				3		
		4				4		

ANEXO 14.

MATERIALES UTILIZADOS

1 CAMPO



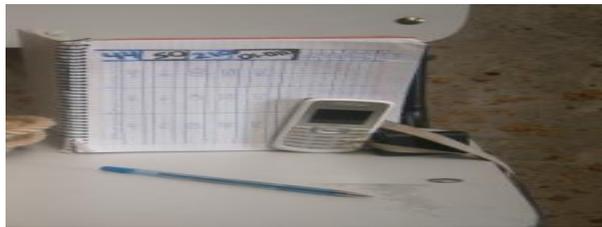
2 LABORATORIO



3 QUIMICO



4 GABINETE



5 CENOBIAL



6 INSTALACIONES



ANEXO (a). REPRESENTACIÓN DIAGRAMA DE LA ESPERMATOGÉNESIS.

