



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL DIAMETRO FOLICULAR
PRE-OVULATORIO SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN ALPACAS
(Vicugna pacos) INSEMINADAS CON SEMEN FRESCO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

YOISY RAQUEL CCANA QUECAÑO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2022



DEDICATORIA

Primeramente, agradecida a Dios nuestro señor por haberme permitido llegar a dar este primer paso, por brindarme vitalidad y sabiduría y así poder lograr mis metas y objetivos. Por ser mi fortaleza en medio de mis debilidades.

Con mucho amor y gratitud a mis amados padres, que son mi pilar fundamental y mi mayor inspiración, por inculcarme valores en la vida, por brindarme sus palabras de aliento en los momentos más difíciles, por su paciencia y constancia para hacer de mí una persona de bien y sobre todo por haberme brindado su infinito amor.

A mi papa: Cirilo quien me enseñó que el mejor conocimiento que se puede tener es el aprender por sí mismo, por su constante apoyo y motivación en el camino de mi vida universitaria para poder lograr mis objetivos y metas.

A mi mama: Martha por su infinito amor y apoyo incondicional quien fue mi guía y mi soporte durante todo este tiempo de mi vida universitaria, siempre te estaré infinitamente agradecida mamita por enseñarme a ser fuerte ante cualquier adversidad, sé que seguirás junto a mí en cada paso y logro alcanzado.

A la memoria de mi hermanita Sheyla Karol, a quien le estoy muy agradecida quien fue mi inspiración desde el inicio y fin de esta trayectoria, gracias por los mejores años a tu lado, porque sé que desde arriba siempre cuidas de mí como el ángel que eres.

A mi hermana Daysi Diana, por su ejemplo a seguir, por ser una mujer fuerte ante cualquier obstáculo, por todos los consejos brindados y por el aliento a seguir adelante, apoyándome moralmente en todo momento.

Mi eterno agradecimiento a ti Jhon Alexander Velarde, por ser la única persona que me acompañó en todo este trayecto, por tu apoyo incondicional, por ser mi soporte en los buenos y en los malos momentos, mi gratitud a ti por estar aquí a mi lado.

A mi fiel mascota Lucy, quien aún me acompaña a pesar de tantos años vividos, quien me llena de amor cada vez que llego a casa.

Yoisy Raquel Ccana Quecaño



AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional del Altiplano, y a mi querida Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; por darme la oportunidad de estudiar en sus aulas y obtener los saberes en mi vida profesional.

A los centros Experimentales la Raya e IVITA Marangani-Cusco en agradecimiento a todo el personal que labora en esas instituciones por el apoyo brindado durante toda la ejecución del proyecto de tesis.

En agradecimiento a mi Director de Tesis Dr. Julio Málaga Apaza por el apoyo y motivación brindada durante la ejecución de tesis.

Mi agradecimiento a mi Asesor de Tesis Dr. Wilber García Vera, por compartir de sus grandes saberes y experiencias, por el gran apoyo brindado, generosidad, disponibilidad y paciencia, Su siempre atenta y efectiva colaboración hizo que este trabajo se culminara satisfactoriamente.

En agradecimiento a mis miembros de Jurado al Dr. Joel Guido Flores Checalla, al Dr, Gerardo Godofredo Mamani Choque, al Dr. Edwin Ormachea Valdez por la grandes enseñanzas y lecciones en el término de la ejecución del proyecto.

Agradecer a todos mis docentes los cuales me inculcaron grandes saberes durante todo el trayecto de mi vida universitaria.



ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|--|-----------|
| DEDICATORIA | |
| AGRADECIMIENTO | |
| ÍNDICE DE FIGURAS | |
| ÍNDICE DE TABLAS | |
| ÍNDICE DE ACRÓNIMOS | |
| RESUMEN | 9 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| CAPÍTULO I | |
| INTRODUCCIÓN | |
| 1.1. Objetivos de la investigación..... | 14 |
| 1.1.1 Objetivo general..... | 14 |
| 1.1.2 Objetivos específicos | 14 |
| CAPÍTULO II | |
| REVISIÓN DE LITERATURA | |
| 2.1. Anatomía reproductiva de la hembra..... | 15 |
| 2.2. Fisiología reproductiva de la Alpaca hembra | 17 |
| 2.2.1. Comportamiento sexual | 17 |
| 2.2.2. Mecanismo Neuroendocrino en el control reproductivo..... | 18 |
| 2.3. Fisiología del desarrollo folicular | 20 |
| 2.3.1. Folículo ovárico | 20 |
| 2.3.2. Dinámica folicular..... | 20 |
| 2.4. Fases del desarrollo de la dinámica folicular..... | 22 |
| 2.4.1. Reinicio de la actividad ovárica | 23 |
| 2.5. Ovulación..... | 24 |
| 2.5.1. Inducción a la ovulación | 25 |
| 2.5.2. Cuerpo luteo | 26 |
| 2.6. Tasa de preñez | 27 |
| 2.7. Ultrasonografía | 28 |
| 2.8. Inseminación artificial | 29 |
| 2.9. Fisiología del macho..... | 31 |
| 2.9.1. Características del semen..... | 31 |
| 2.9.1.1. características macroscópicas del semen de Alpaca..... | 33 |
| 2.9.1.2. Características microscópicas del semen de Alpaca | 35 |



| | |
|---------------------------------|----|
| 2.9.2. Colección de semen..... | 40 |
| 2.9.3. Dilutores de semen | 42 |

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|--|----|
| 3.1. Medio experimental | 46 |
| 3.1.1. Ubicación | 46 |
| 3.1.2. Instalaciones | 46 |
| 3.2. Material experimental | 47 |
| 3.2.1. Animales | 47 |
| 3.2.2. Materiales y equipos | 47 |
| 3.2.2.2. Para colección de semen..... | 47 |
| 3.2.3.3. Para evaluación de semen..... | 47 |
| 3.2.3.4. Para dilución de semen..... | 48 |
| 3.2.3.5. Reactivos | 48 |
| 3.2.3.6. Para ecografía | 48 |
| 3.2.3.7. Para inducción de la ovulación..... | 48 |
| 3.3. Metodología..... | 49 |

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| | |
|---|-----------|
| 4.1. Evaluación macroscópica del semen fresco | 56 |
| 4.1.1 Volumen | 56 |
| 4.1.2 Color del semen | 57 |
| 4.2. Evaluación microscópica del semen fresco..... | 58 |
| 4.3. Evaluación de la tasa de preñez | 60 |
| V. CONCLUSIONES | 63 |
| VI. RECOMENDACIONES | 64 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 65 |
| ANEXOS..... | 84 |

Área: Reproducción animal.

Tema: Relación diámetro folicular y tasa de preñez en alpacas.

FECHA DE SUSTENTACION: 11 de febrero de 2022



ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Sistema de evaluación de condición corporal para llamas y alpacas (Cebra et al., 2014)..... | 50 |
| Figura 2. Evaluación del diámetro folicular pre-ovulatorio. | 88 |
| Figura 3. Tamaño folicular a la ecografía..... | 88 |
| Figura 4. Inducción a la ovulación. | 89 |
| Figura 5. Colección de semen post-copula. | 89 |
| Figura 6. Evaluación del volumen de semen. | 90 |
| Figura 7. Evaluación microscópica del semen fresco..... | 90 |
| Figura 8. Localización del cérvix. | 91 |
| Figura 9. Inseminación Artificial Intrauterina. | 91 |
| Figura 10. Visualización de la vesícula embrionaria a los 30 días post inseminación.. | 92 |



ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Volumen de semen de alpaca colectado por post cópula..... | 33 |
| Tabla 2. pH del semen fresco de alpaca..... | 34 |
| Tabla 3. Evaluación de la calidad seminal por varios métodos de colección de semen fresco de alpaca. | 39 |
| Tabla 4. Ventajas y desventajas de métodos de colección de semen de alpaca..... | 42 |
| Tabla 5. Número de Alpacas hembras para el estudio..... | 47 |
| Tabla 6. Calificación subjetiva de la motilidad espermática de la alpaca. | 52 |
| Tabla 7. Diámetro folicular a la inseminación folicular. | 54 |
| Tabla 8. Volumen de semen fresco de alpacas colectadas por método post cópula..... | 56 |
| Tabla 9. Color del semen (%) de alpacas colectadas por el método post cópula. | 57 |
| Tabla 10. Promedio de las variables microscópicas de los espermatozoides en semen fresco de alpacas, colectados por el método post cópula..... | 58 |
| Tabla 11. Tasa de preñez en alpacas inseminadas por efecto del tamaño folicular..... | 60 |



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- GnRH : Hormona Liberadora de Gonadotropinas.
- IA : Inseminación Artificial
- CSA : Camélidos Sudamericanos
- HOST : test hiposmotico
- FSH : hormona folículo estimulante
- LH : hormona luteinizante
- PGF2 α . : prostaglandina
- hCG : gonadotropina coriónica humana
- IM : Intramuscular.
- Mm : milímetros.
- H : horas.
- FAO : Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura
- Msnm : metros sobre el nivel del mar.
- Cm : centímetros
- g : gramos.
- Mg : miligramos.
- E2 : estradiol
- IGFBP : Factores de crecimiento ligado a la insulina y sus proteínas de enlace.
- UI : Unidades internacionales
- v/v : viabilidad
- FIO : Factor inductor a la inducción
- LDL : Low density proteins



RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con objetivos de determinar las características de la calidad del semen (volumen, color, concentración, motilidad, viabilidad, HOST) del semen fresco colectado por el método post cópula y evaluar el efecto del diámetro folicular pre-ovulatorio en el momento de la inseminación artificial con semen fresco sobre el porcentaje de preñez en alpacas Huacaya. Se utilizaron 115 alpacas hembras Huacaya de diferentes edades 4 a 8 años y 6 alpacas machos de 4 a 6 años; distribuidos en 53 alpacas sin cría y 62 con cría, con folículos pre-ovulatorios de $\geq 7 \leq 9$ mm y $\geq 10 \leq 12$ mm. Se colectó el semen por el método post-cópula y se evaluó la calidad seminal utilizando Tris, Fructuosa, Ácido Cítrico, Tilosina, Gentamicina y Lincomicina, al diluyente, se le añadió yema de huevo 20% (v/v). Las alpacas fueron inducidas a la ovulación con aplicación intramuscular de 1 ml de busarelina acetato (GnRH), y fueron inseminadas a las 26-30 h post ovulación con semen (1 ml) a una concentración de espermatozoides de 30 a 40 millones/ml. El diagnóstico de preñez fue realizado a los 30 días post inseminación mediante ecógrafo. Los datos fueron analizados mediante la prueba estadística de Ji – cuadrada. Los resultados del volumen del semen fueron de 3.67 ml, viabilidad 70.10%, concentración 85.02×10^6 , viabilidad 82.82%, Host 77.93% morfología normal 73.58%. La tasas de preñez de alpacas sin cria mostraron 50% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y las alpacas sin cria de tamaño folicular 10 a 12 mm 52%. de alpacas con cria mostraron 48.6% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y las alpacas con cria de tamaño folicular 10 a 12 mm 56, sin diferencia significativa ($p > 0.05$).

Palabras Claves: Inseminación, crecimiento folicular, preñez, alpacas.



ABSTRACT

The research work was carried out with the objective of determining the characteristics of semen quality (volume, color, concentration, motility, viability, HOST) of fresh semen collected by the post copulation method and evaluating the effect of pre-ovulatory follicular diameter on the moment of artificial insemination with fresh semen on the pregnancy rate in Huacaya alpacas. 115 Huacaya female alpacas of different ages from 4 to 8 years old and 6 male alpacas from 4 to 6 years old were used; distributed in 53 alpacas without calves and 62 with calves, with pre-ovulatory follicles of $\geq 7 \leq 9$ mm and $\geq 10 \leq 12$ mm. Semen was collected by the post-copula method and seminal quality was evaluated using Tris, Fructose, Citric Acid, Tylosin, Gentamicin and Lincomycin, egg yolk 20% (v/v) was added to the extender. Alpacas were induced to ovulate with intramuscular application of 1 ml of buserelin acetate (GnRH), and were inseminated 26-30 h post ovulation with semen (1 ml) at a sperm concentration of 30 to 40 million/ml. The diagnosis of pregnancy was made 30 days after insemination by ultrasound. Data were analyzed using the chi-square statistical test. The results of the semen volume were 3.67 ml, viability 70.10%, concentration 85.02×10^6 , viability 82.82%, Host 77.93% normal morphology 73.58%. The pregnancy rates of alpacas without calves showed 50% with follicular size of 7 to 9 mm, and alpacas without calves of follicular size 10 to 12 mm 52%. of alpacas with calves showed 48.6% follicular size from 7 to 9 mm, and alpacas with follicular size 10 to 12 mm 56, without significant difference ($p > 0.05$).

KEYWORDS: Insemination, follicular growth, pregnancy, alpacas.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CSA), son de gran importancia en la actividad socioeconómica de la población alto andina del Perú y países andinos. El Perú es el primer productor mundial de alpacas (87% de la población mundial) y el segundo en llamas. Su crianza es extensiva, por su buena capacidad de adaptación desde los 3800 m.s.n.m que es hábitat alto andino, soportando las difíciles condiciones medio ambientales, propias de la puna (Huanca, 2012). Siendo la productividad de carne, fibra, y piel como una fuente de ingreso económico y así contribuir con la seguridad alimentaria para los pobladores alto andinos (FAO, 2008), cabe indicar que los CSA, aprovechan eficientemente los escasos pastos naturales, donde no logran adaptarse plenamente otros animales domésticos. Siendo el patrimonio imprescindible del Perú que contribuye a un recurso natural renovable (Quina, 2017).

En los últimos años diversas instituciones de alcance nacional, regional, local y ONG vienen trabajando en mejoramiento genético con el fin de mejorar la calidad del vellón; con capacitaciones a los productores en selección de alpacas, introducción de reproductores, creación de centros de producción de reproductores para producir reproductores de alto valor genético, que hoy en día son escasos y tienen un alto valor económico que no está al alcance de los productores, el trabajo es lento y tedioso que puede ser acelerado con el empleo de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial (IA). Es así, una gran parte del avance genético en vacunos de leche se debe al desarrollo y aplicación de la IA. El semen de un toro de alto valor genético puede usarse en muchísimas vacas y como tal su influencia puede afectar cientos de terneras. En este sentido la IA, acelera el avance genético más rápidamente que la transferencia de



embriones. En la actualidad, más de un millón de vacas son inseminadas anualmente en los EE UU y una proporción similar en Canadá, Nueva Zelandia, Australia, así como en otros países que han colaborado enormemente al progreso genético en los bovinos de producción. (García et al., 2019; Garcia, 2015; Huanca et al, 2018).

El desarrollo de esta metodología de los camélidos sudamericanos inicio en el Perú en 1960 (Fernández-Baca y Novoa, 1968) y recientemente en Australia (Vaughan et al, 2003), Europa (Burgel et al., 2000; McEvoy et al., 1992) y América del Sur (Alarcón et al., 2012; Aller et al., 1999; Apaza et al., 2001; Bravo et al., 1997; De la Vega, 1996; García et al., 2019; Torres 2006), en grupos pequeños de animales y con resultados variados, debidamente a las dificultades en la colección seminal con la baja concentración de espermatozoides, calidad viscosa del semen y el poco conocimiento del momento adecuado de la IA en el desarrollo folicular pre-ovulatorio, que impide el avance progresivo de la IA (Garcia et al., 2021; Huanca et al, 2007).

Al respecto, se ha realizado distintas técnicas para coleccionar semen en llamas y alpacas. Al inicio han reportado el uso de condones, después la electroeyaculación, la vagina artificial y la fístula uretral. Actualmente, se desarrollado la técnica de colecta en la vecindad de la os externa de la cérvix posteriormente a la monta natural, denominada método post cópula (Alarcón et al., 2012), donde el semen colectado es generalmente de escasa viscosidad y de buena calidad que el semen colectado con vagina artificial (Bravo et al., 2013).

Por otra parte, los camélidos no presentan ciclos sexuales definidos como ocurre en otras especies (ej. oveja, vaca), esta especie es de ovulación inducida debido a que su folículo maduro no ovula espontáneamente, permaneciendo integro hasta recibir estímulo (San Martín et al., 1968); el crecimiento folicular en las alpacas hembra se origina en forma de ondas que lleva a la aparición de un folículo dominante (Fernández-Baca et al.,



1970). La duración de una nueva onda en desarrollo folicular, que es el periodo que transcurre entre dos emergencias de un folículo dominante, en la alpaca es de 11 a 12 días (Bravo y Sumar, 1989); cada onda se compone de tres fases: La fase de *crecimiento* comprende de 8 a 10 folículos con un diámetro de 2 a 3 mm; la totalidad de veces, dos o tres folículos siguen creciendo hasta 5 mm, de los cuales el 68 % alcanza un diámetro igual o superior a 7 mm después de 5 a 9 días. La fase de *maduración* se adquiere cuando el folículo en crecimiento llega a un diámetro de entre 6 a 12 mm y tiene una duración de 5 días (Adams et al., 1990; Bravo et al., 1990). Esta fase es importante, porque se va producir la ovulación del folículo maduro después de la cópula, por la presencia del factor inductor a la ovulación (FIO) que se localiza en el plasma seminal de los camélidos (Adams et al., 2005), esta fase se aprovecha para realizar la IA, induciendo la ovulación con plasma seminal, LH, hCG o análogo de GnRH (Adams et al., 2005), el folículo dominante en ausencia de la cópula regresa entre 3 a 5 días. De tal manera el presente trabajo de investigación se realizó con el propósito de conocer el efecto del diámetro folicular pre-ovulatorio en el momento de la inseminación artificial con semen fresco post cópula sobre el porcentaje de preñez en alpacas Huacaya. Para lo cual se tomó dos grupos de alpacas con folículo pre ovulatorio de $\geq 7 \leq 9$ mm y el otro grupo con folículo pre ovulatorio de $\geq 10 \leq 12$ mm al momento de la IA.



1.1. Objetivos de la investigación

1.1.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto del diámetro folicular pre-ovulatorio en el momento de la inseminación artificial con semen fresco sobre el porcentaje de preñez en alpacas Huacaya.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar características de la calidad del semen (volumen, color, concentración, motilidad, viabilidad, HOST) del semen fresco colectado por el método post cópula.
- Evaluar el efecto del diámetro folicular pre ovulatorio ($\geq 7 \leq 9$ mm) al momento de la IA, sobre la tasa de preñez en alpacas madres con cría y sin cría.
- Evaluar el efecto del diámetro folicular pre ovulatorio ($\geq 10 \leq 12$ mm) al momento de la IA, sobre la tasa de preñez en alpacas madres con cría y sin cría.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Anatomía reproductiva de la hembra

OVARIO

El tamaño y la forma varían según a la edad, dependiendo a las estructuras presentes en los ovarios; lo cual presentan una forma globular (1.3-1.9 x 0.9-1.3 x 0.9-1.3cm) y su peso entre los 1.90 y 2.40 g. En la alpaca hembra múltipara, los ovarios son aplanados lateralmente y tienen una superficie irregular debido a la presencia de muchos folículos pequeños (Sato y Montoya, 1990). El ovario izquierdo es sutilmente más grande que el derecho y cuando está ocupado por un cuerpo lúteo este es ligeramente más grande que el propio ovario y no hay demarcación entre el cuerpo lúteo y el ovario (Frank, 1999). Los ovarios están rodeados completamente por un largo pliegue del mesosálpinx de forma cónica nombrado bursa ovárica, cuya porción apical forma un extenso orificio circular que comunica con la fimbria del oviducto (Bravo et al., 2000).

OVIDUCTO

Son dos conductos finos de trayecto turtuosos, de 15 a 20 cm de longitud que se comunica la superficie del ovario con el útero; diámetro del ampulla de 3 a 5 mm, diámetro del istmo 1 a 3 mm., que cambia con la edad del animal y raza. Se alojan en un pliegue peritoneal que deriva del ligamento ancho denominado mesosálpinx (Sumar, 1996). El oviducto interviene en la capacitación y transporte de gametos y proporcionan el ambiente adecuado para la fertilización y el comienzo del desarrollo embrionario (Sato y Montoya, 1990).

En los oviductos se distingue tres partes: infundíbulo, ampulla e istmo. El infundíbulo está unido a los ovarios, es el extremo periférico en forma de embudo del



cuerno uterino, los bordes son dentados (fimbrias) tales prolongaciones están recubiertos de cilios. El movimiento de los cilios de las fimbrias puede crear corrientes, que transporta los ovocitos hacia la luz del cuerno uterino. La parte más ancha denominada ámpula, lugar donde se lleva a cabo la fertilización. Los oviductos se estrechan hacia el extremo donde se unen con el cuerno uterino, por lo que a esta porción se le conoce como istmo, lugar de reservorio y capacitación de los espermatozoides (Perez, 2015).

Las capas del oviducto están formadas por tres partes. Desde el exterior en la serosa que es continuación del mesosalpinx. La capa muscular lisa, con un estrato longitudinal superficial y uno interno con disposición circular, la capa muscular se va engrosando del infundíbulo hacia el istmo y el estrato longitudinal es más abundante que el circular. La tercera capa está formada por la mucosa que presenta pliegues longitudinales que son más numerosos y pronunciados en el ámpula por lo que la luz del oviducto es más amplia que en el istmo. La mucosa del oviducto presenta células ciliadas y secretoras. (Pérez, 2015; Sumar, 1996).

UTERO

La forma del útero en las alpacas es bicornes, e “in situ” en forma de (Y), dividiéndose en cuernos, cuerpo y cérvix. Los cuernos uterinos presentan una longitud en promedio de 7,5 cm y un cuerpo de 3 a 5,5 cm. El cuerno uterino izquierdo puede ser sutilmente mayor que el derecho, incluso de las hembras multíparas, el útero se localiza en el área pélvica de las hembras no grávidas, llegando a la cavidad abdominal durante la preñez, teniendo en cuenta que el 98% de las gestaciones se presenta en cuerno izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973; Sato y Montoya, 1990).

El cérvix presenta 2 a 3 pliegues anulares y su longitud fluctúa entre los 2 y 5 cm. El nivel de abertura o cierre está sometida a regulaciones endocrinas, de modo que su luz se dilata durante el celo para facilitar la cópula, mientras que este angosta durante la



gestación para eludir la contaminación del útero mientras se complete el desarrollo embrionario. (Sato y Montoya, 1990).

VAGINA Y VULVA

La vagina presenta una longitud aproximada de 13.4 ± 2.0 cm y su diámetro está dado entre 3.5 – 5 cm, se determina por poseer una mucosa que forma numerosos pliegues (Fowler, 1998; Sumar, 1996). La abertura vulvar tiene dirección ventrodorsal y mide 3-4 cm de longitud. La comisura dorsal de la vulva es sutilmente redondeada y se localiza a 2 o 3 cm del orificio anal; la comisura ventral es aguda y culmina en una corta dirección cónica. El himen, o sus restos, marcan la desunión entre la vagina y la vulva (Bravo et al., 2000; García et al., 2005).

2.2. Fisiología reproductiva de la Alpaca hembra

2.2.1. Comportamiento sexual

Los camélidos sudamericanos al ser especies de ovulación inducida no muestran un ciclo estral definido, no obstante, se encuentran periodos de receptividad sexual. Estas etapas son suficientemente prolongados durante la época de apareamiento y sin la presencia de machos pueden seguir receptivas por periodos hasta de 36 días, indicando breves interrupciones de anestro que no sobrepasan de 48 horas (Novoa, 1989).

England et al. (1971) manifiestan que el comportamiento sexual en las hembras receptivas se puede dividir en las fases de cortejo y de copulación o monta. El tiempo de duración de la primera fase está influenciada por el nivel del libido y fortaleza del macho, la cual tiene un tiempo de duración que puede llegar alcanzar hasta los 10 minutos, y culmina en el momento cuando el macho monta o es rechazado. La hembra cuando no está receptiva y al ser requerida por el macho, trata de escapar llegando a defenderse escapando, pateando o escupiendo



(Novoa y Leyva, 1996; Sumar, 1996). El tiempo de la cópula está influida por diversos factores: número de machos presentes de forma simultánea, frecuencia de monta, edad del macho, estación del año, jerarquía dentro del rebaño, hora del día, etc. Por lo que la etapa de la cópula en alpacas suele perdurar entre 20 a 30 minutos, pero otros autores indican un tiempo de duración más amplio de 5 a 65 minutos (Brown, 2000; Fernández-Baca, 1993; Sumar, 1985).

Una vez que la hembra ésta receptiva, acepta al macho, ésta adopta la posición decúbito esternal con la pelvis elevada, lo cual permite la facilidad de la monta del macho, donde el macho pone los metatarsos lateralmente a los lados de la hembra y sus patas se apoya al piso. Durante la cópula, el macho continuamente emite un sonido gutural denominado “orgling”, además de la dilatación de los orificios nasales y movimientos de la cola, mientras que la hembra permanece inmóvil (Fernández-Baca, et al., 1970; Novoa, 1970).

Bravo (1994) menciona que dicho sonido gutural puede coadyuvar con la respuesta neural en el hipotálamo de la hembra para la estimulación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La receptividad sexual no está asociada constantemente con la existencia de un folículo dominante (Sumar, 1983), mientras que la no receptividad es una característica diferencial entre hembras preñadas y vacías; puesto que se considera dentro de los 15 a 21 días posteriores a la monta, cuando la receptividad es ausente es debido a la preñez o hay la presencia de un cuerpo lúteo, por el efecto inhibitorio de la progesterona (Fernández-Baca, 1971).

2.2.2. Mecanismo Neuroendocrino en el control reproductivo

La reproducción es regulada por una compleja interacción entre el sistema nervioso, endocrino y reproductor. Los mecanismos fisiológicos se presentan en



el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. La comunicación entre órganos se da por medio de sustancias mensajeras llamadas hormonas, que son liberadas desde una célula efectora hacia otra célula blanco. El hipotálamo produce neurosecreciones y con ayuda de hormonas liberadoras e inhibidoras (Senger, 2005).

Las células neuronales, en el hipotálamo producen la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la cual en forma pulsátil es secretada, regulando y controlando la secreción y liberación de hormonas gonadotropinas como la hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) de la hipófisis, responsables del control de la actividad ovárica, de la secreción de hormonas esteroideas y la ovulación (Arthur, 1991; Hafez, 2002).

El principal rol de la secreción de la LH es la inducción de la ovulación, luego las células del folículo ovulatorio se luteinizan y empieza la segregación de progesterona, que tiene un efecto de retroalimentación negativa en el hipotálamo, al evitar la secreción de GnRH y sintetiza a los gonadotrófos a la acción de la GnRH (Stevenson, 2007).

La retroalimentación positiva, de la cascada de la oxitocina, que va desde el cuerpo lúteo al útero y de la prostaglandina $F2\alpha$, que va desde el útero al cuerpo lúteo posiblemente sirva como un mecanismo que afirma la luteólisis. Producida la luteólisis, los niveles de progesterona disminuye simultáneamente con el efecto inhibitorio de la progesterona sobre el hipotálamo y la hipófisis permitiendo el resurgimiento de los niveles de LH para comenzar un nuevo ciclo (Stevenson, 2007).

Los camélidos no presentan ciclos cíclicos sino, son especies de ovulación inducida debido a que sus folículos ováricos no se rompen espontáneamente, permaneciendo intactos hasta recibir estímulo (San Martin et al., 1968).



En una investigación, Chen et al. (1985) concluyeron que la ovulación en camellos bactrianos no es espontánea y es inducida por semen, pero no por espermatozoides, obteniendo una tasa de ovulación de 87% después de la inseminación intravaginal; demostrándose así la existencia de un factor inductor de ovulación (FIO) en el plasma seminal del camello bactriano, que también puede presentarse en el toro. Se sospecha que la absorción de este factor es muy rápida y se realiza en la vagina o en el útero debido a que 1 a 4 hembras ovularon después de un lavado vaginal.

2.3. Fisiología del desarrollo folicular

2.3.1. Folículo ovárico

El folículo es la unidad estructural y funcional de los ovarios. La foliculogénesis es el proceso de formación, crecimiento y diferenciación folicular. Abarca desde el estadio del folículo primordial hasta el folículo pre-ovulatorio (Gigli et al., 2006).

La clasificación de los folículos es: primordiales, primarios, secundarios y terciarios de acuerdo a las características histológicas de las células de la granulosa que rodean al ovocito y al grado de maduración del mismo, ya en la vida fetal se realiza la diferenciación de los folículos primordiales. Algunos folículos empiezan a diferenciarse en primarios y secundarios debido a que la primera activación folicular es en principio gonadotropinas independiente. Diversos folículos empiezan a crecer al mismo tiempo hasta que uno de ellos se diferencia en dominante llegando a atresiar a los demás (Gigli et al., 2006).

2.3.2. Dinámica folicular

La onda folicular se desarrolla con el comienzo del agrupamiento de folículos (reclutamiento) precedido de la emergencia de un folículo (Fortune et al., 1991). Cada



onda folicular consta en un grupo de folículos antrales reclutados por un pico de FSH, por lo cual la FSH tiene la importante función de dar inicio de la formación del antro folicular y estimulación de la mitosis de las células de la granulosa y la formación del líquido folicular, mientras que la LH actúa sobre las células de la teca para elaborar testosterona que se dirige a la granulosa para transformarse en estradiol 17β (Hafez, 2002). La LH tiene un efecto positivo en el diámetro del folículo más grande, pero no hasta después del inicio del diámetro de desviación (selección). Los receptores de LH en las células de la granulosa aumentan la producción de estradiol por el folículo dominante y la inhibición de las concentraciones circulantes de FSH. El mecanismo de desviación (selección) se inicia cuando las concentración de FSH son bajas (Ginther et al., 2003) el folículo dominante presenta tres fases: crecimiento (aumenta su diámetro folicular), estática (cambios mínimos en el diámetro) y regresión (disminuye su diámetro) (Stevenson, 2007).

En los camélidos sudamericanos se contempla el desarrollo de ondas foliculares cíclicas, relacionado con el crecimiento, maduración y atresia del folículo dominante (Bravo y Sumar, 1989). Cuando no se exponen al macho, continuarán desarrollando ondas foliculares anovulatorias, en tres fases de desarrollo, para lo cual un grupo de folículos son reclutados, de ellos es seleccionado uno e inicia su crecimiento, diferenciándose y alcanzando el tamaño ovulatorio (≥ 7 mm de diámetro); mientras que los demás se atresia (Brown, 2000; Fernández-Baca, 1993).

La onda folicular en alpacas se desarrolla de manera alternada en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia de folículo dominante en ambos ovarios en un 85% de casos (Fernández-Baca, 1993). La receptividad al macho se ve cuando el folículo dominante tiene diámetros ≥ 6 mm, esto se relaciona con la regresión de los folículos subordinados, estando la inhibina con la inhibición de los folículos pequeños



(Adams, et al., 1990; Bravo, et al., 1990). Estudios realizados mediante ultrasonografía rectal reportan tasas de crecimiento folicular desde 0.5-0.8 mm/día (Vaughan et al., 2004).

Bravo y Sumar (1989) investigaron con laparoscopia en alpacas y definieron que el tiempo promedio en que se forma una onda folicular es de 10 a 12 días. El periodo de crecimiento folicular fue de 4 días en promedio (3-5 días), la fase estática donde obtiene el tamaño ovulatorio (8-12 mm) dura en promedio 4 días y la fase de regresión o atresia con un periodo de 4 días. Asimismo, en un 85% de los casos, el crecimiento folicular se alterna en ambos ovarios. Si bien, en otro estudio se determinó que la tasa de crecimiento folicular fue constante (0.43 ± 0.02 mm/día) entre los días 0 y 10 luego de la emergencia de una onda folicular, por lo que la mayoría de los folículos alcanzarán una medida de 6 o 7 mm de diámetro a los 6-8 día, por lo que se sugiere como el momento óptimo para el empadre (Bravo et al., 1991; Sumar, 1993).

2.4. Fases del desarrollo de la dinámica folicular

El reclutamiento o emergencia es un proceso por el que, bajo la responsabilidad de factores intraováricos (factores de crecimiento ligados a la insulina y sus proteínas de enlace IGFBP) estimulados por la FSH, un conjunto de folículos antrales temprano (2-3 mm de diámetro) comienzan a desarrollarse en un medio con suficiente soporte gonadotrófico que les permita progresar a la ovulación (Fernandez, 2003).

Los sucesos de reclutamiento se dan en 2 fases: el primero corresponde al reclutamiento folicular continuo, ocurre la transición de folículos primordiales a folículos primarios, son reclutados de una manera continua para su posterior desarrollo hasta que tiene una cavidad antral, el segundo corresponde al reclutamiento cíclico, en el cual los incrementos en la FSH circulante durante cada ciclo reproductivo permite reclutar una cohorte de folículos antrales para alcanzar la fase preovulatoria (McGee y Hsueh, 2000).



Aba (2014), indica que en alpacas hembras fértiles, durante cada onda folicular, un grupo de folículos es reclutado, seguido de la aparición sincrónica de un grupo de folículos antrales, que desarrollan de 4 a 5 mm de diámetro. De estos, un folículo está seleccionado para convertirse en el folículo dominante, y los demás sufren atresia y regresiones.

La selección de un folículo dominante se refiere al mecanismo que determina cual folículo de la cohorte es seleccionado para seguir en el proceso de crecimiento y convertirse en dominante evadiendo la atresia. El principal suceso morfológico en el proceso de selección es la divergencia (Ginther et al., 1996). En el reclutamiento de la onda se determina por el desarrollo de un cohorte de folículos antrales de 2 a 3 mm de tamaño hasta obtener un diámetro de 4 a 5 mm a partir de ese momento se establece la selección (Gigli et al., 2006).

La divergencia del folículo dominante corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante es seleccionado durante la emergencia. El folículo dominante tiene un efecto inhibitorio sobre los demás folículos subordinados o del mismo grupo, retrasando su crecimiento y atreziéndolos (Ferrer et al., 2002). Existen tres estadios en lo que respecta al folículo dominante: crecimiento, maduración y regresión (Bravo et al., 1990). Se evidenció que el tiempo requerido para el desarrollo de los folículos de 3 mm hasta los 7 mm es de 4.8 ± 1.5 días, la fase de madurez folicular (folículos, 8-12 mm) promedio 5.0 ± 1.6 días y para la fase de regresión folicular en promedio 4.0 ± 1.1 días (Bravo et al., 1990).

2.4.1. Reinicio de la actividad ovárica

La actividad ovárica y la fertilidad post parto fue estudiado por Bravo et al. (1994) quienes observaron que 30 días después del parto, las hembras denotaron un folículo mayor que a los 10 y 20 días (9,1; 7,9 y 8,8 mm, respectivamente), y que la



tasa de gestación con un apareamiento a los 10 días post parto (21%) fue menor que la obtenida en hembras servidas entre 20 y 30 días post parto (61%). Un tamaño ovulatorio (7mm) estuvo presente 7,4 días post parto (4 a 14 días) y el tamaño fue menor en la primera onda folicular (7,4 mm) que la segunda y tercera onda (9 a 10 mm) (Bravo et al., 1995).

2.5. Ovulación

Este mecanismo endocrino que se refiere a la ruptura o luteinización del folículo dominante y la salida del ovocito para que sea fecundado. La ovulación es provocada en todas las especies por un pico preovulatorio de LH formado por una retroalimentación positiva por parte del estradiol (E2) a nivel del hipotálamo, que estimula a su vez una mayor liberación de GnRH hacia la hipófisis, con lo cual genera mayor liberación de gonadotropinas (Senger, 2005). En las especies de ovulación inducida los mecanismos que provocan la liberación del pico preovulatorio de LH no son del todo claras como en los ovuladores espontáneos en donde la GnRH secretada por el hipotálamo controla las pulsaciones de LH. En un estudio realizado en llamas, demostró que el primer incremento significativo de los niveles plasmáticos de LH se produce entre 15 a 40 minutos después del inicio del coito, como consecuencia de un reflejo neuroendocrino. Los estímulos neuronales que liberan dicho reflejo involucran la estimulación del cérvix durante la penetración, los sonidos emitidos por el macho y el contacto físico (Huanca, et al., 2018).

El intervalo entre la ovulación y la cópula es aproximadamente de 30 h (rango de 24 a 48 h) en la alpaca y la llama (Ratto et al., 2013). Adams et al. (1990) observaron que el intervalo entre la cópula y la ovulación es bastante constante en llamas, de tal forma que el 96% de los animales ovularon en el transcurso del segundo día posterior al coito y solamente un 4% lo hizo al tercer día.



En llamas se hizo una investigación para ver los niveles plasmáticos de LH luego de la monta natural y los resultados señalaron que empieza a incrementar a los 15 minutos del estímulo, teniendo un pico a las 2 horas, y vuelve a sus niveles basales a las 7 horas post monta (Bravo et al., 1990b).

2.5.1. Inducción a la ovulación

Los protocolos de sincronización realizados son capaces de inducir una nueva emergencia de la onda folicular, independiente del estado folicular y lútea en el momento del tratamiento, tendrá un gran efecto sobre la sincronización ovárica (Ratto et al., 2005). Dichos tratamientos están basados en remover el efecto de supresión que tiene el folículo dominante, sobre los demás folículos, por medio de la ovulación del mismo o su atresia, resultando en el reclutamiento de una nueva onda folicular (Miragaya et al., 2006).

La inducción de la ovulación en los camélidos sudamericanos ha sido estudiada mediante la aplicación de hormonas exógenas, que aplicando por vía parenteral de 1000 U.I de hCG determinó que la ovulación se produce a las 24 horas post aplicación (San Martín et al., 1968). Sumar (1985) logró inducir ovulación con un de 1mg Hormona Luteinizante (LH) y Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) en dosis y 4.8 mg para provocar un estímulo necesario.

Chen et al (1985) mencionan un estudio de ovulación inducida en un 87% en camellos Bactrianos por deposición de semen intravaginal sin haber contacto físico con el macho, concluyendo así que debe existir algún factor en el semen responsables de la ovulación, aparte del estímulo mecánico durante la cópula o monta.

Se realizaron estudios en los que se ha demostrado que la administración de GnRH, es eficaz para provocar la liberación endógena de LH (San Martín et al.,



1968; Bourke et al., 1995). Sin embargo cuando se emplea análogos sintéticos de GnRH, como la Buserelina, la dosis para que esta hormona sea capaz de inducir la ovulación son notablemente inferiores (8 μ g) (Bravo et al., 1992; Huanca et al., 2001). La ovulación se produce generalmente a las 26 horas de la aplicación de hCG (San Martín et al., 1968) y a las 28 horas de la aplicación de GnRH (Bourke et al., 1995). La función principal del pico pulsátil de la LH es la de producir la ovulación o liberar al ovocito contenido en el folículo dominante, mediante la ruptura de este (Fernández-Baca et al., 1970)

Bianchi et al. (2018) reportaron que la duración del intervalo a la emergencia de una onda folicular nueva desde la aplicación de GnRH, dependerá del estado folicular en el que se encuentre el folículo dominante. En el caso de las llamas hembras con folículos dominantes en estado de crecimiento o maduración y posteriormente sincronizadas con GnRH, pasado 3 días de este estímulo se dio la emergencia de una nueva onda folicular; lo cual es idéntico a la respuesta en camellos (Nikjou et al., 2008). Mientras que las que tenían un folículo dominante en estado de regresión y que de esa forma igualmente han sido sincronizadas, desarrollaron la emergencia de la nueva onda folicular entre 1 a 2 días post-estimulo (Bianchi et al., 2018), esto podría atribuirse a la emergencia de ondas sucesivas que encubren los distintos estadios foliculares, al igual que pasa en las hembras que no ovulan (Cavilla et al., 2013).

2.5.2. Cuerpo luteo

Es una glándula endocrina transitoria que se forma a partir del folículo ovulatorio. El cuerpo lúteo maduro está conformado por 2 tipos de células foliculares. Estas células luteales pequeñas provienen de las células de la teca y responden a la LH con aumento de la secreción de progesterona, cuyo mecanismo



es activando la protein-quinasa A vía segundo mensajero. Las células luteales grandes son de origen de la granulosa y contienen los receptores para la $PGF2\alpha$. Si no ocurre la preñez, regresa el cuerpo lúteo y permite el crecimiento folicular para dar paso a la nueva onda folicular. (Niswender et al., 2000).

El desarrollo del cuerpo lúteo en el ovario a los 3-5 días de la cópula o aplicación hCG (2 a 4 días después de la ovulación), observándose una elevación de los niveles de progesterona entre 4 y 6 días después del coito (Aba et al., 1995; Adams et al., 1990). El diámetro promedio del cuerpo lúteo, 3 días después del servicio o 48 horas post ovulación es de 7.72 mm para el ovario izquierdo y de 8.67 mm para el ovario derecho (Fernández-Baca et al., 1970). Cuando hay ausencia de la gestación la vida media del cuerpo lúteo es de 8 a 9 días, iniciando su regresión, reduciendo su diámetro a la mitad a los 12 días del coito y al mismo tiempo que disminuye la secreción de progesterona, alcanzando su nivel más bajo en los días 14 o 15. Las hembras vuelven a mostrar receptividad sexual a los 12 a 14 días después de la última cópula. (Adams et al., 1990; Sumar y Bravo, 1991).

En algunos casos, días cercanos después de la ovulación las hembras pueden seguir mostrándose receptivas al macho, esto es asociado a los muy bajos o niveles de progesterona (Leyva y Garcia, 1999). Sumar (1996) indica que algunos camélidos pueden tener fases luteales cortas, esto se puede ver atribuido a que posiblemente esos animales posean un folículo dominante en fase de regresión y al momento de inducir la ovulación en este, pase al pico pulsátil de LH no llegue a ovular.

2.6. Tasa de preñez

La mayor parte de las gestaciones se producen en el cuerno izquierdo no se ha demostrado aun el hecho que si el ovocito proviene del ovario izquierdo determine mayor



probabilidad de preñez (Vaughan, et al., 2003), pese a que no existe diferencia en la actividad ovulatoria entre ambos ovarios, lo que indicaría que los embriones que se originan en el cuerno uterino derecho tienen que migrar al cuerno uterino izquierdo para su implantación (Fernández-Baca et al., 1973). Si bien no se sabe exactamente las razones de la migración, una explicación al respecto estaría en la actividad luteolítica diferencial de ambos cuernos uterinos al ser solo local en el cuerno derecho y además sistémica en el izquierdo (Fernández-Baca, 1993).

La gestación en los camélidos sudamericanos se da inicio a partir de la fertilización del óvulo, dando lugar a la formación e implantación del cigoto a las paredes del cuerno uterino izquierdo, el cual ocurre a los 20 a 22 días del desarrollo embrionario y se completa aproximadamente a los 60 días, continuando con el desarrollo fetal hasta el nacimiento (Sumar y Leyva, 1981).

El tiempo de gestación varía de 343 y 346 días en alpacas Huacaya y Suri y en llamas de 335 a 360 días, presentándose en la mayor parte de las gestaciones con un solo feto ubicado en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca et al., 1973). Siendo el cuerpo lúteo necesario y principal fuente para la conservación de la preñez durante todo el periodo de gestación en alpacas y llamas, existiendo una relación entre el diámetro del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en plasma (Sumar, 2002).

2.7. Ultrasonografía

La ultrasonografía es de gran utilidad como un método de diagnóstico y de investigación en el área de reproducción, como el uso de la ultrasonografía transrectal en camélidos sudamericanos se ha estudiado eventos reproductivos tales como el desarrollo de los folículos ováricos, la ovulación, el desarrollo y regresión del cuerpo lúteo, monitoreo uterino, mortalidad embrionaria y desarrollo fetal (Bourke et al., 1992; Komatsu y Masubuchi, 2016).



Por otra parte, la ultrasonografía transrectal nos ha sido de gran ayuda para realizar las mediciones de los folículos durante su fase de crecimiento y así poder observar una gran parte del desarrollo folicular; por tal modo, este método no nos permite monitorear del todo bien a los folículos que no son dependientes de gonadotropinas debido a que estos crecerían y cambiarían de posición, en los diferentes mamíferos (Komatsu y Masubuchi, 2016).

Actualmente, realizar el monitoreo del estado reproductivo de la alpaca hembra mediante el uso de ultrasonografía transrectal es bastante común, debido a su capacidad para evaluar los distintos factores que afectan la dinámica folicular, ya sea el caso durante la época de empadre; logrando así a reemplazar el uso de algunos complejos hormonales. (Tibary, 2018).

En la ausencia de la preñez, en el útero se llega a observar como una estructura ecogénica, densa y con un lumen no distinguible. Entretanto en las hembras preñadas se distingue zonas no ecogénicas, debido al fluido en el lumen uterino, detectado a los 14 días en un 100% de hembras (Bourke et al., 1992). La vesícula embrionaria pueda localizar en el cuerno uterino izquierdo (Adams et al., 1989) alrededor del día 21 post monta en alpacas (Bravo et al., 2000).

2.8. Inseminación artificial

La inseminación artificial (IA) es un método reproductivo ampliamente utilizada en distintas especies domésticas, por lo cual el semen previamente elaborado es depositado en el aparato reproductor de la hembra en el momento oportuno. Los trabajos de IA en los camélidos son escasos, debido a que la colección de semen es muy laboriosa por el tipo y duración de la cópula; no obstante, en los últimos años se han dado grandes avances importantes en el proceso de congelación de semen (Apaza et al., 2001).



La inseminación artificial en camélidos es una técnica relativamente nueva, que se define en: la recolección, procesamiento y conservación del semen en los machos y en tanto a las hembras se las induce previamente a la ovulación y la inseminación propiamente dicha (Perez, 1997). Lo cual permite el manejo del material genético de los machos en el uso de las tecnologías de mayor impacto de mejoramiento genético (Galina et al., 1986). Se han realizado muchas investigaciones con el objetivo de conservar el semen de alpaca, como semen refrigerado (5°C) y congelado (-196°C), para después ser utilizarlo en la inseminación artificial.

Los primeros ensayos de IA en camélidos se reportaron en 42 alpacas hembras con el resultado del nacimiento de una sola cría (Fernández-Baca y Novoa, 1968). Un 38 % de tasa de preñez usando semen de vicuña o paco vicuña fue reportado en alpacas y llamas hembras donde la ovulación fue inducida por la monta con machos vacectomizados o tratamiento de hCG (Leyva y Sumar, 1981).

Distintos métodos han sido utilizados para la recolección de semen en camélidos sudamericanos, tales como fundas vaginales (Mogrovejo, 1952), electro eyaculación (Fernández-Baca y Calderon, 1996) y vagina artificial (VA) con un maniquí de alpaca (Sumar y Bravo, 1991).

La aplicación de la vagina artificial, nos facilitado el estudio del semen en CSA donde actualmente, el nivel de conocimiento de la fisiología del espermatozoide es comparable a otras especies (Bravo et al., 2002; Garnica et al., 1993; Lichtenwalner et al, 1996); sin embargo, esta técnica tiene el inconveniente de que los machos requieren de entrenamiento y algunos no aceptan fácilmente el maniquí.

Los programas de IA son esenciales en el manejo y así lograr una mejora genéticamente de los camélidos sudamericanos. Esto podría dar paso a nuevas



oportunidades para aplicar el uso de biotecnologías a especies silvestres como la vicuña y el guanaco.

2.9. Fisiología del macho

Espermatogénesis

Para la producción de espermatozoides la regulación hormonal está dada por GnRH que estimula la adeno hipófisis que libera la LH, que en las células testiculares intersticiales provoca la producción de andrógenos. También se libera la FSH, cuyo blanco de acción celular son las células de Sertoli con la consecuente producción de ABP y andrógenos que colaboran en la formación y la maduración espermática (Hafez, 2000). El proceso de la espermatogénesis se subdivide en tres fases: la primera fase es la de la proliferación, que consiste en todas las divisiones mitóticas de la espermatogonia hasta llegar a la espermatogonia B; la segunda fase es la fase meiótica que involucra al espermatocito primario y secundario, reduciendo la carga genética a un número de haploide y causando entrecruzamientos de ADN, proporcionando la seguridad de la diversidad genética de las células producidas posteriormente; la última fase es denominada fase de diferenciación y consiste en la producción de células especializadas (espermatozoides) a partir de células redondas (Senger, 2003).

2.9.1. Características del semen

Las características propias del semen de alpaca son variadas; como baja concentración espermática, bajo porcentaje de motilidad, la alta viscosidad, espumoso, que han condicionado a la evaluación, manipulación, dilución y conservación del semen, que se utilizan en los protocolos de refrigeración, congelación de la crío preservación. (Giuliano, et al., 2008), probablemente debido



a la influencia de factores medioambientales y de la propia especie (Bravo et al., 1997; Tibary y Vaughan, 2006).

Las características del eyaculado de los camélidos son de volumen reducido y baja concentración de espermatozoides comparado con otros animales de producción. Los patrones como el volumen, color, motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología son altamente variables entre machos y entre eyaculados colectados del mismo macho; a consecuencia de esto, puede conducir a problemas para obtener eyaculados para la preservación de semen e inseminación artificial (Raymundo et al., 2000). Las características físicas y biológicas del semen de camélidos también varía de acuerdo a las condiciones de colección, ya sea el método de colección, fertilidad, libido del macho, temperatura ambiental, etc. (Tibary y Vaughan, 2006).

Las características físicas más importantes del semen de los camelidos es la gran viscosidad, la que dificulta su manejo durante los procedimientos en el laboratorio (pipetear, frotis por extensión), lo cual dificulta determinar parámetros como: la concentración espermática y motilidad (Garnica et al., 1993).

2.9.1.1. características macroscópicas del semen de Alpaca

A) Color

El color de los eyaculados varía desde blanco lechoso hasta blanco cristalino, esto cambia de acuerdo al método de colección, según la concentración de espermatozoides y el grado de concentración con otros fluidos, también el color puede cambiar por la presencia de elementos anormales (Sumar y Leyva, 1981a) el color lechoso proviene de la secreción de las glándulas anexas, en cambio el color crema nos indicarían la presencia de concentraciones altas de espermatozoides en los eyaculados (Paricahua, 2001).

B) Volumen

Los testículos promedian de 3 a 5 cm de longitud y 15 a 18 g de peso, lo que equivale a 0.02 a 0.03 % del peso corporal (Vaughan et al., 2003). En efecto, los camélidos producen menos espermatozoides al día en comparación con los carneros y toros (Kershaw-Young y Maxwell, 2011). En camélidos aproximadamente el 85% del eyaculado es plasma seminal y el 15% restantes, son espermatozoides (Bravo et al., 1997). El volumen colectado de semen de alpaca es variable (Tabla 1).

Tabla 1. Volumen de semen de alpaca colectado por post cópula.

| Método de colección | Volumen (ml) | Referencia |
|---------------------|--------------|------------------------|
| Post cópula | 3.73 ± 2.06 | (Murillo et al., 2018) |
| Post cópula | 3.6 ± 1.3 | (Alarcón et al., 2012) |
| Post cópula | 2.14 ± 1.72 | (Rios, 2013) |

| | | |
|-------------|-------------|-----------------------|
| Post cópula | 2.63 ± 2.02 | (Quispe et al., 2015) |
| Post cópula | 2.5 ± 0.93 | (Huillcahuaman, 2012) |
| Post cópula | 1.77 ± 1.29 | (Narváez, 2008) |
| Post cópula | 3.73 ± 1.60 | (Ccalta et al., 2017) |

Fuente: Varios autores

C) pH

Los valores de pH se asoman mucho a la neutralidad (tabla 2), con cierta inclinación a la alcalinidad ligera e incrementa en el semen contaminado con orina, sobre todo en la colección por electro eyaculación (Sumar, 2002). El pH del semen de alpaca está comprendido entre 7.1 a 8.3 y en llamas entre 7.2 a 8.6 (Hanzen et al., 2014)

Tabla 2. pH del semen fresco de alpaca.

| Método de colección | pH | Referencia |
|---------------------|-------------|-------------------------|
| Post Copula | 7.79 ± 0.42 | (Murillo et al., 2018) |
| Vagina artificial | 7.74 ± 0.66 | (Gonzales et al., 2011) |
| Vagina artificial | 7.65 ± 0.66 | (Huanca et al., 2011) |
| Electroeyaculación | 7.24 ± 0.28 | (Choez et al., 2015) |

Fuente: Varios autores

D) Viscosidad y financia

La alta viscosidad es común en semen de los camélidos, por lo cual presenta una baja concentración de espermatozoides presente en el plasma seminal, esto representa un reto más para desarrollar la inseminación artificial, esta viscosidad natural es el principal obstáculo que impide el



desarrollo de la conservación y la inseminación artificial (Morton et al., 2009). También impide la mezcla homogénea del semen con un dilutor, lo que limita el contacto entre la membrana del espermatozoide y los compuestos crioprotectores utilizados en la congelación (Kershaw-Young y Maxwell, 2011).

Por otra parte, la filancia se define como la capacidad de formación de hilo y por lo tanto es una característica reológica diferente a la viscosidad (Giuliano, 2012). Debido a esta alta viscosidad del plasma seminal, el movimiento de los espermatozoides es lento (Sumar y Leyva, 1981a)

Olaguivel y Naveros, (2014) reportaron 22.3 – 25.5 mm en semen de alpacas macho obtenido por vagina artificial. Y encontraron una filancia de 37.3 mm para semen normal y 5.0 mm para semen tratado con colagenasa, en muestras obtenidas de alpacas por vagina artificial. Ríos (2013) reportó 36.19 mm de filancia en semen de alpacas colectadas por aspiración vaginal. Ordoñez et al. (2013) encontraron 16.0 mm de filancia en semen de alpacas colectadas por electroeyaculación. Se han utilizado varios tipos de enzimas con la finalidad de disminuir y/o eliminar esta característica. Bravo et al. (1999) mencionaron que las soluciones con una concentración de 1.25 por ciento de tripsina y 5 mg/ml de colagenasa, facilitan la eliminación de la viscosidad y mejoran el manejo del semen de alpaca.

2.9.1.2. Características microscópicas del semen de Alpaca

La evaluación microscópica y macroscópica del semen, tiene por objetivo determinar su calidad y evaluar el número de dosis que se pueden obtener de un eyaculado, avalando su eficiencia (Bustinza, 2001) . La valoración del semen es necesaria para ejecutar planes de manejo reproductivo



y que los métodos tradicionales de estimación de la calidad de los eyaculados de diferentes especies se han basado netamente en la valoración de la movilidad individual, la morfología espermática y el número total de espermatozoides (Giuliano et al., 2012).

A) Concentración espermática

La cantidad de espermatozoides es una particularidad muy variable (tabla 3), nos expresa la cantidad de células espermáticas por ml, por lo que es considerable la determinación precisa del número de espermatozoides, la concentración se mide usando un hemocitómetro, un colorímetro o un espectrofotómetro (Hafez y Hafez, 2002)

La concentración espermática en alpacas varía de 30,000 a 150 millones de espermatozoides por ml y varía ampliamente entre machos, eyaculados y métodos de colección de semen (Tibary y Vaughan, 2006). Depende de la secreción de testosterona por los testículos, aumenta con la edad y tamaño del animal e igualmente puede ser mejorado por factores como la alimentación, edad, salud y tamaño testicular (Hafez y Hafez, 2002).

B) Motilidad espermática

La motilidad de los espermatozoides conforma un elemento importante para la evaluación de la calidad e indica el grado de energía de estos, la evaluación debe ser inmediata a la colección para estimar la intensidad del movimiento espermático (Sumar y Leyva, 1981a). La motilidad es quizás el parámetro más cercano para determinar la viabilidad de los espermatozoides, basados en este supuesto, la observación visual de la motilidad es el criterio más comúnmente usado para estimar la viabilidad espermática (Aller et al., 2003).



C) Vitalidad

Hay varios procedimientos para determinar la viabilidad espermática, la más utilizada es la tinción de eosina - nigrosina (Alarcón et al., 2012; Canorio et al., 2015). La metodología de doble tinción utilizado para evaluar conjuntamente la integridad acrosomal, que emplea el colorante Azul tripán como indicador de vitalidad y Giemsa que se adhiere a la matriz acrosomal (Banda et al., 2010; Choez et al., 2013). En la práctica se debe considerar a los espermatozoides vivos pero anormales como muertos, para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos normales (Giuliano, 2012).

D) Funcionalidad de membrana espermática

Los espermatozoides de los camélidos sudamericanos no manifiestan movilidad progresiva, por lo que es imprescindible determinar si en el eyaculado existe una población de espermatozoides inmóviles con las membranas funcionales e íntegras, por ello el porcentaje de movilidad espermática no sería un estimador de la calidad del eyaculado y la existencia de espermatozoides inmóviles o con poca movilidad sería una condición inherente o propia de estas especies (Giuliano, 2012).

Un protocolo para valorar la integridad funcional de la membrana de espermatozoides fue ejecutado por Jeyendran et al. (1984), una membrana funcional es imprescindible para el metabolismo espermático, apropiada capacitación y reacción acrosómica al momento de la fecundación con el óvulo y por ende para la fertilidad del macho.

La prueba de endósmosis Hypo-Osmotic Swelling Test (HOST) consiste en someter a los espermatozoides a un medio de presión osmótica más baja que la fisiológica, lo que causa una entrada de agua en la célula en un intento de



equilibrar la presión osmótica interna con la del medio externo, para que esta respuesta se produzca, la membrana plasmática del espermatozoide debe estar íntegra y con los mecanismos de intercambio de fluidos funcionando correctamente (Jeyendran et al., 1984). El ingreso de agua provoca en las células un hinchamiento y enrollamiento del flagelo, las células con la membrana funcionalmente dañada no sufren cambios en la forma del flagelo (Quispe et al., 2015).

Pacheco et al. (2014) reportaron el efecto de la osmolaridad de soluciones sobre la respuesta al test hipoosmótico en espermatozoides de alpaca, los resultados de reacción endosmótica para espermatozoides colectados por vagina artificial fueron de 73.87, 55.80 y 18.73% para soluciones de 50, 100 y 150 mOsmo/l respectivamente, obteniendo la mejor respuesta endosmótica en espermatozoides incubados en la solución hipoosmótica de 50 mOsmo/l.

García et al. (2017) utilizaron un dilutor tris - yema de huevo, obteniendo 45.3 y 39.8% de funcionalidad de membrana para muestras mantenidas en 2 tiempos de refrigeración a 8 horas y 24 horas, proporcionalmente, utilizando una solución hipoosmótica de 100 mOsmo/l, durante 60 min a 37 °C, Quispe et al. (2015) a la evaluación de la reacción hipoosmótica de espermatozoides de alpacas colectado por desviación del conducto deferente y comparando dos tiempos de exposición para la reacción total al estrés hipoosmótico, no encontraron diferencia significativa entre 5 y 15 minutos de incubación, Ccalta et al. (2017) reportaron valores de 13.46% de espermatozoides con membrana funcional en semen descongelado y Zirena (2014) demostró 38.50 y 22.82%

de espermatozoides con reacción positiva a HOST en semen refrigerado y descongelado respectivamente.

E) Morfología y morfometría espermática

La morfología del espermatozoide es un elemento esencial en la evaluación seminal, y en muchas especies la reducción del porcentaje de espermatozoides normales esta correlacionado con una disminución de la fertilidad (Ordoñez et al., 2013). Gonzales et al., (2011) mencionan que al evaluar la morfología espermática encontramos diferentes formas de espermatozoides, las formas normales se agrupan en los que tienen cabeza normal y el flagelo totalmente entero y no enrollado; también se consideraron espermatozoides normales a los que presentaban una longitud de cabeza promedio de 5.47 μm , un ancho promedio de cabeza de 3.4 μm , una longitud caudal promedio de 40.94 μm y una longitud total promedio de 46.03 μm . Ccalta et al. (2017) señalan que existe un efecto de la criopreservación sobre el tamaño del área y perímetro de la cabeza del espermatozoide.

Tabla 3. Evaluación de la calidad seminal por varios métodos de colección de semen fresco de alpaca.

| Método de colección | Motilidad (%) | Concentración (Spz 10 ⁶ /ml) | Viabilidad | HOST (%) | Morfología (%) Anormales (A) Normales (N) | Referencia |
|---------------------|-----------------|---|-------------------|----------|---|------------------------|
| Post cópula | 69.0 \pm 14.4 | - | 70.8 \pm 12.7 | - | - | (Alarcón et al., 2012) |
| Vagina artificial | 45.9 \pm 26.1 | 80.48 \pm 69.35 | 52.32 \pm 19.18 | - | - | (Huanca et al., 2011) |
| Post cópula | 57 | 20.38 | 75.00 | - | 7 (A) | (Murillo et al., 2018) |



| | | | | | | |
|--|-------------|---------------|--------------|------------|---|-----------------------|
| Post cópula | 13.6 ± 7.3 | 215.32 ±110.9 | 47.82 ±4.96 | 46.89±8.39 | - | (Ccalta et al., 2017) |
| Post cópula | 61.7 | 76.2±15.2 | 71.6±2.2 | 52 | | (García et al., 2017) |
| Desviación por conductos deferentes | 30.34±15.65 | 296.32±145.41 | 50.72 ±1.78 | 54.89±4.92 | - | (Ccalta et al., 2017) |
| Vagina artificial | 20 ± 23.83 | 98.46 ±107.75 | 21.60 ±21.60 | - | 22.35 ±8.50 (A) 77.46 ± 8.47 (N) | (Choez et al., 2015) |
| Electroeyacu- lación | 55.93±11.85 | 41.96 ±14.46 | - | - | 27.77 ±5.55 (A) 72.23 ± 5.55 (N) | (Choez et al., 2015) |

Fuente: Varios autores

2.9.2. Colección de semen

La colección de semen está muy avanzada en vacunos, ovinos y caprinos, donde es un procedimiento de rutina; debido a su peculiar característica reproductiva en camélidos sudamericanos la colección es tedioso y no se tiene una técnica óptima o un protocolo recomendado (Pacheco, 2008). En cada especie, el procedimiento de colección de semen debe guardar relación con el comportamiento sexual de los machos (Giuliano, 2012).

La técnica de la electroeyacuación constituye una alternativa para lograr una mejor calidad de eyaculados limpios y sin espuma lo cual no requiere de un entrenamiento previo de los machos como la vagina artificial y es el único método con el que se ha logrado obtener semen de los CSA silvestres (Choez et al., 2015; Pacheco, et al., 2011). La vagina artificial debe estar adaptada a un maniquí en posición de servicio y durante la cópula, se desvía el pene en dirección a la vagina artificial. Esta



técnica ha permitido valorar el comportamiento sexual del macho y determinar las características seminales en alpacas y llamas (Giuliano et al., 2012).

La obtención de semen mediante esponjas, fundas intravaginales o aspiración poscoital, solo una pequeña cantidad del eyaculado es recuperada y mayormente se encuentra mezclada con secreciones vaginales, contaminadas con glóbulos rojos (debido a las lesiones en el tracto reproductivo de la hembra a nivel del endometrio que se encuentre inflamado y lacerado por la cópula (Director et al., 2007).

Un manejo fácil y no invasiva es la colección por el método de **post cópula**. Esta técnica fue desarrollado por; Neely y Bravo, (1998); Zirena, (2014), en lo cual mencionan e indican que no necesita el entrenamiento de un macho, no altera la conducta sexual del macho y no requieren de un maniquí en posición copulatoria, ni de una vagina artificial, solo se requiere de una hembra receptiva al macho, este método no es invasivo ni tedioso pero la desventaja es que este semen es incompleto, contaminado y diluido con las secreciones del tracto genital de la hembra, se puede utilizar este semen para realizar la evaluación de los parámetros de los espermatozoides como: motilidad, vitalidad, morfología; estas muestras frecuentemente se obtienen con residuos sanguinolentos y se ve de un color rosado ya que el endometrio se encuentra lacerado e inflamado por la frecuencia de movimientos copulatorios; la técnica es introducir el espéculo por la vulva previamente desinfectada y con ayuda de una fuente de luz se localiza la cérvix, inmediatamente se aspira con una pipeta adosada a una jeringa, la utilización de esta técnica de colección de semen para evaluar la fertilidad del macho es muy cuestionada.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de métodos de colección de semen de alpaca.

| Método | Ventajas | Desventajas |
|---|---|--|
| Vagina artificial (VA) | No necesariamente se requiere una hembra en celo. | <ul style="list-style-type: none">• El agua atemperada de la VA llega a enfriarse lo cual se interrumpe la cópula y así cambiarla.• Los machos requieren ser entrenados. |
| Funda vaginal (FV) | Se colecta semen no contaminado. | <ul style="list-style-type: none">• Dificulta fijar la funda intravaginal. |
| Esponja vaginal (EV) | Solo se percata la presencia de espermatozoides. | <ul style="list-style-type: none">• El semen se diluye llegando a contaminarse con los fluidos de la hembra. |
| Electroeyacuación (EE) | No se requiere de hembra en celo. | <ul style="list-style-type: none">• El semen colectado se contamina con la orina. |
| Desviación de conductos deferentes (DCD) | No se requiere de hembra. La colección de semen se realiza en menor tiempo. La colecta es solo espermatozoides. | <ul style="list-style-type: none">• Se requiere de la intervención quirúrgica.• Taponamiento a nivel de la salida del conducto deferente. |
| Fistula uretral (FU) | Reduce el tiempo de colección. | <ul style="list-style-type: none">• La intervención quirúrgica es dificultosa, con un bajo porcentaje de éxito.• Se llega a diluir con los fluidos de las glándulas accesorias. |
| Post cópula (PC) | Procedimiento fácil de manejar. Se obtiene un eyaculado normal, sin la necesidad de un ambiente especial. | <ul style="list-style-type: none">• Requiere constantemente de hembras en celo o dispuesto a la cópula. |

FUENTE: (Narváez, 2008)

2.9.3. Dilutores de semen

La composición bioquímica del plasma seminal de camélidos se asemejan a otras especies de ganado doméstico, por tal razón se sugiere que los diluyentes de semen



utilizado para la criopreservación de espermatozoides de carnero y toro serian adecuados para el almacenamiento de semen de camélidos (Bravo et al., 2000).

Un dilutor debe contribuir los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (glucosa), la protección frente al shock térmico por frio (albumina sérica de ternero), controlar el pH del medio (bicarbonato, tris), la presión osmótica (sales NaCl, KCl) y la inhibición del crecimiento microbiano mediante la adición de antibióticos (Ávila, 2009).

A) Tris

Es una amina primaria, utilizada para la preparación de solución tampon las cuales a su vez tienen un uso importante en los experimentos con sistemas biológicos. Sandoval (2005) indica que, debido a su capacidad amortiguadora, osmótica y ser de muy baja toxicidad, incluso en altas concentraciones, el Tris es empleado en la criopreservación de semen para neutralizar los productos de desecho del metabolismo de los espermatozoides.

B) Ácido cítrico

El ácido cítrico se usa a menudamente junto con el Tris como parte de un diluyente, siendo esta sustancia que ayuda en la preservación del pH. Los iones citrato, presentes en el ácido cítrico, forman sales conocidas como citratos con muchos iones metálicos, estas sales que crean condiciones de tolerancia al cambio de pH en la solución. Además, el ácido cítrico actúa como un antioxidante, característica que lo hace útil pensando en mitigar los cambios de pH en la solución donde se encuentran los espermatozoides (Silva, 2007).

C) Glucosa y fructuosa

Son sustancias no invasivas que actúan osmóticamente, favoreciendo la deshidratación celular cuando desciende la temperatura, lo que evita la formación de



grandes cristales de hielo intracelular. Diversos estudios avalan que estas sustancias disminuyen el efecto de la elevada concentración intracelular de solutos, y por tanto son más seguros en congelaciones rápidas (Muiño, 2008). Los azúcares que se hallan en los diluyentes poseen un efecto positivo sobre la viabilidad de los espermatozoides, principalmente por su aporte energético para que puedan metabolizar glucosa, fructosa y manosa por vía oxidativa y tiene un efecto crioprotectora, favoreciendo al mantenimiento del equilibrio osmótico (Cortes, 1997). Además, el efecto beneficioso de la suplementación con fructosa sobre la elongación del dilutor mejora la viabilidad la tasa de supervivencia en espermatozoides (Baquero et al., 2004).

D) Antibióticos

Con la finalidad de limitar el desarrollo de microorganismos se utiliza antibióticos como la tylosina, gentamicina y lincomicina (Avila, 2009).

E) Glicerol

Esta sustancia ocupa simultáneamente membranas y los compartimientos extracelulares e intracelulares (Mazur, 1984; Zirena, 2014). Su función a nivel extracelular es aumentar el volumen del medio extracelular y el porcentaje de agua en estado descongelado, para disminuir la concentración del electrolito y así minimizar el estrés osmótico (Mazur, 1984). El glicerol atraviesa las membranas celulares debido a su bajo peso molecular (Medeiros et al., 2002), y reduce el estrés de enfriamiento celular al actuar a través de un mecanismo de “sal buffer”, deshidratando las células, disminuyendo el volumen de agua intracelular disponible para congelarse, pero manteniendo el volumen celular (Rasul et al., 2007; Zirena, 2014), lo que evita el colapso de las células por una deshidratación excesiva (Medeiros et al., 2002) y previniendo también la fractura de las soluciones de



enfriamiento al reducir la expansión del volumen total de hielo durante la solidificación del agua (Rasul et al., 2007).

F) Yema de huevo

Se ha demostrado que la yema de huevo protege al espermatozoide del daño producido durante el enfriamiento y la descongelación (Salomon y Maxwell, 2000; Zirena, 2014); así como mejorar la fertilidad de los espermatozoides (Lamia et al., 2005; Zirena, 2014). Esta acción protectora se debe a las proteínas de baja densidad LDL (low density proteins) (Moussa et al., 2002). Las LDL están compuestas por 87% de lípidos y 12% de proteínas, y presentan una forma esférica con un centro formado por triglicéridos, los cuales están rodeados por una envoltura de proteínas y fosfolípidos (Hu et al., 2010; Zirena, 2014).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Medio experimental

3.1.1. Ubicación

El estudio se llevó a cabo en el Centro Experimental “La Raya” de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional del Altiplano ubicado en el distrito de Santa Rosa, Provincia de Melgar, Región Puno a una altitud de 4136 a 5470 m.s.n.m.; localizado en las Coordenadas 14°30’33’’ de Latitud Sur, y a 70°57’12’’ Longitud Oeste; encontrándose en el km 205 de la carretera Puno- Cusco. La temperatura media anual fue de 6.2 °C (máxima de 14.16 °C y mínima de -1.75 °C) y una precipitación pluvial de 525.7 mm (SENAMHI 2018).

Las muestras de semen fueron se evaluaron en el laboratorio de reproducción del Centro de Experimentación y Producción La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano, y en el laboratorio de reproducción del IVITA-Marangani de la UNMSM, ubicado en el distrito de Marangani-Cusco.

3.1.2. Instalaciones

El Centro Experimental “La Raya” cuenta con corrales implementados y galpones, donde se utilizaron las instalaciones: el galpón de esquila, donde se realizó la inducción e inseminación artificial y ecografía a las alpacas sin cría y los corrales del Instituto de Investigación y Producción de Camélidos (IIPC), donde se realizó el mismo procedimiento a las alpacas con cría, con el fin de mejorar el manejo de los reproductores.

3.2. Material experimental

3.2.1. Animales

Se utilizaron 6 alpacas machos, entre 4 y 6 años de edad y un peso promedio de 60 ± 6.50 kg y 115 madres (53 madres vacías y 62 madres con cría) de la raza Huacaya en edad reproductiva de 4 a 8 años.

Tabla 5. Número de Alpacas hembras para el estudio

| Condición fisiológica | Número | Diámetro folicular |
|-------------------------|------------|----------------------|
| Alpacas madres sin cría | 28 | $\geq 7 \leq 9$ mm |
| Alpacas madres sin cría | 25 | $\geq 10 \leq 12$ mm |
| Alpacas madres con cría | 37 | $\geq 7 \leq 9$ mm |
| Alpacas madres con cría | 25 | $\geq 10 \leq 12$ mm |
| Totales | 115 | |

3.2.2. Materiales y equipos

3.2.2.2. Para colección de semen

- Fuente de luz adecuada
- Tubos colectores de semen de 15 ml
- Espéculo vaginal
- Papel toalla

3.2.3.3. Para evaluación de semen

- Cámara de Newbauer
- Microscopio
- Láminas cubre objetos
- Láminas porta objetos
- Micro pipetas
- Tubos de ensayo



- Tips
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Gradilla
- Baño maría

3.2.3.4. Para dilución de semen

- Tris
- Fructuosa
- Ácido Cítrico
- Tilosina
- Gentamicina
- Lincomisina
- Yema de huevo
- Agua Bidestilada

3.2.3.5. Reactivos

- Colorante Eosina-Nigrosina

3.2.3.6. Para ecografía

- Ecógrafo ALOKA SSD 500 de un transductor transrectal de 5 MHz.
- Gel
- Jeringa 10 ml
- Mesa
- Vaso

3.2.3.7. Para inducción de la ovulación

- Conceptase (Buserelina acetato)



3.3. Metodología

3.3.1. Selección de Animales

- **Madres:** se seleccionaron 115 madres (53 madres vacías y 62 madres con cría) de la raza Huacaya en edad reproductiva de 4 a 8 años. Las consideraciones para la selección de madres fue que no tengan problemas reproductivos a nivel de (vagina, cuello uterino, cuerpo y cuernos uterinos y oviducto), se verificó el tamaño folicular (con el uso del ecógrafo), las madres con cría tuvieron 21 días de descanso postparto y con una condición corporal de grado 2.5 a 3.5 de acuerdo a la Figura 1.
- **Padres:** se utilizaron 6 machos de plantel de la clase súper, condición corporal 3 a 3.5 de acuerdo a la Figura 1. Estos animales estuvieron al pastoreo en praderas de pastos naturales en todo el proceso de ejecución del proyecto.

| | Grado | Descripción animal | Vista frontal | Vista trasera | Apófisis espinosa a transversa | Fosa paralumbar |
|----------------------|-------|--|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Extremadamente flaca | 1.0 | Grasa o músculo no visible o palpable entre la piel y los huesos. Las costillas, las apófisis dorsales y transversales, y los huesos de la pelvis son individualmente prominentes. Pérdida extrema de masa muscular. | | | Depresión profunda | Fosa muy hundida |
| Muy flaca | 1.5 | | | | | |
| Flaca | 2.0 | Ligera cobertura sobre la estructura ósea. Costillas y apófisis espinosas aún visibles y fácilmente palpables como marcadas. Menos pérdida de masa muscular. | | | Depresión obvia | Prominente |
| Moderada liviana | 2.5 | | Nivelación gradual del esternón | Llenado gradual de "V" | | |
| Moderada | 3.0 | Aspecto liso general. Ligera cobertura de grasa sobre las costillas y otros procesos óseos. Las costillas y las apófisis espinosas se pueden palpar con ligera presión. No hay pérdida de masa muscular. | | | Curva cóncava suave | Ligera |
| Moderada alta | 3.5 | | Grasa moderada | Grasa moderada | Inclinación suave | |
| Gorda | 4.0 | Apariencia carnosa con cobertura visible de grasa. Presión de moderada a firme necesaria para palpar las estructuras óseas debajo de la piel. | | | | |
| Muy gorda | 4.5 | | | | Casi plano | Borde apenas distinguible |
| Obesa | 5.0 | Grasa excesiva cubre todo el cuerpo con una apariencia suave y redondeada. Las prominencias óseas no se pueden palpar, incluso con presión firme. Abundante grasa en torno a la inserción de la cola. | Esternón abultado en grasa | Área inguinal abultada en grasa | Redondeado | Desapercibido por la grasa |

Figura 1. Sistema de evaluación de condición corporal para llamas y alpacas (Cebra et al., 2014).

3.3.2. Colección de semen y dilución

La colecta de semen se realizó por el método post cópula durante la época reproductiva entre los meses de enero - marzo, para lo cual, se utilizaron 6 alpacas machos reproductores y 6 alpacas hembras adultas vacías, con cuatro semanas



postparto, sin alteraciones reproductivas y receptivas al macho. Cada hembra fue empadrada con un macho, al término de la monta, se insertó un espéculo vaginal para la colección del semen depositado en la vecindad de la os externa del cérvix donde fue depositado en un tubo de vidrio graduado y manteniéndolos en un Baño María a 35 °C. La evaluación de los parámetros de la calidad seminal se realizó a los 10 minutos de la colección (volumen, color, concentración, motilidad, viabilidad y HOST (Tés hipo osmótico). Solo las muestras con (volumen ≥ 1 ml y motilidad total ≥ 60 %) fueron incluidos en el estudio.

Para la dilución de las muestras de semen se utilizó una solución (TGC) compuesto por 0.3 M Tris, 27.72 mM Glucosa; 94.71 mM Ácido Cítrico, ajustada a un pH 7.25 ± 0.05 y una osmolaridad de 333.0 ± 2.80 mOsm/L. A esta solución se le añadió tilosina 0.1 mg/ml, gentamicina 0.5 mg/ml y lincomicina 1.8 mg/ml y yema de huevo fresco de gallina, a una concentración final de 20 % (v/v).

3.3.3. Análisis de los parámetros de calidad seminal

A) Evaluación Macroscópica

Volumen

El volumen del semen se midió en tubos falcon estériles graduados en mililitros (ml), para facilitar la lectura del volumen del semen colectado, donde la lectura se dio a través del examen visual.

Color

El color del semen se determinó progresivamente al volumen a través de la observación directa, para lo cual los tubos falcón eran transparentes. El color fue clasificado como rojo claro, rojo oscuro, blanco lechoso y blanco cristalino (Alarcón et al., 2012).

B) Evaluación microscópica

Evaluación de la Motilidad subjetiva

Cada eyaculación se evaluó inmediatamente después de la colección, se determinó la identificación por microscopia de contraste de fase a un aumento de 100x. Se depositó 20 μ l de semen en una lámina portaobjetos atemperada a 37°C y luego se cubrió con lámina cubreobjetos a la misma temperatura para ello se utilizó una platina temperada, donde la motilidad se considera como porcentaje de espermatozoides en movimiento oscilante en un campo microscópico (Quispe, 1987).

Tabla 6. Calificación subjetiva de la motilidad espermática de la alpaca.

| Motilidad | % |
|-----------|-------|
| Buena | > 60 |
| Regular | 40-60 |
| Baja | <40 |

Una vez completada la evaluación, se tomaron los siguientes criterios de selección, volumen de eyaculado (>1 ml), que tengan el color de rojo claro o blanco lechoso y una buena motilidad subjetiva ($\geq 60\%$), los eyaculados con estas características fueron utilizados para la inseminación y los demás eyaculados con valores diferentes fueron descartados.

Concentración espermática:

Se determinó en una cámara de Neubauer. Una muestra de semen se diluyó 1:50 o 1:100, según a la evaluación previa de la motilidad, en una solución de NaCl al 3%. La concentración espermática se expresó en millones de espermatozoides por mililitro.



Viabilidad espermática:

Para determinar la cantidad de células espermáticas vivas y muertas, se realizó un frotis con colorante Hancock cuya composición es Eosina y Nigrosina. En una lámina porta objetos precalentado (37°C) se colocó 10µl de semen y 10µl de Hancock, luego de la homogenización se realizó el frotis colocando otra lamina porta objetos en un ángulo de 45°, se obtuvo una fina imagen y se dejó secar a temperatura ambiente, se examinó con microscopio a un aumento de 40x evaluando 200 células espermáticas por lámina. Los espermatozoides coloreados se consideran muertos y los sin colorearse vivos (Hancock, 1957).

Test hipo osmótico (Host):

Para evaluar la integridad de la membrana espermática se utilizó una solución hipo-osmótica de 50 mOsm/Kg cuya composición fue la siguiente Citrato de sodio 0.00245 gr y Fructosa 0.045 gr para 10ml de agua destilada (Ccalta et al., 2017).

La solución hipo osmótica se colocó en un tubo de ensayo y se agrego la muestra de semen (con una dilución de 1 de semen y 10 de solución hipo osmótica) y se incubó en un promedio de 1 hora a 1 hora 30 minutos a 37°C. Luego la solución se homogenizó en un bortex por 10 segundos, se colocó sobre un portaobjetos 10µl de semen y 10µl de la tinción de Hancock. Donde se realizó el frotis colocando otra lámina porta objetos en ángulo de 45°, donde se obtuvo una imagen fina y se dejó secar a temperatura ambiente (García et al., 2017).

La lectura se visualizó en un microscopio, contándose 100 espermatozoides en una magnificación de 40x, los espermatozoides con cola enrollada e hinchada se consideraron con reacción positiva.

$$TH = e/Tx100$$



Donde:

TH = Porcentaje de test hipo-osmótico

e = Número total de espermatozoides con cola enrollada

T = Número total de espermatozoides contados

Evaluación de la Morfología espermática

La visualización se realizó de la misma forma, realizando un frotis con el colorante de Hancock, examinando con el microscopio a 100x y evaluando 200 células espermáticas por lámina.

3.3.4. Determinación del diámetro folicular e Inseminación Artificial.

Para la determinación y evaluación del diámetro folicular en las alpacas madres vacías y con cría se le realizaron evaluaciones por ultrasonografía transrectal previamente a la selección de las 115 alpacas que cumplieron los criterios del diámetro folicular. Los animales que presentaron un folículo preovulatorio de $\geq 7 \leq 9$ mm o $\geq 10 \leq 12$ mm fueron distribuidas en grupos:

Tabla 7. Diámetro folicular a la inseminación folicular.

| Condición fisiológica | Número | Diámetro folicular |
|------------------------------|---------------|---------------------------|
| Alpacas madres vacías | 28 | $\geq 7 \leq 9$ mm |
| Alpacas madres vacías | 25 | $\geq 10 \leq 12$ mm |
| Alpacas madres con cría | 37 | $\geq 7 \leq 9$ mm |
| Alpacas madres con cría | 25 | $\geq 10 \leq 12$ mm |
| Total de alpacas | 115 | |

Las 115 alpacas seleccionadas por tamaño folicular, las inducimos a la ovulación con la administración intramuscular de 1 ml de buserelina acetato (Conceptase®, Laboratorio Agrovvetmarket, Perú) por cada animal.



A las alpacas las inseminamos pasada las 26-30 h post inducción a la ovulación, con semen fresco diluido a 35 °C. Para la inseminación, se hizo la limpieza a nivel de la región vulvar con una toalla húmeda a lo cual se introdujo el espéculo vaginal para identificar la os externa del cérvix. El semen fresco diluido (1 ml) a una concentración de 30 a 40 millones/ml fue cargado en una pipeta de inseminación de vacunos lo cual que se depositó en el cuerpo del útero.

3.3.5. Evaluación de la Tasa de Preñez

El diagnóstico de preñez fue evaluado en cada grupo de animales realizada a los 30 días post inseminación artificial mediante ecografía.

A la ecografía se observó la presencia de la vesícula embrionaria dentro del útero donde se confirmó la fertilidad de las hembras y las hembras que no se observó la presencia de vesícula embrionaria se les considero como vacía.

Luego se determinó la tasa de fertilidad con la siguiente fórmula:

$$TF = \frac{\text{Número de hembras fertilizadas}}{\text{Número de hembras inseminadas}} \times 100\%$$

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el programa Ji-Cuadrada. Se empleó estadística descriptiva para determinar: color, volumen, motilidad, concentración, viabilidad y HOST+. Para evaluar el porcentaje de preñez se utilizó la prueba no paramétrica de Ji-cuadrado.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación macroscópica del semen fresco

4.1.1 Volumen

El promedio del volumen semen fresco de alpacas colectadas por el método de post cópula, se muestra en la tabla siguiente.

Tabla 8. Volumen de semen fresco de alpacas colectadas por método post cópula

| Macho | n | Promedio (ml) | DS | Max. (ml) | Min. (ml) |
|-------|----|------------------|------|-----------|-----------|
| 1 | 5 | 3.74 | 1.71 | 13.00 | 0.50 |
| 2 | 6 | 4.88 | 3.09 | 5.00 | 1.00 |
| 3 | 5 | 3.50 | 2.70 | 9.50 | 1.00 |
| 4 | 5 | 4.04 | 3.06 | 6.50 | 0.50 |
| 5 | 5 | 3.03 | 3.08 | 9.50 | 0.50 |
| 6 | 5 | 2.08 | 2.99 | 7.50 | 0.50 |
| Total | 31 | 3.67 | 2.77 | 8.50 | 0.75 |

n= de colecta de semen

En la tabla anterior se observa volumen de semen fresco de alpacas colectadas por el método de post cópula, donde tuvieron un promedio de 3.67 ml de semen; lo cual es similar a Alarcón et al. (2012), quienes registran 3.6 ± 1.3 ml, por el mismo método. Mientras los otros autores como Murillo et al. (2018); Rios (2013) mostraron un promedio 3.73 ± 2.06 ml y 2.14 ± 1.72 ml, igualmente; Ccalta et

al. (2017); Narváez (2008); Quispe et al. (2015), reportaron valores de 3.73 ± 1.60 ml; 1.77 ± 1.29 ml y 2.63 ± 2.02 ml, respectivamente. Mientras García et al. (2021); Huillcahuaman (2012) reportan valores como 2.5 ± 0.93 ml y 2.5 ± 0.5 ml, respectivamente utilizando método post cópula. La diferencia de los valores del semen se debería al efecto individual del reproductor, también a las condiciones medio ambientales, frecuencia de colecta y manejo de los animales.

4.1.2 Color del semen

El color del semen fue evaluado según criterio del evaluador considerando los diversos colores, que se expresan en porcentajes.

Tabla 9. Color del semen (%) de alpacas colectadas por el método post cópula.

| Método de colecta | Color | % | total (%) |
|-------------------|-------------------|-------|-----------|
| PC | Rojo claro | 75.65 | 31(100%) |
| | Rojo oscuro | 10.32 | |
| | Blanco lechoso | 9.50 | |
| | Blanco cristalino | 4.53 | |

*PC=post cópula

La tabla 9 muestra, el color del semen colectado por el método post copula, en donde se observó 75.65% con coloración rojo claro, 10.32% con coloración rojo oscuro, blanco lechoso 9.50% y blanco cristalino 4.53%. esta diferencia se debería al tiempo ocurrido en la cópula, que a mayor tiempo la lesión de la mucosa de los cuernos uterinos aumentaría por ello las coloraciones de rojo claro y oscuro. No obstante que Ccalta et al., (2017) reportaron valores inferiores como 44.44 % de color rojo claro, la presencia de este color rojo claro en el semen de alpaca se debería a la fricción que

realiza el glande del pene durante la copula, ocasionado laceraciones y congestión en el endometrio del útero, como manifiesta Alarcón et al. (2012).

4.2. Evaluación microscópica del semen fresco

Tabla 10. Promedio de las variables microscópicas de los espermatozoides en semen fresco de alpacas, colectados por el método post cópula.

| VARIABLE | n | Promedio | ±D. S | C.V (%) | Min | Max |
|---|---|----------|-------|---------|-------|--------|
| Motilidad (%) | 6 | 70.10 | 10.51 | 15.21 | 60.32 | 89.59 |
| Concentración (Spz 10 ⁶ /ml) | 6 | 85.02 | 37.05 | 26.84 | 54.50 | 150.82 |
| Viabilidad (%) | 6 | 82.82 | 6.05 | 7.31 | 71.67 | 89.13 |
| Host (%) | 6 | 77.93 | 5.82 | 7.47 | 70.94 | 86.06 |
| Morfología (Normales %) | 6 | 73.58 | 8.49 | 11.54 | 64.17 | 84.62 |

n = Repeticiones

En la tabla 10 se observa las variables de las características microscópicas del semen de alpaca; donde la motilidad encontrada fue de 70.10%, concentración 85.02/Spz 10⁶/ml, viabilidad 82.82%, Host 77.93%, morfología normal 73.58%.

El porcentaje de motilidad del semen de alpaca colectado por el método post cópula es similar a lo reportado por Alarcón et al. (2012) 73.5%, Garcia et al. (2021) 70.29 % utilizando el método de colección post cópula; mientras los autores Ccalta et al. (2017); García et al. (2017) y Murillo et al. (2018) muestran resultados inferiores 13.6±7.3%; 61.7% y 57%, respectivamente; utilizando el mismo método de colección de Semen. Por otro lado, por el método de colección de semen por vagina artificial Choez et al. (2015); Huanca et al. (2011) reportaron resultados inferiores (20±23.83%; 45.9±26.1%) Así mismo, Choez et al. (2017) reportaron 67.85 ± 7.5% con espermatozoides del epidídimo Ordoñez et al. (2015) 57.96 %, utilizando el método de



electro eyaculación, y Zirena (2014) de $43.33 \pm 24.30\%$ utilizando el método vagina artificial. Por otro lado (Ccalta et al. (2017) por el método de desviación por conductos deferentes muestra un resultado ($30.34 \pm 15.65\%$); estas diferencias que se observan en el presente experimento solo se tomó en cuenta los eyaculados ($\geq 60\%$) y al método de obtención de semen (Hanzen et al., 2014).

El promedio de concentración de espermatozoide fue de 85.02×10^6 espermatozoides/ml que es superior a lo reportado por Alarcón et al. (2012); García y Alarcón (2019) quienes obtuvieron 75.2 y 73.8×10^6 esp/ml y menores a lo reportado por Paucar (2011) de 112 y 238.43×10^6 espermatozoides/ml; así mismo Ccalta et al. (2017) reportaron 296.32 ± 145.41 usando el método de colección desviación por conductos deferentes; estas diferencias encontradas se deberían al método de colección de semen, al intervalo de colección a la edad de los animales, época de colección y al método de evaluación que es importante mencionar por la presencia del plasma seminal en el semen. La viabilidad espermática de $82.82 \pm 6.05\%$ del semen fresco es superior a los reportados Ugarelli et al. (2017) de $60.43 \pm 13.38\%$; Choez et al. (2017) de $75.8 \pm 8.9\%$) quienes evaluaron los espermatozoides del epidídimo de la alpaca. De igual manera García et al. (2021) de $80.48 \pm 4.8\%$; Alarcón et al. (2012) de $75.3 \pm 7.22\%$ en espermatozoides colectados por el método post cópula y Ordoñez et al. (2013) de 59% ; Santiani et al. (2005) de 80% en espermatozoides colectados por el método de vagina artificial y electroeyaculación; estas diferencia se debe a que las muestras evaluadas en el presente trabajo fueron seleccionadas, método de colección de semen, método de evaluación, edad de los machos, frecuencia de colección y época del año.

La integridad de la membrana plasmática del espermatozoide obtenidos en el presente estudio de 77.93% es superior al reportado por García et al. (2017) $52.0 \pm 2.4\%$; Huanca (2015) de $57.68 \pm 8.91\%$; Pacheco et al. (2014) de $73.08 \pm 8.15\%$; Zirena (2014)

quien obtuvo 43.13 ± 17.59 %. De igual manera, es inferior a lo reportado por Choez et al. (2017) de $81.8 \pm 9.4\%$ en espermatozoides recuperados del epidídimo. Las diferencias encontradas por los diferentes autores se deberían en general a la técnica de evaluación, al método de colección del semen.

4.3. Evaluación de la tasa de preñez

Tabla 11. Tasa de preñez en alpacas inseminadas por efecto del tamaño folicular

| Estado fisiológico | Tamaño | Alpacas | Alpacas preñadas | |
|--------------------|------------|-------------|------------------|------|
| | folicular | inseminadas | n | % |
| Madres sin Cría | 7 a 9 mm | 28 | 14/28 | 50.0 |
| | 10 a 12 mm | 25 | 13/25 | 52 |
| Madres con Cría | 7 a 9 mm | 37 | 18/37 | 48.6 |
| | 10 a 12 mm | 25 | 14/25 | 56 |
| TOTAL | | 115 | 59/115 | 51.3 |

En la tabla 11, se observa tasa de preñez en alpacas por efecto del diámetro del folículo desarrollado; donde las alpacas sin cria mostraron 50% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y las alpacas sin cria de tamaño folicular 10 a 12 mm 52%. Igualmente las alpacas con cria mostraron 48.6% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y las alpacas con cria de tamaño folicular 10 a 12 mm 56, sin diferencia significativa ($p > 0.05$). El promedio general de la tasa de preñez fue de 51.3% de un total de 115 alpacas inseminadas. Estos resultados nos demuestran, que no existe efecto del tamaño folicular pre ovulatorio en los porcentajes de preñez en las alpacas; pero reportan valores contrarios como Skidmore et al. (1996) en camellos dromedarios, cuando utilizo 20 mg de Buserelina o 3000 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) a un grupo de camellas, para inducir la ovulación siempre y cuando los folículos en el



ovario de las camellas se encuentren en la fase correcta del ciclo folicular; lograron obtener tasa de ovulación de aproximadamente 80% con diámetro folicular de 10 y 19 mm de diámetro, pero este se redujo drásticamente a 12.5 % si el diámetro del folículo aumentó de 20 a 29 mm y en folículos > 30 mm no pudieron ovular, así como en folículos en fase de regresión; concluyeron señalando la mayor tasa de ovulación y preñez se obtiene cuando el folículo pre ovulatorio mide de 13 a 17 mm. Estos resultados contradictorios se dan por el factor especie, las ondas foliculares en la alpaca tiene una duración de 12 días y en las camellas dromedarias de 17 a 25 días con un tamaño folicular pre ovulatorio en las alpaca y camellas es de 7 a 12 mm y 10 a 30 mm, (Hanzen et al., 2014) complementados por la fisiología reproductiva hormonal, como otros factores propios de cada especie (Bravo et al., 2000; Skidmore, 2019)

Los resultados obtenidos en el presente estudio son superiores al reporte de Ordoñez et al. (2013), quienes obtienen 38 % y 33.3 % de preñez sin medir el diámetro folicular pre ovulatorio y solo empleando machos para detectar las hembras receptivas. Igualmente, Aller et al. (2003) registra tasa de gestación de 21 % en llamas hembras inducidas a la ovulación con análogo de GnRH, con inseminación a las 24 horas después de la inducción; mientras De la Vega (1996) logro obtener 40 % de preñez a la inseminación con semen fresco diluido sin medir el diámetro folicular, pero inducidos la ovulación con machos vasectomizados. Asimismo Apaza et al. (1999) obtienen 37 % de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco.

Los valores encontrados en el presente estudio se asemeja al de Alarcón et al. (2012), quienes reportaron tasa de preñez de 55% con semen colectado post cópula y 48 % con semen de la vagina artificial; así mismo, Murillo et al. (2018) reportan tasa de preñez del 53.33 % cuando inseminaron 60 alpacas con semen fresco diluido con Triladyl y Andromed. Por otra parte , García et al. (2019); García et al. (2017) obtienen 50 % y 50.5



% de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco diluido en Tris-Glucosa , logran obtener e inducidos a la ovulación con un análogo de GnRH, entre 26 a 30 horas; mientras Palián (2010), obtiene 53.1 % de preñez de 32 alpacas inseminadas con semen fresco inducidas con el análogo de GnRH (Acetato de busarelina), con presencia de un folículo dominante ≥ 7 mm donde la inseminación se realizó a las 27 horas post inducción.



V. CONCLUSIONES

- Los parámetros de calidad seminal obtenidos por el método post copula: Motilidad 70.10%, Concentración 85.02%, Viabilidad 82.82%, HOST 77.93%, Morfología 73.58%.
- La tasas de preñez de alpacas sin cria fue 50% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y en alpacas sin cria con tamaño folicular de 10 a 12 mm 52% sin diferencia significativa ($p>0.05$).
- La tasa de preñez de alpacas con cria fue 48.6% con tamaño folicular de 7 a 9 mm, y en alpacas con cria de tamaño folicular 10 a 12 mm 56%, sin diferencia significativa ($p>0.05$).



VI. RECOMENDACIONES

- Se debe inseminar con semen fresco diluido a las 26 – 30 h las alpacas que presentan un folículo pre-ovulatorio de $\geq 10 \leq 12$ mm para lograr altos porcentajes de preñez.
- Realizar trabajos de investigación similares con el objetivo de estandarizar protocolos de inducción a la ovulación con plasma seminal a la inseminación con semen fresco post-copula.
- Ensayar nuevos protocolos de dilutores para una mejor conservación de semen fresco.
- Comparar el semen colectado por el método post copula con la vagina artificial en la inseminación de camélidos sudamericanos.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba, M. A. (2014). Anatomy and physiology of reproduction in the female llama and alpaca. Llama and alpaca care. *Part: 3 Reproduction. Edition 1. Copyright 2014 by Saunders, Animprint of Elsevier Inc. Philadelphia, PA, USA*, 140–146.
- Aba, M. A., Forsberg, M., Kindahl, H., Sumar, J., & Edqvist, L. E. (1995). Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36(4), 489–498.
- Adams, G. P., Griffin, P. G., & Ginther, O. J. (1989). In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biology of Reproduction*, 41(3), 551–558. <https://doi.org/10.1095/biolreprod41.3.551>
- Adams, G. P., Ratto, M., Huanca, W., & Singh, J. (2005). Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biology of Reproduction*, 73(3), 452–457. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.040097>
- Adams, G., Sumar, J., & Ginther, O. (1990). Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *Reproduction*, 90(2), 535–545. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0900535>
- Alarcón, V., García, W., & Bravo, P. (2012). Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú* 23(1), 58–64.
- Aller, J., Cancino, A. k, Rebuffi, G. E., & Alberio, R. (1999). Inducción de la ovulación en llamas (ovulation induction in llamas). In *Proceedings of the Second World Congreso on Camelids, Cusco, Perú, 4-7 November* (p. 91).
- Aller, JF., Rebuffi, G., Cancino, A., & Alberio, R. (2003). influencia de la criopreservación sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*). *Archivos de Zootecnia*, 52, 15–23.



- Apaza, N., Alarcón, V., & Huanca, T. (1999). Avances sobre la inseminación artificial con semen congelado en alpacas. Paper presented to Proc II Congreso Mundial sobre Camélidos Cusco, Peru.
- Apaza, N., Sapaná, R., Huanca, T., & Huanca, W. (2001). Inseminación artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. *Rev Invest Vet, Perú, 1*, 435–438.
- Arthur, G. (1991). Reproducción y obstetricia veterinaria. *Editorial Interamericana*.
- Ávila, R. (2009). Efecto de la congelación y descongelación de semen equino, en dos diluyentes comerciales (en línea). *Tesis Med. Vet. Michoacan, Mexico, UMSNH.*, 34.
- Ávila, R. (2009). Efecto de la congelación y descongelación de semen equino, en dos diluyentes comerciales (en línea). In *Tesis Med. Vet. Michoacan, Mexico, UMSNH.* (p. 34).
- Banda, R., Evangelista, S., Ruiz, L., Sandoval, R., Rodríguez, L., Valdivia, C., ... A. (2010). Efecto de dilutores en base a Tris, Tes y leche descremada en la criopreservación de espermatozoides obtenidos del epidídimo de alpaca. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú 21(2)*, 145–153.
- Baquero, J., Pardo, P., & Cruz Casallas, P. (2004). Evaluación de dos diluyentes para la conservación de semen canino bajo condiciones de refrigeración: efectos del tiempo de refrigeración, grado de dilución y de la concentración de fructosa. *Trabajo de Tesis. Universidad de Los Llanos Meta, Colombia.*: 8:26-33, 8:26-33.
- Bianchi, C. P., Benavente, M. A., Simonetti, M., & Aba, M. A. (2018). Synchronization of time of ovarian follicular development in llamas (*Lama glama*) using a protocol based on GnRH and PGF(2 α). *Animal Reproduction Science, 192*, 200–



205. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.011>

- Bourke, D. A., Adam, C. L., & Kyle, C. E. (1992). Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). *The Veterinary Record*, *130*(19), 424–428. <https://doi.org/10.1136/vr.130.19.424>
- Bourke, D. A., Kyle, C. E., McEvoy, T. G., Young, P., & Adam, C. L. (1995). Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology*, *44*(2), 255–268. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00175-8](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00175-8)
- Bravo, P., Ccallo, M., & Garnica, J. (2002). The effect of enzymes on semen viscosity in llamas and alpacas. *Small Rumin Res*, *38*: 91-95.
- Bravo, P. W., Ccallo, M., & Garnica, J. (2000). The effect of enzymes on semen viscosity in Llamas and Alpacas. *Small Ruminant Research: The Journal of the International Goat Association*, *38*(1), 91–95. [https://doi.org/10.1016/s0921-4488\(00\)00142-5](https://doi.org/10.1016/s0921-4488(00)00142-5)
- Bravo, P. W., Flores, D., & Ordoñez, C. (1997). Effect of repeated collection on semen characteristics of alpaca. *Biol Reprod*, *57*, 520–524.
- Bravo, P. W., Flores, U., Garnica, J., & Ordoñez, C. (1997). Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology*, *47*(3), 619–626. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00020-4](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00020-4)
- Bravo, P. W., Fowler, M. E., Stabenfeldt, G. H., & Lasley, B. (1990). Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology*, *33*(4), 891–899. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90824-d](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90824-d)
- Bravo, P. W., Lasley, B. L., & Fowler, M. E. (1995). Resumption of Ovarian Follicular Activity and uterine involution in the postpartum llama. *Theriogenology*, *44*(95), 783–791. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00265-A](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00265-A)
- Bravo, P. W., Mayta, M. M., & Ordoñez, C. A. (2000). Growth of the conceptus in



- alpacas. *American Journal of Veterinary Research*, 61(12), 1508–1511.
<https://doi.org/10.2460/ajvr.2000.61.1508>
- Bravo, P. W., Pacheco, C., Quispe, G., Vilcapaza, L., & Ordonez, C. (1999).
DEGELIFICATION OF ALPACA SEMEN AND THE EFFECT OF
DILUTION RATES ON ARTIFICIAL INSEMINATION OUTCOME.
Archives of Andrology, 43(3), 239–246.
<https://doi.org/10.1080/014850199262562>
- Bravo, P. W., Stabenfeldt, G. H., Fowler, M. E., & Lasley, B. L. (1992). Pituitary
Response to Repeated Copulation and/or Gonadotropin-Releasing Hormone
Administration in Llamas and Alpacas¹. *Biology of Reproduction*, 47(5), 884–
888. <https://doi.org/10.1095/biolreprod47.5.884>
- Bravo, W. (1994). Reproductive Endocrinology of Llamas and Alpacas. *Veterinary
Clinics of North America: Food Animal Practice*, 10(2), 265–279.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30561-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30561-2)
- Bravo, W., Alarcon, V., Baca, L., Cuba, Y., Ordoñez, C., Salinas, J., & Tito, F. (2013).
Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American
camelids. *Anim Reprod Sci*, 136(3), 157–163.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.005>
- Bravo, W., Fowler, M., & Lasley, B. (1994). The postpartum llama: Fertility after
parturition. *Biology of Reproduction*, 51(6), 1084–1087.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod51.6.1084>
- Bravo, W., Fowler, M., Stabenfeldt, G., & Lasley, B. (1990). Ovarian follicular dynamics
in the llama. *Biology of Reproduction*, 43(4), 579–585.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod43.4.579>
- Bravo, W., Skidmore, A., & Zhao, X. (2000). Reproductive aspects and storage of semen



- in camelidae. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 173–193.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00158-5](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00158-5)
- Bravo, W., Stabenfeldt, G., Lasley, B., & Fowler, M. (1991). The Effect of Ovarian Follicle Size on Pituitary and Ovarian Responses to Copulation in Domesticated South American Camelids¹. *Biology of Reproduction*, 45(4), 553–559.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.553>
- Bravo, W., & Sumar, J. (1989). Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Animal Reproduction Science*, 21(3), 271–281.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90034-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90034-1)
- Brown, B. (2000). A review on reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci*, 58, 169–195.
- Burgel, H., Erhardt, G., & Gauly, M. (2000). Cryopreservation of llama (*Lama glama*) semen. *Reprod Domest Anim.*, 35, 26.
- Bustinza, V. (2001). La Alpaca: Crianza, Manejo y Mejoramiento. *Puno, Perú, Editorial Universitaria 1 Ed.*, 343.
- Canorio, N., Paredes, F., & Valdivia, F. (2015). Agentes crioprotectores alternativos para el congelamiento lento de espermatozoides epididimarios de alpaca (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú* 26(3):, 434–443.
- Cavilla, M. V, Bianchi, C. P., Maistruarena, C., & Aba, M. A. (2013). Ultrasonographic and endocrine characterization of follicular waves in llamas with a special reference to the overlapping phenomenon during successive waves. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 48(6), 923–930.
<https://doi.org/10.1111/rda.12187>
- Ccalta, R., Ordoñez, C., Ampuero, E., & Cucho, H. (2017). EFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN EN LA MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE



- DE ALPACA. *SPERMOVA*, 7, 100–105. <https://doi.org/10.18548/aspe/0005.17>
- Chen, B., Yuen, Z., & Pan, G. (1985). Semen-induced ovulation in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *J Reprod Fert.*, 73, 335–339.
- Choez, K., Arriaga, I., Terreros, M., Condori, R., Arroyo, G., & Huanca, W. (2015). Características del semen de alpacas obtenido por electroeyaculación y su motilidad durante la refrigeración. *Spermova*, 5(1), 42–46. <https://doi.org/10.18548/aspe/0002.9>
- Choez, K., Evangelista, S., & Santiani, A. (2015). COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE LAS ALPACAS HUACAYA Y SURI. *Spermova*, 5(1), 139–143.
- Choez, K., Ruiz, L., Sandoval, M., Evangelista, S., & Santiani, A. (2017). Determinación de la Concentración Óptima de Tres Crioprotectores para la Criopreservación de Espermatozoides Epididimarios de Alpaca, 28(3), 619–628.
- Choez K, Evangelista S, Castillo R, & Santiani A. (2013). Effect of the initial motility and different concentrations of glycerol on the cryopreservation of epididymal alpaca sperm SPERMOVA *Spermova*. 2013; 3(1): 83-84, 3(1), 83–84.
- Cortes, S. (1997). Efecto de la conservación sobre la fisiología espermática de semen caprino. *Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencia Biológicas. Tesis de Grado Doctorado.*
- De la Vega, D. (1996). Efecto de la concentration espermatica y la hora de inseminacion artificial con semen fresco sobre el porcentaje de gestacion en alpacas. *MVZ Tesis, Facultad Medicina Veterinaria Universidad Nacional Altiplano.*, 54.
- Director, A., Giuliano, S., Trasorras, V., Carretero, I., Pinto, M., & Miragaya, M. (2007). Electroejaculation in llama (*Lama glama*). *Journal of Camel Practice and Research*, 14(2), 203–206.



- England, B., Foote, W., Cardozo, A., Matthews, D., & Riera, S. (1971). Oestrus. and mating behaviour in the llama (*Lama glama*). *Anim. Behav*, *19*, 722–726.
- Fernández-Baca, S. (1971). “La alpaca reproducción y crianza”. *IVITA-UNMSM, Lima-Perú.*, n°7.
- Fernández-Baca, S. (1993). Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Anim Reprod Sci*, *33*, 307–323.
- Fernández-Baca, S., & Calderon, M. (1996). Métodos de colección de semen de la alpaca. *Rev. Fac. Med. Vet. UNMSM.*, *18-20* : 13.
- Fernández-Baca, S., Madden, D. H., & Novoa, C. (1970). Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *Journal of Reproduction and Fertility*, *22*(2), 261–267. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0220261>
- Fernández-Baca, S., & Novoa, C. (1968). Conducta sexual de la alpaca (*Lama pacos*) en empadre en campo. *En: Resúmenes de Las Investigaciones Del IVITA En CSA. Publicación IVITA N° 25.*
- Fernández-Baca, S., Sumar, J., Novoa, C., & Leyva, V. (1973). Relacion entre la ubicacion del cuerpo luteo y la localizacion de embrion en la alpaca. *Rev. Inv. Pec. (IVITA). UNMSM*, *2*(2), 131–135.
- Fernandez, A. (2003). Dinámica folicular: Funcionamiento y regulación. Departamento de reproducción animal. *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montevideo, Uruguay.*
- Ferrer, M. S., Agüero, A., Chaves, M. G., Russo, A. F., & Rutter, B. (2002). Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). *In Vet*, *4*(1), 7–11.
- Fortune, J. E., Sirois, J., Turzillo, A. M., & Lavoit, M. (1991). Follicle selection in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, *43*,



187–198.

- Fowler, M. (1998). *Medicine and surgery of South American Camelids. Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco. 2ed Iowa. Blackwell Publishing.*, 560 p.
- Frank, E. N. (1999). Manejo reproductivo de Camelidos Sudamericanos domesticos. In *Universidad Catolica de Cordoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Plan de Camelidos Domesticos Argentinos. Cordoba Argentina.* (pp. 1–3).
- Galina, C., Saltiel, A., & Valencia, J. (1986). *Reproducción de los Animales Domésticos. México – México: Editorial Limusa.*
- García V., W., & Alarcón B., V. (2019). Efecto de la inseminación artificial con semen fresco, con uno y dos servicios, en la fertilidad y natalidad de las alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(2), 760–767.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16072>
- García V., W., Alarcón B., V., & Bravo M., W. (2017). Artificial insemination of alpacas with refrigerated semen and the inclusion of two types of egg yolk. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 28(2), 337–344.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13080>
- García V., Wilber, & Alarcón B., V. (2019). Efecto de la inseminación artificial con semen fresco, con uno y dos servicios, en la fertilidad y natalidad de las alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(2).
<https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16072>
- García, W. (2015). Nueva metodología de colección de semen e inseminación artificial en alpacas y llamas. *En: VII Congreso Mundial En Camélidos Sudamericanos. Puno, Perú.*
- García, W., Alarcón, V., & Bravo, P. (2017). Inseminación artificial de alpacas con semen refrigerado y con inclusión de dos tipos de yema de huevo. *Revista de*



- Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(2), 337–344.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13080>
- García, W., Maxi, E., Macedo, V., Mendoza, E., Cardenas, N., & Malaga, J. (2021). Effect of two cryopreservation methods on seminal quality and pregnancy rate in alpacas induced to ovulation with seminal plasma. *Spermova*, 10(2), 74–80.
<https://doi.org/10.18548/ASPE/0008.11>
- García, W., Pezo, D., San Martín, F., Olazabal, J., & Franco, F. (2005). MANUAL DEL TÉCNICO ALPAQUERO. In *IVITA-UNMSM, Lima ITDG LA*, (p. 105).
- Garnica, J., Achata, R., & Bravo, P. W. (1993). Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Animal Reproduction Science*, 32(1), 85–90.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90059-Z](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90059-Z)
- Gigli, I., Russo, & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*, 8(1), 183–204.
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Donadeu, F. X., & Bergfelt, D. R. (2003). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, 78(3–4), 239–257. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00093-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00093-9)
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., & Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 55(6), 1187–1194.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod55.6.1187>
- Giuliano, Director, A., Gambarotta, M., Trasorras, V., & Miragaya, M. (2008). Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*, 104(2), 359–369.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.016>
- Giuliano, S., Chaves, M., Trasorras, V., Gambarotta, M., Neild, D., Director, A., & Miragaya, M. (2012). Development of an artificial insemination protocol in



- llamas using cooled semen. *Anim Reprod Sci*, 131, 204–210.
- Giuliano, S. M. (2012). Extracción y evaluación de semen de Camélidos Suadamericanos. *Spermova*, 2(1), 6–9.
- Gonzales, M., Huanca, T., & Cárdenas, O. (2011). Evaluación de la fertilidad en alpacas inseminadas con semen refrigerado a diferentes tiempos post inducción de ovulación. *Spermova*, 1(1), 64–65.
- Hafez, E. (2000). *Reproduccion e insemination artificial en animales*. Mc Graw Hill (Septima ed). Mexico.
- Hafez, E. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7ma Edición. Editorial Mc Graw Hill. Madrid ,España.
- Hafez, ESE, & Hafez, B. (2002). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7 Ed. México D.F., México, Editorial McGraw-Hill Interamericana., 519.
- Hancock, J. L. (1957). The morphology of boar spermatozoa. *Journal. Royal Microscopical Society (Great Britain)*, 76(3), 84–97.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1956.tb00443.x>
- Hanzen, C., Cucho, H., Ampuero, E., Ordoñez, C., & Sumar, J. (2014). Principios de la Reproducción de los Camélidos Sudamericanos. *UNSAAC. Cusco-Perú.*, 58–59.
- Hu, J., Li, Q., Zan, L., Jiang, Z., An, J., Wang, L., & Jia, Y. (2010). The cryoprotective effect of low/density lipoproteins in extenders on bull spermatozoa following freezing/thawing. *Animal Reproduction Science*, 117: 11-17.
- Huanca, N. (2015). Índice de fragmentación de ADN espermática en semen de alpacas (vigcuna pacos) utilizando el integrated system-ISAS. *Tesis FAZ.UNSAAC, Cusco, Perú.*
- Huanca, T., Ccopa, J., Mamani, R. H., & Sumar, J. (2018). Impacto de la inducción de la ovulación en la aplicación de la Inseminación artificial y múltiple ovulación en



- transferencia de embriones en camélidos. *Spermova*, 8(1), 49–53.
<https://doi.org/DOI.10.18548/aspe/0006.05>
- Huanca, T., Mamani, R., Naveros, M., Pacheco, J., & Condori, N. (2011). Variación individual y estacional de las características seminales en la alpaca (*Vicugna pacos*). *Spermova*, 1(1), 98–100.
- Huanca, W. (2012). Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos domésticos como alternativas para la mejora genética. *XI Congreso Venezolano de Producción Animal. VI Congreso de Ganadería Doble Propósito*.
- Huanca, W, Cárdenas, O., Olazábal, C., Ratto, M., & GP, A. (2001). Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev. Investing. Vet. Perú.*, 1, 462–463.
- Huanca, Wilfredo, Cordero, A., & Adams, G. P. (2007). Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos: avances y perspectivas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*, 15(1), 195–201. Retrieved from <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/53086>
- Huillcahuaman, R. (2012). Inseminación artificial en alpacas huacaya con semen fresco, refrigerado y congelado. *Tesis de Pregrado UNSAAC Cusco-Perú*.
- Jeyendran, R., Van Der Ven, H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B., & Zaneveld, L. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70(1), 219–228.
- Kershaw-Young, C., & Maxwell, W. (2011). Advancing Artificial Insemination in Camelids, Particularly the Alpaca (en línea). In *Sydney, Australia, RIRDC*. (p. 99). Retrieved from <https://cdn.harper-adams.ac.uk/document/project/150604-Advancing%02Artificial-Insemination-in-Alpacas423506.pdf>



- Komatsu, K., & Masubuchi, S. (2016). Observation of the dynamics of follicular development in the ovary. *Reprod Med Biol*, 16(1), 21–27. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12010>
- Lamia, A., Anton, M., & Tainturier, D. (2005). Modifications of bull spermatozoa induced by three extenders: Biociphos, low density lipoprotein and Triladyl, before, 80 during and after freezing and thawing. *2Reproduction*129, 535–543.
- Leyva, V., & Garcia, W. (1999). Efecto de la prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. In *II Congreso Mundial sobre Camelidos* (p. 88).
- Leyva, V., & Sumar, J. (1981). Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpaca de un año de edad. *En: IV Conv. Internacional Camélidos Sudamericanos. Punta Arenas, Chile.*
- Lichtenwalner, A., Woods, G., & Weber, J. (1996). Ejaculatory patterns of llama during copulation. *Theriogenology*, 46: 285-29.
- MazuR, P. (1984). Freezing and living cells: mechanism and implications. *Am J Physiol – Cell Physio*, 125–142.
- McEvoy, T., Kyle, C., Slater, D., Adam, C., & Bourke, D. (1992). Collection evaluation and cryopreservation of llama semen. *J Reprod Fertil*, 9, 48.
- McGee, E., & Hsueh, A. (2000). Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles*. *Endocrine Reviews*, 21(2), 200–214. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.2.0394>
- Medeiros, C., Forel, F., Oliveira, A., & Rodrigues, J. (2002). Current status of sperm cryopreservation. *Theriogenology* 57, 327–344.
- Miragaya, M. H., Chaves, M. G., & Agüero, A. (2006). Reproductive biotechnology in South American camelids. *Small Ruminant Research*, 61(2–3), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.017>
- Mogrovejo, D. (1952). Estudio del semen de la alpaca. *Tesis de Médico Veterinario.*



Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos., 27 p.

- Morton, K., Gibb, Z., Bertoldo, M., & Maxwell, W. (2009). Effect of diluent, dilution rate and storage temperature on longevity and functional integrity of liquid stored alpaca (*Vicugna pacos*) semen. *Journal of Camelid Science*, 2, 15–25.
Retrieved from <http://ntserver1.wsulibs.wsu.edu:2347/cabdirect/FullTextPDF/2010/20103141027.pdf>
- Moussa, M., Marinet, V., Trimeche, A., Tainturier, D., & Anton, M. (2002). Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57, 1695–1706.
- Muiño, R. (2008). Evaluacion de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometria de flujo: Identificacion de subpoblaciones espermaticas. *Tesis de Doctorado, Univrsidad Santiago de Compostela.*
- Murillo, Y., Calsin, B., & Huanca, T. (2018). TASA DE FERTILIDAD A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y MÉRITO ECONÓMICO EN ALPACAS HUACAYA. *REVISTA DE INVESTIGACIONES DE LA ESCUELA DE POSGRADO*, 7(051), 717–727. <https://doi.org/10.26788/riepg.2018.3.94>
- Narváez, G. (2008). Inseminación artificial en alpacas con semen congelado, colectado de vagina natural post coital y vagina artificial. *Tesis Ing. Zoot. Cusco, Perú, UNSAAC.*
- Neely, D., & Bravo, P. W. (1998). Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. *Youngquist RS*, 787–792.
- Nikjou, D., Niasari-Naslaji, A., Skidmore, J. A., Mogheiseh, A., Razavi, K., Gerami, A., & Ghanbari, A. (2008). Synchronization of follicular wave emergence prior to superovulation in Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Theriogenology*, 69(4),



491–500. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.020>

- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*, 80(1), 1–29. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.1.1>
- Novoa, C. (1970). Reproduction in Camelidae. *J Reprod Fert*, 22, 3–20.
- Novoa, C. (1989). Reproduccion. In: Simposio de produccion de alpacas y llamas. *XII Reunion Cientifica Anual. Appa. Perú.*
- Novoa, C., & Leyva, V. (1996). Reproduccion en alpacas y llamas. In *Fondo Contravalor Perú-Suiza, CISA/IVITA, Fac. Med Vet Univ Nac Mayor de San Marcos (Serie Publ IVITA N°26)* (p. 30).
- Olaguivel, C., & Naveros, M. (2014). No Efecto de la enzima colagenasa en la congelación de semen en alpacas (*Vicugna pacos*). *Spermova* 4(1), 64.
- Ordoñez, C., Ampuero, E., Alarcón, V., Franco, E., Hanzen, C., & Cucho, H. (2015). Evaluación de tres dilutores en la criopreservacion de semen de alpaca (*vicugna pacos*) en pellets. *Spermova*, 5(1), 119-123.
- Ordoñez, C., Cucho, H., Ampuero, E., Antezana, W., & Cayo, S. (2013). Inseminación Artificial de Alpacas con Semen Fresco, Refrigerado y Descongelado Colectado por Electroeyaculación. *Spermova*, 3(1:), 65–66.
- Pacheco-Curie, J. I., Mamani-Cato, R., Franco, F., Zea, O., Pezo, D., & Vélez, V. (2014). Artículo corto: EFECTO DE LA OSMOLARIDAD SOBRE LA RESPUESTA ENDOSMÓTICA EN ESPERMATOZOIDES DE EPIDIDIMO Y EYACULADOS DE ALPACA (*Vicugna pacos*) Osmolarity effect of endosmotic response on epidymis sperm and ejaculated alpaca (*Vicugna pacos*). *Spermova*, 4(1), 36–38.



- Pacheco, J. (2008). Methods of semen collection in south american camelids. *Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(4), 1–15. Retrieved from <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040806.pdf>
- Pacheco, J, Mamani, R., & Deza, H. (2011). Colección de semen mediante electroeyacuación de vicuñas mantenidas en cautiverio. *Spermova*, 1, 131–133.
- Pacheco, JI., Mamani, R., Franco, F., Zea, O., Pezo, D., & Vélez, V. (2014). Comparación de dos métodos físicos en el tratamiento del semen fresco de alpaca y su relación con la calidad espermática post congelación. *Spermova*, 4(1), 36–38.
- Palián, J. W. (2010). Inducción de ovulación con plasma seminal o análogo de GnRH (acetato de Buselerina) y su efecto sobre la tasa de concepción en alpacas (vicugna pacos), inseminadas con semen fresco. *Tesis de Medico Veterinario. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 66–84.
- Paricahua, E. (2001). Evaluación del eyaculado sin la secreción de las glándulas anexas en alpaca. *Tesis Med. Vet. Puno, Perú, UNA*.
- Paucar, A. D. (2011). Evaluación de cuatro dilutores comerciales en la congelación de semen de alpacas colectados con vagina artificial y post copula. (*Tesis de Pregrado*). UNSAAC, Cusco, Perú.
- Perez, G. (1997). Avances en la Inseminación Artificial en Camélidos. *Seminario Internacional de Camélidos Sudamericano*, 97–107.
- Perez, G. (2015). Fisiología de la Reproducción. In *Version Preliminar* (p. 5).
- Quina, E. Y. (2017). *Inseminación artificial de alpacas en un contexto de crianza campesina*. Retrieved from http://www.desco.org.pe/inseminacion-artificial-de-alpacas-en-un-contexto-de-crianza-campesina%0Ahttp://www.descosur.org.pe/wp-content/uploads/2018/01/LIBRO_publicado.pdf



- Quispe, A. H., Ciprián, R., Ordoñez, C., Ampuero, E., & Cucho, H. (2015). Test hipoosmótico en espermatozoides de alpaca (vicugna pacos) recuperados del conducto deferente., 5(1), 10–14.
- Quispe, F. (1987). Evaluación de Las Características Físicas del semen de la Alpaca (Lama Pacos) Durante la Época de Empadre. *Tesis. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A. Puno. Perú.*
- Rasul, Z., Ahmed, N., & Anzar, M. (2007). Antagonist effect od DMSO on the cryoprotection ability of glicerol during cryopreservation of buffalo sperm. *Theriogenology* 68, 813–819.
- Ratto, M. H., Huanca, W., Singh, J., & Adams, G. P. (2005). Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*, 3, 29. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-29>
- Ratto, M. H., Silva, M. E., Huanca, W., Huanca, T., & Adams, G. P. (2013). Induction of superovulation in South American camelids. *Animal Reproduction Science*, 136(3), 164–169. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.006>
- Raymundo, F., Huanca, W., Huertas, S., & Gauly, M. (2000). Influence of different extender son themotility in alpaca (Lama pacos) semen. In *2nd Intcamelidconferenceagroeconomics of camelfarming Almaty. Kazakhstan.*
- Rios, C. . (2013). Categorización de alpacas macho reproductores huacaya blanco del CICAS - La Raya de acuerdo a las características fenotípicas, la calidad de fibra y semen. *UNSAAC, Cusco, Perú.*
- Salomon, S., & Maxwell, W. (2000). No Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62: 77-111.



- San Martin, M., Copaira, M., Zuniga, J., Rodreguez, R., Bustinza, G., & Acosta, L. (1968). Aspects of reproduction in the alpaca. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3), 395–399. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0160395>
- Sandoval, R. (2005). Criopreservación de semen ovino empleando diferentes dilutores y combinaciones de agentes crioprotectores permeantes y no permeantes. In *Tesis Med. Vet. Lima, Perú, UNMSM*. (p. 81).
- Santiani, A., Huanca, W., Sapaná, R., Huanca, T., Sepúlveda, N., & Sánchez, R. (2005). Effects on the quality of frozen-thawed alpaca (*Lama pacos*) semen using two different cryoprotectants and extenders. *Asian Journal of Andrology*, 7(3), 303–309. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2005.00021.x>
- Sato, A., & Montoya, L. (1990). Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*), Anatomia macroscopica. *Rev. Camelidos Sudamericanos UNMSM – IVITA – CICC*, 7, 13.
- Senger, P. (2003). Pathways to pregnancy and parturition. *Second Edition Revised. Current Conceptions, Inc. Pullman, Washington, USA*.
- Senger, P. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. In *2° ed EE.UU.Cadmus Professional Communications*. (p. 373).
- Silva, A. R. (2007). Atualidades sobre a criopreservação do sêmen de cães. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 31, 119–127.
- Skidmore, J. A. (2019). The use of some assisted reproductive technologies in old world camelids. *Animal Reproduction Science*, 207, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.001>
- Skidmore, J. A., Billah, M., & Allen, W. R. (1996). The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non-mated one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 106(2), 185–192.



<https://doi.org/10.1530/jrf.0.1060185>

- Stevenson, J. (2007). Clinical reproductive physiology of the cow. In *Current Therapy in large animal. Theriogenology*. (2° ed. USA, pp. 258–270).
- Sumar, J. (1983). Studies on reproductive pathology in alpacas. Msc thesis, Department of obstetrics and gynecology, veterinary medicine faculty, swedish university of agrarian sciences, uppsala, sweden. (p. 90).
- Sumar, J. (1985). Reproductive physiology in South American Camelids. En Land RB, Robinson DW. In *Genetics of Reproduction in Sheep. Butterworths. London*. (pp. 81–95).
- Sumar, J. (1993). Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y llamas. *Rev Inv Pec. IVITA. Unmsm. Lima. Perú.*, 6(1), 17–21.
- Sumar, J. (2002). Reproduccion e inseminacion artificial en alpaacs y llamas. In *Ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. De C.V. México DF* (Vol. 7° ed. en, pp. 224–242).
- Sumar, J. B. (1996). Reproduction in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science*, 42(1), 405–415. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01538-2](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01538-2)
- Sumar, J., & Bravo, P. W. (1991). In situ observation of the ovaries of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(9), 1159–1163.
- Sumar, J., & Leyva, V. (1981a). Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca (*Lama pacos*). In *En Resumen, del IV Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos, Punta Arenas, Chile* (p. 12).
- Sumar, J., & Leyva, V. (1981b). Rol del cuerpo lúteo en el mantenimiento de la preñez en la alpaca (*Lama pacos*). In *Res. IV Conv. Internac. Sobre Camélid- Sudaméric (22- 27 noviembre) Chile, Punta Arenas* (p. 7).



- Tibary, A. (2018). Monitoring and controlling follicular activity in camelids. *Theriogenology*, *109*, 22–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.011>
- Tibary, A., & Vaughan, J. (2006). Reproductive physiology and infertility in male south American camelids: A review and clinical observations. *Small Rumin Res*, *61*, 283–298.
- Torres R. (2006). Evaluación de la fertilidad en alpacas (Vicugna pacos) de la raza Huacaya a través de inseminación artificial con 2–3 siembras y usando un dilutor, en el distrito de Palca, Provincia de Lampa, Puno. *Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Arequipa, Perú: Univ. Católica Santa María.*, 87.
- Ugarelli, A., Evangelista-Vargas, S., & Santiani, A. (2017). Evaluation of acrosome integrity in epididymal alpaca sperm by flow cytometry. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *28*(1), 130–140. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12947>
- Vaughan, J., Galloway, D., & Hopkins, D. (2003). Artificial insemination in alpacas (Lama pacos). In *A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Barton ACT, Australia, RIRDC* (p. 98).
- Vaughan, J. L., Macmillan, K. L., Anderson, G. A., & D'Occhio, M. J. (2003). Effects of mating behaviour and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Australian Veterinary Journal*, *81*(1–2), 86–90. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb11442.x>
- Vaughan, J. L., Macmillan, K. L., & D'Occhio, M. J. (2004). Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Animal Reproduction Science*, *80*(3–4), 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.08.002>
- Zirena, N. (2014). Comparación de dos métodos físicos en el tratamiento del semen fresco de alpaca y su relación con la calidad espermática post congelación. (*Tesis de Pregrado*). UNMSM, Lima, Perú.

ANEXOS

ANEXO 1: Análisis estadístico ji-cuadrada de crecimiento folicular sobre la tasa de preñez.

| | | GRUPOS EXPERIMENTALES | | | | TOTAL |
|--------|---|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-------|
| | | 7 a 9 mm | | 10 a 12 mm | | |
| | | O | E | O | E | |
| PREÑEZ | V | 33 | 31.65 | 23 | 24.35 | 56 |
| | | X ² =0.058 | | X ² =0.075 | | |
| | P | 32 | 33.35 | 27 | 25.65 | 59 |
| | | X ² =0.055 | | X ² =0.071 | | |
| TOTAL | | 65 | | 50 | | 115 |

| | |
|-----------------------------------|--------|
| X ² Calculado = | 0.259 |
| X ² Tabla α 0.05 (2) = | 3.8415 |

ANEXO 2: Análisis estadístico Ji- cuadrado de crecimiento folicular sobre las hembras con cría y sin cría.

| | | GRUPOS EXPERIMENTALES | | | | TOTAL |
|--------|-----------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-------|
| | | 7 a 9 mm | | 10 a 12 mm | | |
| | | O | E | O | E | |
| GRUPOS | CON CRIAS | 37 | 35.04 | 25 | 26.96 | 62 |
| | | x ² =0.109 | | x ² =0.142 | | |
| | VACIAS | 28 | 29.95 | 25 | 23.04 | 53 |
| | | x ² =0.127 | | x ² =0.167 | | |
| TOTAL | | 65 | | 50 | | 115 |

| | |
|----------------------------------|--------|
| X ² Calculado = | 0.545 |
| X ² Tabla α 0.05 (2)= | 3.8415 |



ANEXO 3: Datos del trabajo de investigación

| n | GRUPO | TAMAÑO | mm | D. PREÑEZ |
|----|--------|----------|----|-----------|
| 1 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 2 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 3 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 4 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 5 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 6 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 7 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 8 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 9 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 10 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 11 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 12 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | P |
| 13 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 14 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 15 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 16 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 17 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 18 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 19 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 20 | VACIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 21 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 22 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 23 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 24 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 25 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 26 | VACIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 27 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 28 | VACIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 29 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 30 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 31 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 32 | VACIAS | 10-12 mm | 11 | P |
| 33 | VACIAS | 10-12 mm | 11 | P |
| 34 | VACIAS | 10-12 mm | 11 | V |
| 35 | VACIAS | 10-12 mm | 13 | V |
| 36 | VACIAS | 10-12 mm | 13 | V |
| 37 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 38 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 39 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 40 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 41 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 42 | VACIAS | 10-12 mm | 12 | V |



| | | | | |
|----|-----------|----------|------|---|
| 43 | VACIAS | 10-12 mm | 10.5 | P |
| 44 | VACIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 45 | VACIAS | 10-12 mm | 12 | V |
| 46 | VACIAS | 10-12 mm | 12.5 | P |
| 47 | VACIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 48 | VACIAS | 10-12 mm | 12.5 | V |
| 49 | VACIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 50 | VACIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 51 | VACIAS | 10-12 mm | 11 | V |
| 52 | VACIAS | 10-12 mm | 11.5 | P |
| 53 | VACIAS | 10-12 mm | 12.5 | p |
| 54 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 55 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 56 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 57 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 58 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 59 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 60 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7.5 | V |
| 61 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 62 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 63 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 64 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 65 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 66 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 67 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 68 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 69 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 70 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 71 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 72 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 73 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | P |
| 74 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 75 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 76 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 77 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 78 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 79 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 80 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | P |
| 81 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 82 | CON CRIAS | 7-9 mm | 7 | V |
| 83 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 84 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | P |
| 85 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 86 | CON CRIAS | 7-9 mm | 8 | V |
| 87 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | P |



| | | | | |
|-----|-----------|----------|------|---|
| 88 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | P |
| 89 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | V |
| 90 | CON CRIAS | 7-9 mm | 9 | P |
| 91 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 92 | CON CRIAS | 10-12 mm | 12 | P |
| 93 | CON CRIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 94 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 95 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 96 | CON CRIAS | 10-12 mm | 11 | V |
| 97 | CON CRIAS | 10-12 mm | 12 | V |
| 98 | CON CRIAS | 10-12 mm | 12 | P |
| 99 | CON CRIAS | 10-12 mm | 13 | V |
| 100 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 101 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 102 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 103 | CON CRIAS | 10-12 mm | 11 | P |
| 104 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10.3 | V |
| 105 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 106 | CON CRIAS | 10-12 mm | 11 | V |
| 107 | CON CRIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 108 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 109 | CON CRIAS | 10-12 mm | 11 | P |
| 110 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | P |
| 111 | CON CRIAS | 10-12 mm | 12.5 | V |
| 112 | CON CRIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 113 | CON CRIAS | 10-12 mm | 13 | P |
| 114 | CON CRIAS | 10-12 mm | 10 | V |
| 115 | CON CRIAS | 10-12 mm | 11.5 | P |



Figura 2. Evaluación del diámetro folicular pre-ovulatorio.

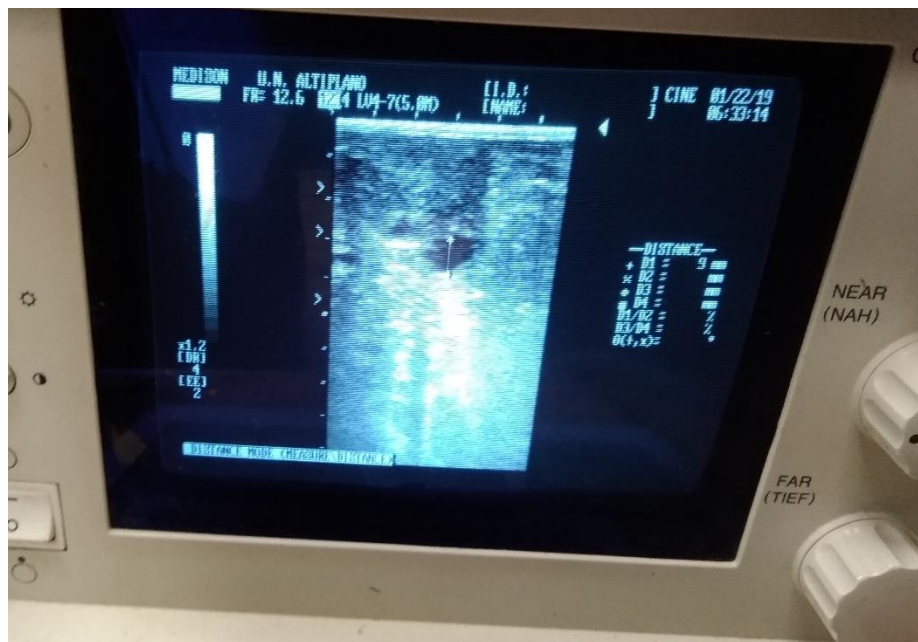


Figura 3. Tamaño folicular a la ecografía.



Figura 4. Inducción a la ovulación.



Figura 5. Colección de semen post-copula.

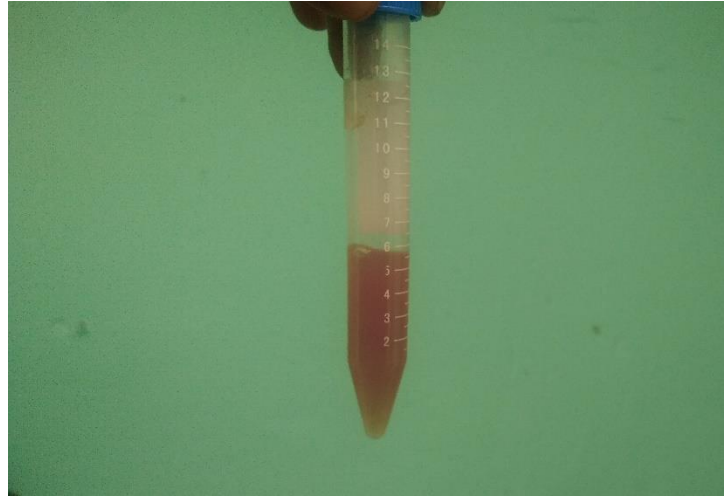


Figura 6. Evaluación del volumen de semen.



Figura 7. Evaluación microscópica del semen fresco.



Figura 8. Localización del cérvix.



Figura 9. Inseminación Artificial Intrauterina.



Figura 10. Visualización de la vesícula embrionaria a los 30 días post inseminación.