

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



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ALIMENTICIA SOBRE FERTILIDAD,
PESO Y CONDICIÓN CORPORAL EN LLAMAS POR INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ROGER ARTEMIO CARBAJAL ESPERILLA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2017

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

TESIS

Efecto de la suplementación alimenticia sobre fertilidad, peso y condición corporal en llamas por inseminación artificial

PRESENTADA POR:

Bach. ROGER ARTEMIO CARBAJAL ESPERILLA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE

:

Dra. Martha Nancy Tapia Infantes

PRIMER MIEMBRO

:

Mg.Sc. Jesus Esteban Quispe Coaquira

SEGUNDO MIEMBRO

:

MYZ. Daniel Hermilio Ramos Dueñas

DIRECTOR

:

Ph.D. José Luis Bautista Pampa

ASESOR

:

Ph.D. Pedro Walter Bravo Matheus

Área : Nutrición animal

Tema : Nutrición de camélidos

DEDICATORIA

A Dios, por guiar cada paso que he dado en mi vida, por haberme permitido llegar hasta este punto y darme salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor

El conocimiento generado es dedicado con amor y cariño a mis queridos padres: TEODORO y PEREGRINA, por darme la oportunidad de existir, por su comprensión y confianza, por su amor y amistad incondicional, porque sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de mi profesión.

A mis queridos hermanos por su amor y apoyo: IRMA, LUID, MARGOTH y ANGEL. Como las ramas de un árbol, crecemos en diferentes direcciones, pero nuestra raíz es una sola. Así la vida de cada uno siempre será una parte esencial de la vida de otro.

A la memoria de mis hermanas que guían mi camino con amor, JUANA y VILMA. Que dios los tenga en su gloria, sé que pueden escuchar el latido de mi corazón, y sentir como corre por mis venas este amor que llevo dentro por ustedes.

A mi Amor DIANETH AURORA SALGUERO ZOLOAGA. Por su amor, paciencia y apoyo en la ejecución y culminación de este proyecto. Aprendí que la persona que te ama, es esa que sin decirlo está a tu lado y lo demuestra sin esperar nada a cambio.

Roger Artemio Carbajal Esperilla.

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento:

A la Universidad Nacional del Altiplano Puno, en especial a la facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, por haber tenido la maravillosa oportunidad de estudiar y aprender en sus aulas, lugar donde pasaron las experiencias más agradables y extraordinarios de mi juventud.

Al centro de investigación y producción CIP- La raya dependencia de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno y al director del CIP- La raya, Dr. Juan Guido Medina Suca y al personal que labora en dicho centro, por haberme brindado el apoyo para la ejecución y culminación del presente estudio.

A mi Director Ph.D. José Luis Bautista Pampa, durante la realización de mi trabajo de investigación, usted ha sido mi mano derecha y quien me ha guiado en el complicado proceso. Es cierto no ha sido nada fácil, sin embargo su paciencia y su motivación han sido fundamentales durante la elaboración, ejecución y culminación del presente trabajo.

Al Ph.D. Walter Bravo Matheus, por su ayuda, dedicación y asesoramiento. La generosidad y amabilidad demostrada en cada momento, han sido un gran apoyo durante el tiempo dedicado a su realización del presente trabajo de investigación.

A mis queridos amigos y futuros colegas: Angel, Yoel, Juan, Abad, Oscar y Nycolay quienes me brindaron su amistad y apoyo incondicional. Un verdadero amigo es alguien que te conoce tal como eres, te acompaña en tus logros y tus fracasos.

A los miembros del jurado: Dra. Martha Tapia Infantes, Mg. Sc. Jesús Quispe Coaquira, y al MVZ. Daniel Ramos Dueñas. Por el apoyo constante en la culminación del presente trabajo de investigación.

Roger Artemio Carbajal Esperilla.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	12
1.1. OBJETIVOS.....	14
1.1.1. OBJETIVOS GENERALES.....	14
1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1. PROTEÍNA Y ENERGÍA.....	15
2.1.1. Proteína:.....	15
2.1.2. Energía:.....	16
2.1.3. Balance energético negativo:	16
2.2. MATERIA SECA.....	17
2.2.1. Consumo de materia seca:.....	17
2.3. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA.....	18
2.3.1. Espermatogénesis:.....	18
2.3.2. Comportamiento sexual de la hembra:.....	18
2.3.3. Ovogénesis:.....	19
2.3.4. Desarrollo Folicular:.....	20
2.3.5. Ondas Foliculares:.....	20
2.3.6. Endocrinología del Desarrollo Folicular:	22
2.3.7. Ovulación:.....	22
2.4. COLECCIÓN DE SEMEN.....	23
2.4.1. Aspiración vaginal postcoital:	23
2.5. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	24
2.6. FERTILIDAD:.....	24
2.7. MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ.....	25
2.7.1. Ultrasonido o Ecografía:	25
2.8. PESO VIVO Y CONDICIÓN CORPORAL.....	26
2.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FORRAJES.....	27
2.9.1. Paja de Ichu.....	27
2.9.2. Heno de avena.....	27

2.9.3. Heno de alfalfa.	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1. MEDIO EXPERIMENTAL	29
3.1.1. Ubicación.....	29
3.2. MATERIALES.....	30
3.2.1. Material experimental.	30
3.2.3. Otros materiales y equipos.	30
3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	32
3.3.1. Instalaciones.....	32
3.3.2. Forrajes (insumos).....	33
3.3.3. Dieta Suplementaria.	33
3.3.4. Animales.....	34
3.3.4.1. Acostumbramiento de los animales a la dieta suplementaria. ...	35
3.3.4.2. Suministro de la dieta suplementaria y pastoreo.....	35
3.3.5. Consumo de materia seca de la dieta suplementaria.	36
3.3.6. Evaluación de ganancia de peso vivo y condición corporal de llamas machos y hembras.	37
3.3.7. Colección de Semen:.....	37
3.3.8. Evaluación de la calidad de Semen.....	38
3.3.8.1. Características macroscópicas.....	38
3.3.8.2. Características microscópicas.....	39
3.3.9. Procedimiento para inseminación artificial.....	42
3.3.9.1. Distribución de animales (tratamientos) para la Inseminación Artificial.....	42
3.3.9.2. Inducción de la ovulación	42
3.3.9.3. Inseminación artificial	42
3.3.9.4. Diagnóstico de la fertilidad de llamas inseminadas.	43
3.4. VARIABLES DE MEDICIÓN	44
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	44
3.5.1. Consumo de materia seca, ganancia de peso vivo y condición corporal.....	44

3.5.2. Calidad de semen: volumen, Motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología espermática	44
3.5.4. Fertilidad en llamas hembras.....	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. CONSUMO DE MATERIA SECA DE LA DIETA SUPLEMENTARIA.....	46
4.2. GANANCIA DE PESO VIVO EN LLAMAS HEMBRAS	47
4.3. GANANCIA DE PESO VIVO EN MACHOS.	48
4.4. EVALUACIÓN DE CONDICIÓN CORPORAL EN HEMBRAS.....	49
4.5. EVALUACIÓN DE CONDICIÓN CORPORAL EN MACHOS.....	50
4.6. EVALUACION DE LA CALIDAD DE SEMEN.	52
4.6.1. Evaluación macroscópica.	52
4.6.1.1. Volumen.	52
4.6.2. Evaluación microscópica	53
4.6.2.1. Motilidad	53
4.6.2.2. Concentración espermática.....	55
4.6.2.3. Vitalidad espermática	56
4.6.2.4. Morfología espermática	57
4.7. FERTILIDAD POR INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	58
V. CONCLUSIONES	61
VI. RECOMENDACIONES.....	63
VII. REFERENCIAS	64
ANEXOS	71

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Composición química en los forrajes – insumos analizados.....	33
TABLA 2: Porcentaje y cantidades de forrajes-insumos en la DS.....	34
TABLA 3: Distribución de los animales experimentales por sexo y alimento ..	34
TABLA 4: Distribución de animales por tipo de alimentación.....	42
TABLA 5: Consumo de la dieta suplementaria por llama, g/llama/3 horas/día. 46	
TABLA 6: Ganancia de peso vivo llamas hembras, g/llama/día.....	47
TABLA 7: Ganancia de peso vivo llamas machos, g/llama/día.	48
TABLA 8: condición corporal llamas hembras (1-5puntos).	50
TABLA 9: condición corporal llamas machos (1-5puntos).....	51
TABLA 10: Volumen de semen por tipo de alimentación mm ³	52
TABLA 11: Motilidad por tipo de alimento %.	54
TABLA 12: Concentración espermática por tipo de alimento esp/mm ³	55
TABLA 13: Vitalidad espermática por tipo de alimento %.	56
TABLA 14: Morfología espermática por tipo de alimento %.	57
TABLA 16: Fertilidad de llamas por inseminación artificial, por efecto de tipo de alimento %.	58
TABLA 17: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para motilidad de espermatozoides.....	71
TABLA 18: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para vitalidad de espermatozoides.....	71
TABLA 19: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para morfología de espermatozoides.....	71
TABLA 20: Prueba estadística de χ^2 para fertilidad en llamas.	72

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- BEN:** Balance Energético Negativo.
- CC:** Condición corporal.
- CIP:** Centro Investigación y Producción.
- CL:** Cuerpo Lúteo.
- CS:** calidad de semen.
- CSA:** Camélidos sudamericanos.
- CMS:** Consumo de materia seca.
- DS+PN:** Dieta Suplementada + Pasto natural.
- EB:** Energía Bruta.
- EM:** Energía Metabolizable.
- GPV:** Ganancia de Peso Vivo.
- IA:** Inseminación Artificial.
- IMS:** Ingestión de materia seca.
- MSO:** Materia seca ofrecida.
- MS:** Materia seca.
- MSR:** Materia seca residual.
- PCD_m :** Proteína Cruda Digestible de Mantenimiento.
- PC_m :** Proteína Cruda de Mantenimiento.
- PV:** Peso vivo.
- PN:** Pasto Natural.
- FER:** Fertilidad.
- FSH:** Hormona Folículo Estimulante.
- GnRH:** Hormona Liberadora de Gonadotropina.
- LH:** Hormona Luteinizante.
- P4:** Progesterona.
- PN:** Pasto natural.
- PM_m:** Proteína Metabolizable de Mantenimiento.
- PM_t:** Proteína Metabolizable total.
- PT:** Proteína Total.

RESUMEN

El estudio, se realizó en el CIP La Raya de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la UNA-PUNO. El objetivo fue evaluar el efecto de la suplementación alimenticia sobre el consumo de materia seca (CMS), ganancia de peso vivo (GPV), condición corporal (CC), calidad de semen (CS) y fertilidad (FER) de llamas machos y hembras por inseminación artificial (IA). Se utilizaron 30 llamas hembras y 4 machos para: T1, con solo pasto natural (PN) y 30 llamas hembras y 4 machos para T2, con dieta suplementada (DS) de 6-9am, mas pasto natural (PN) de 9-4:30pm. (DS+PN), por un periodo de 45 días. La suplementación fue con una dieta de 14 % de proteína total (PT) y 2.3 Mcal de energía metabólicizable (EM)/kg, a base de paja de ichu (*Stipa ichu*), heno de avena (*Avena sativa*), heno de alfalfa (*Medicago sativa*) y pre-mezcla vitamínico-mineral. La IA fue 45 días post suplementación en ambos grupos, la FER se registró con ecografía a 21 días post IA. El CMS de la dieta suplementaria fue de 270.20 y 233.56 g/llama/3 horas/día ($P \leq 0.05$), para machos y hembras con DS+PN. La GPV en hembras fue de 77 y 16 g/llama/día para DS+PN y PN, ($P \leq 0.05$), en machos la GPV fue de 100.00 y 27.50g/llama/día, para DS+PN y PN ($P \leq 0.05$). La CC en hembras fue de 3.10 y 3.67 para PN y DS+PN ($P \leq 0.05$), la CC en machos fue de 3.75 y 4.75 para PN y DS+PN, con diferencia en ambos sexos ($P \leq 0.05$). La CS como volumen, motilidad, concentración, y morfología no mostraron variabilidad entre PN y DS+PN ($P \geq 0.05$), pero si se encontró variabilidad para vitalidad espermática el cual fue de 90.25 y 96.75% para PN y DS+PN, ($P \leq 0.05$). La FER para llamas hembras con DS+PN fue de 46.43%, y en llamas con PN fue de 41.38% de fertilidad ($P \geq 0.05$). Se concluye que la dieta suplementada tiene efecto en CMS, GPV, y CC y no en la CS ni en la fertilidad de hembras.

Palabras clave: Llama, suplementación alimenticia, Inseminación Artificial, fertilidad.

ABSTRACT

The study was conducted at the CIP La Raya of the Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics, UNA-PUNO. The objective was to evaluate the effect of dietary supplementation on dry matter intake (CMS), live weight gain (GV), body condition (CC), semen quality (CS) and fertility (FER) of male and female llamas by artificial insemination (AI). We used 30 female and 4 male llamas for T1, with only natural grass (PN) and 30 female llamas and 4 male for T2, with supplementary diet (SD) of 6-9am, but natural grass (PN) of 9- 4:30 p.m. (DS+PN), for a period of 45 days. The supplementation was with a diet of 14% of total protein (PT) and 2.3 Mcal of metabolizable energy (ME) / kg, based on ichu straw (*Stipa ichu*), oats hay (*Avena sativa*), alfalfa hay (*Medicago sativa*) and vitamin-mineral pre-blend. The AI was 45 days post supplementation in both groups, the FER was recorded with ultrasound at 21 days post AI. The CMS it was of 270.20 and 233.56 g / llama / 3 hours/day ($P \leq 0.05$), for males and females DS+PN. The GPV in females it was of 77 and 16 g / llama / day for DS+PN and PN, ($P \leq 0.05$), in males the GPV it was of 100.00 and 27.50g / llama / day for DS+PN and PN ($P \leq 0.05$). CC in females it was of 3.10 and 3.67 for PN and DS+PN ($P \leq 0.05$), CC in males it was of 3.75. And 4.75 for PN and DS+PN, with difference in both sexes ($P \leq 0.05$). CS as volume, motility, concentration, and morphology did not show variability between PN and DS+PN ($P \geq 0.05$), but if variability was found for sperm vitality, which was 90.25 and 96.75% for PN and DS+PN, ($P \leq 0.05$). FER for female llamas with DS+PN was 46.43%, and in flames with PN was 41.38% of fertility ($P \geq 0.05$). It is concluded that the diet has an effect on CMS, GPV, and CC and not on CS or female fertility.

Key words: Llama, dietary supplementation, Artificial insemination, fertility.

I. INTRODUCCIÓN

La crianza actual de camélidos se viene llevando a cabo siguiendo sistemas tradicionales de crianza no siempre eficaces, sin el uso de un manejo y tecnología apropiada en alimentación, nutrición y reproducción que impide alcanzar su verdadero potencial productivo, donde un deficiente manejo limita la expresión del potencial genético de esta especie (Bustinza, 2001).

La reproducción es un proceso complejo y fundamental para la sobrevivencia de una especie y una función reproductiva eficiente requiere, entre otros factores, una alta demanda de insumos en términos de energía y proteína (Roche, 2006). La reproducción tiene una prioridad menor en comparación con estado fisiológico como los de mantenimiento, lactancia y el crecimiento, cuando los recursos alimenticios disponibles son limitados, deficiencias o excesos nutricionales pueden directamente afectar la función reproductiva (foliculogénesis, la ovulación, función de CL, crecimiento fetal y embrionario) (Bauman y Currie, 1980).

Se reporta que en camélidos sudamericanos existe un déficit de consumo de nutrientes como son proteína, energía principalmente y otros nutrientes esenciales necesarios en la etapa de reproducción (Bustinza, 2001). Los camélidos son considerados como especies de baja tasa de fertilidad en relación a otros mamíferos domésticos debido a que solo el 50% de los servicios entre machos y hembras fértiles terminan en gestación (Fernández Baca *et al.*, 1970) las causas de esta baja fertilidad son diversas tales como la alta tasa de mortalidad embrionaria, también la debilidad de los tejidos fetales maternos, manifestándose con un bajo rendimiento reproductivo (Olivera *et al.*, 2003; Bravo

et al 2010). La subnutrición de las hembras puede impedir la ovulación o la fertilización, incluso aumentar la incidencia de mortalidad embrionaria (Bondi y Dori, 1988).

Se menciona que el suministro de nutrientes durante la alimentación de alpacas machos reproductores en la etapa crítica del empadre, como una actividad práctica permite una producción de semen de mayor volumen y de una excelente calidad en el momento en que estos animales son sometidos a la reproducción con miras a lograr el mayor porcentaje de natalidad (Bustinza, 2001).

Estudios realizados en especies como bovinos, ovinos y porcinos señalan que un balance energético negativo inhibe las funciones reproductivas. Las deficiencias nutricionales tienen consecuencias en diversas etapas del ciclo reproductivo, desde un retraso en la pubertad o en el reinicio de la actividad reproductiva post parto; deficiencias en la actividad ovárica, conducta de receptividad e interés sexual; así como la producción de gametos con una reducida capacidad fecundante, afectando la sobrevivencia embrionaria e incluso el mantenimiento de la gestación (Buttler *et al.*, 2000).

Existe escasos trabajos de IA en CSA, debido a que la colección de semen es laboriosa por el tipo, duración de la cópula y las pobres características cualitativas que presenta el semen de estas especies, así como indican (Apaza *et al.*, 2001; Bravo *et al.*, 2008).

El rol de la nutrición en la reproducción sugiere la posibilidad de lograr mejores resultados, si se aplica alguna estrategia nutricional sobre los requerimientos proteicos y energéticos en los sistemas de crianza de Llamas, donde las condiciones ambientales son adversas y como consecuencia la poca

disponibilidad de alimentos, por las consideraciones expuestas el presente trabajo se planteó los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVOS.

1.1.1. OBJETIVOS GENERALES.

- Evaluar el efecto de la suplementación alimenticia sobre la fertilidad, peso y condición corporal en llamas por inseminación artificial.

1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Evaluar el consumo de materia seca de la dieta suplementaria.
- Evaluar la calidad de semen (características macro y microscópicas del semen).
- Evaluar la fertilidad de llamas hembras a los 21 días post-inseminación artificial.
- Evaluar la ganancia de peso vivo y condición corporal de llamas machos y hembras.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. PROTEÍNA Y ENERGÍA.

2.1.1. Proteína:

Las proteínas son compuestos altamente polimerizados, que están formados por aminoácidos, también se unen a componentes no proteicos, las proteínas se encuentran entre los nutrientes más importantes, junto con los lípidos y los carbohidratos además de su función energética (1 g de proteína proporciona 4,1 Kcal al organismo), dada su naturaleza nitrogenada, son necesarias para la síntesis de compuestos propios del organismo implicados en la estructura de las membranas (Bondi y Dori, 1988).

Las proteínas son los principales constituyentes del cuerpo animal y esencial para la recuperación celular y procesos de síntesis, en los camélidos la deficiencia proteica en la dieta conllevan a un agotamiento de las reservas en la sangre, hígado y músculo, predisponiendo al animal a una variedad de cuadros muchos de ellos fatales (Van Saun, 2006). Niveles inferiores al 6% de proteína cruda en la dieta de camelidos, determina una reducción en el consumo, el cual a su vez conduciría a una deficiencia de energía y proteínas, esta deficiencia posteriormente reduce la función del rumen y disminuye la eficiencia de utilización de los nutrientes, deficiencias de proteínas por periodos largos condicionan a retardos en el crecimiento fetal, bajos de peso al nacimiento, afecta el crecimiento de animales jóvenes y deprime la producción láctea (Fernández Baca, 1991).

2.1.2. Energía:

En alpacas el estado de la energía ha sido la entidad nutricional más intensamente estudiado en relación con el desempeño reproductivo. Ambos extremos de estado de energía, reconocida como la condición corporal delgada u obesa, afectan negativamente el ciclo de la fertilidad, de la pubertad a la ciclicidad posparto (Sumar, 2007).

El requerimiento energético en los camélidos sudamericanos debe atender el crecimiento fetal, la producción de leche y las altas demandas de la actividad ovárica, dado que el tránsito de la gestación, parto y reproducción ocurre en un período relativamente corto, lo cual dependerá del estado nutricional y la lactancia (Skidmore, 2011).

La función reproductiva en los mamíferos como en el vacuno se inhibe cuando la disponibilidad de energía es baja o la demanda de energía es alta, de manera que no se da cobertura a la demanda, sobre todo en las hembras cuya gestación y lactación se vinculan a considerables gastos energéticos, necesarios para el sostenimiento del embrión y la cría (Schneider, 2004).

2.1.3. Balance energético negativo:

Estudios realizados en vacas lecheras sugieren que en el aspecto nutricional la deficiencia de energía en la ración es uno de los factores que tiene gran importancia porque esta deficiencia conlleva a un Balance Energético Negativo (BEN), ya que el animal se ve obligado a movilizar sus reservas (Contreras, 1998).

Estudios en vacas indican que después del parto, la demanda de energía (glucosa) del animal supera el consumo de energía en el alimento, resultando en balance energético negativo (BEN), el BEN desencadena un conjunto de cambios en el animal, con efectos en la reproducción. Uno de los efectos del BEN es el largo período anovulatorio posparto a través de la atenuación de la frecuencia de pulso LH, la disminución y los bajos niveles de glucosa sanguínea, insulina y IGF-I que colectivamente limitan la producción de estrógenos por el folículo dominante (Butler, 2003).

El balance energético negativo en vacas está asociado con los cambios en el patrón de crecimiento del folículo ovárico lo cual puede afectar indirectamente la calidad del ovocito (Bisinotto *et al.*, 2012).

2.2. MATERIA SECA.

2.2.1. Consumo de materia seca:

El nivel de consumo de alimento expresado en kg es de 2% de peso vivo en llamas y del 1.8% en alpacas lo que expresado en relación al peso metabólico de los camélidos sería entre 35 a 38 gramos de materia seca por kg ($P W^{0.75}$), observándose que existe mayor consumo de materia seca en época de estiaje, por la capacidad de los camélidos sudamericanos de incrementar su capacidad gástrica en respuesta al consumo de pastos de baja calidad. Esto indica que las alpacas y llamas consumen en promedio un 30 % menos de materia seca que el ovino para un mismo peso metabólico según (San Martín, 1987).

2.3. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA.

2.3.1. Espermatogénesis:

Es el proceso por el cual se forman los espermatozoides en los túbulos seminíferos del testículo, la espermatogénesis comprende tres fases: la espermatocitogénesis, fase en la cual las células germinales primordiales se convierten en espermátides, la espermiogénesis, fase en la cual las espermátides redondas se transforman en espermatozoides y la espermiación, es la liberación de las células germinales al interior de los túbulos seminíferos (Sorensen, 1982; Hafez, 1989).

2.3.2. Comportamiento sexual de la hembra:

Los camélidos domésticos, al ser especies de ovulación inducida no presentan ciclos estrales definidos, no obstante, existen periodos de receptividad sexual. Estos periodos son bastante prolongados durante la época de apareamiento y en ausencia de machos pueden durar hasta los 36 días presentando breves interrupciones que no sobrepasan de 2 días (Novoa, 1989). Uno de los problemas más frecuentes se debería a ondas foliculares continuas de larga duración con presencia aparente de un folículo estrogénico y su consiguiente secreción de estrógenos (Novoa, 1989; Fernández Baca, 1993).

La receptividad sexual en camélidos no siempre está asociada con la presencia de un folículo dominante (Sumar, 1993), mientras que la no receptividad es una característica diferencial entre hembras preñadas y vacías; puesto que se considera que dentro de los 18 a 20 días

posteriores a la monta, cuando la receptividad no está presente es debido a la preñez, por el efecto inhibitorio de la progesterona (Fernández Baca, 1971).

2.3.3. Ovogénesis:

La ovogénesis comienza en la vida intrauterina, entendiéndose como tal el proceso que permitirá a una célula llegar a ser el gameto femenino, con plena capacidad de ser fecundado (Byskov, 1982). A partir de unas células indiferenciadas se producen las células germinales primordiales (Eddy *et al.*, 1981; Byskov, 1982), estas por migración llegarán a la cresta genital, donde las células primordiales se multiplican mitóticamente y una parte de éstas se diferenciarán y formarán las ovogonias, células base a partir de las que se formará el ovocito o gameto femenino (Gondos, 1978).

Las ovogonias entran en meiosis en la vida intrauterina convirtiéndose en ovocitos primarios, a causa de la acción de una sustancia inductora de la meiosis proveniente de las células embrionarias (Franchi *et al.*, 1962). La meiosis se detendrá en dos momentos específicos: alrededor del nacimiento y en la ovulación y sólo se completará totalmente al producirse la fecundación del ovocito (Baker and Franchi, 1967).

El número de gametos que poseen las hembras domésticas está fijado desde el mismo momento de su nacimiento y serán durante toda la vida del animal, los únicos capaces de ser fecundados (Zuckermann, 1962).

2.3.4. Desarrollo Folicular:

El folículo es la unidad estructural y funcional de los ovarios. La foliculogénesis, se define como el proceso de formación, crecimiento y diferenciación folicular abarca desde el estadio de folículo primordial hasta el de folículo pre-ovulatorio (Gigle *et al.*, 2006).

Los folículos se clasifican en 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, durante la vida fetal se produce la diferenciación de los folículos primordiales, algunos folículos comienzan a diferenciarse en primarios y secundarios debido a que la primera activación folicular es en principio gonadotrófica independiente, la activación de los folículos terciarios ocurre en forma de ondas y es gonadotrófica dependiente, Varios folículos comienzan a crecer simultáneamente hasta que uno de ellos se diferencia en dominante y otros se atresian (Gigle *et al.*, 2006).

2.3.5. Ondas Foliculares:

En los camélidos sudamericanos el desarrollo folicular se da en tres fases o estadios descritos como crecimiento, maduración y regresión, en el desarrollo estático o de maduración el folículo dominante inhibe el desarrollo de los folículos más pequeños (Bravo, 1990), reportándose una relación inversa entre el diámetro del folículo dominante y el número de folículos pequeños (Adams *et al.*, 1990).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia de folículo dominante en ambos ovarios en un 85% de casos (Fernández-Baca, 1993; Bravo y Sumar, 1989), en donde uno de los ovarios presenta folículos de tamaño ovulatorio mientras que en el otro van creciendo otros folículos que rápidamente adquirirán el tamaño ovulatorio cuando en el anterior se vuelven atrésicos (Bravo, 1990; Fernández-Baca, 1993), explicándose los largos periodos de aceptación de la hembra frente al macho. La receptividad se observa cuando el folículo tiene diámetros ≥ 6 mm (Bravo y Sumar, 1989). Pero otros indican que no siempre se produce alternancia entre ambos ovarios de una oleada a otra (Adams *et al.*, 1990; Vaughan *et al.*, 2004).

El intervalo entre la emergencia de dos oleadas de crecimiento folicular consecutivas difiere en las distintas especies de camélidos siendo de 12 a 16 días en alpacas (Vaughan *et al.*, 2004), 18 días en llamas (Adams *et al.*, 1990). Sin embargo, otros autores observaron que el intervalo entre la presencia de dos folículos dominantes sucesivos era de 11–12 días tanto en alpacas y llamas (Bravo y Sumar, 1989). La duración del intervalo entre dos oleadas podría variar con la localización geográfica, la estación del año, la situación fisiológica de la hembra, el método de examen y el número de animales incluidos en el diseño experimental (Adams *et al.*, 1990).

2.3.6. Endocrinología del Desarrollo Folicular:

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 Martín *et al.*, 1968). La estimulación coital en estas especies provoca un reflejo neuroendocrino que activa el centro de la GnRH permitiendo la secreción pulsátil de LH y la ovulación (Arthur, 1991; Fernández-Baca *et al.*, 1970).

2.3.7. Ovulación:

La cópula que usualmente tiene una duración entre 5 a 65 min y que está afectado por la edad, estación del año, frecuencia de montas, es responsable de la ovulación en los camélidos. Estudios concluyen que el estímulo de la copula con machos vasectomizados inducen la ovulación a las 26 horas aproximadamente (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970). El mecanismo de ovulación en los camélidos se inicia con la intromisión del pene durante la cópula que por vía refleja inicia la ovulación desencadenando la secreción endocrina, que se relaciona con los niveles de LH y la ovulación siguiente, donde picos de LH se incrementan a los 15 min, continúan estos picos hasta las 2 h y declinan 7 h después de la monta (Bravo, 1990).

La ruptura folicular (ovulación) en alpaca ocurre alrededor de las 26 horas después de la monta, la falla en la respuesta ovulatoria pos monta, alcanza un valor de 20% en hembras multíparas, y un 74% en

hembras juveniles y un 33% no ovulan en períodos de lactación (Bravo y Sumar, 1989).

En ausencia del macho, las alpacas hembras pueden permanecer en estro hasta más de 30 a 40 días, con periodos ocasionales de anestro que no suelen durar más de 48 horas (Novoa, 1998).

Los diferentes estudios indican que la monta del macho vasectomizado, aplicación de GnRh o buserelina, LH producen el 80% de ovulaciones en alpacas (San Martín *et al.*, 1968; Fernández- Baca *et al.*, 1970; Bourke *et al.*, 1992; Taylor *et al.*, 2000) y la aplicación de plasma seminal por vía intrauterina o parenteral producen la ovulación entre el 90 a 100% de ovulaciones (Ratto, 2005).

2.4. COLECCIÓN DE SEMEN.

Las técnicas de colección de semen están bastante desarrolladas en otros animales, especialmente en rumiantes domésticos en los cuales ya es un procedimiento de rutina, pero en los camélidos la colección es bastante dificultosa debido a las características reproductivas, anatómicas y fisiológicas de estas especies en donde no existe un protocolo recomendado y técnica óptima para su manejo posterior, las características seminales son también muy variables y dependen del método de colección, frecuencia de colección, edad y época del año (Pacheco, 2007).

2.4.1. Aspiración vaginal postcoital:

En este método las muestras de semen pueden ser obtenidas por aspiración del fondo de la vagina de la alpaca después de la cópula,

ya que una pequeña cantidad de semen es eyaculada al momento de llevar el pene de un cuerno al otro, la desventaja de este método es la obtención de semen incompleto, contaminado y diluido con las secreciones del tracto genital, se puede utilizar este semen para realizar la evaluación de espermatozoides como motilidad, vitalidad, morfología; estas muestras frecuentemente se obtienen con residuos sanguinolentos y se ve de un color rosado ya que el endometrio se encuentra inflamado y lacerado por la cópula; la técnica es introducir un especulo por la vulva previamente aseada y con la ayuda de una fuente de luz se ubica la cérvix, inmediatamente se aspira con una pipeta adosada a una jeringa, la utilización de este tipo de semen para evaluar la fertilidad del macho es muy cuestionada (Bravo, 2002; Neely y Bravo, 1995).

2.5. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.

El uso y ventajas de la inseminación artificial se aprecian más en el desarrollo de la industria vacuna lechera, donde se han producido importantes mejoras genéticas para la producción de leche. Los trabajos de IA en CSA son escasos, debido a que la colección de semen es laboriosa por el tipo y duración de la cópula; no obstante, en los últimos años se han dado avances importantes en el proceso de congelación de semen (Apaza *et al.*, 2001; Bravo *et al.*, 2008).

2.6. FERTILIDAD:

La estimación de la fertilidad se hace en base a los animales empadrados o inseminados y los animales fecundados, datos que se puede expresar

porcentualmente. La fertilidad de un hato se evalúa en términos de porcentajes de hembras preñadas y el tamaño de las camadas. Estos parámetros aumentan durante algunos años después de la pubertad, alcanzando un máximo y luego disminuye lentamente con la edad (Hafez, 2005).

2.7. MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ.

2.7.1. Ultrasonido o Ecografía:

Con el uso de la ultrasonografía transrectal se ha estudiado en camélidos sudamericanos eventos reproductivos tales como el desarrollo de los folículos ováricos, la ovulación, el desarrollo y regresión del cuerpo lúteo (CL), la preñez temprana y mortalidad embrionaria, entre otros (Bourke *et al.*, 1992).

La ecografía transrectal se puede realizar desde 15 a 20 días después del servicio; sin embargo, los operadores muy calificados pueden ser capaces de detectar gestaciones desde los 7-9 días utilizando esta técnica. La ecografía transabdominal puede detectar la preñez desde los 40 días pos servicio (Bustinza, 2001).

En alpacas el método del ultrasonido revela una seguridad del 89% a partir de los 70 días de gestación hasta los 110 días (Alarcón *et al.*, 1989) y de 92% a los 80 días (Ampuero *et al.*, 1989); por el método de la ecografía con un transductor de 5 MHz se puede encontrar la vesícula embrionaria desde el día 17 y la presencia del embrión desde el día 30 (Cárdenas *et al.*, 2003).

2.8. PESO VIVO Y CONDICIÓN CORPORAL.

El nivel nutricional es una variable compleja que se encuentra asociada al suministro de alimento e ingestión del mismo, peso vivo del animal, y a la relación peso/alzada, la ganancia de peso es el incremento de peso diario de un animal vivo de acuerdo a sus necesidades biológicas (Frasinelli *et al.*, 2004). La condición corporal (CC) es una evaluación subjetiva, que permite evaluar las reservas corporales, referido a la cantidad de energía almacenada en forma de grasa y músculo que un animal posee en un momento dado y por tanto indirectamente nos puede indicar la condición nutricional del animal mediante una apreciación táctil y visual, en forma sencilla, los cambios en la CC constituyen una guía confiable y práctica (más que el peso corporal) para establecer el estado nutricional (Frasinelli *et al.*, 2004).

De acuerdo a recomendaciones de Cooper (2008), la evaluación de la condición corporal en alpacas se debe realizar mediante la palpación en el área de las vértebras lumbares de la alpaca, tomando como base anatómica de referencia la apófisis espinosa de la columna vertebral, cerca de las últimas costillas; de este modo, mediante la utilización de los dedos se puede hacer una apreciación de la masa del músculo (cada valoración no debe tomar más de 5 segundos aproximadamente considerando puntajes) en un rango de 1 a 5 donde 1 es un animal caquéctico (muy delgado) y 5 es un animal obeso.

2.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FORRAJES.

2.9.1. Paja de Ichu.

Se observa que las gramíneas duras (iru ichu, ichu y chilliwa) presentan escasos valores nutricionales, excepto la chilliwa, en el periodo húmedo alcanza niveles de proteínas crudas superiores al 8 % de la materia seca. En el periodo seco, las concentraciones de proteínas crudas son notablemente bajas, en el mes de abril a mayo se tiene un promedio de 3.5 de proteína cruda para ichu (Genin *et al.*, 1995).

2.9.2. Heno de avena.

El forraje heno de avena es un insumo alimenticio de carácter energético, cuya calidad depende de la fertilidad del suelo, etapa o grado fenológico en el momento de la cosecha (Coblentz *et al.*, 2000), encontraron que la calidad del heno avena declinó cuando éste entró a la etapa de floración y fue más resistente a la degradación ruminal. Donde los valores en las etapas de embuche, floración y masoso fueron: para Proteína cruda 11.8, 7.8, 5.9 %; FDN 50.8, 62.2, 62.7 %; FDA 24.9, 34.3, 37.2 % y Lignina detergente acida (LDA) 0.65, 1.51, 4.9 %, respectivamente.

Existen diferencias muy pequeñas en la composición química y digestibilidad de heno de avena cortado en etapa de masoso y madurez, siendo FDN 64.5 y 67.6 %; FDA 37.7 y 40.1 %. La digestibilidad *in vivo* de la MS, MO y FDA del heno de avena en masoso fue de 52.4, 54.1 y 49.1 %, mientras que en madurez fue de

53.1, 54.9 y 51.5 5, notando un incremento favorable en la etapa de madurez, aunque este incremento no fue significativo (Kraiem *et al.*, 1997).

La madurez también tiene efecto sobre el consumo voluntario de materia seca (CVMS) por animal. Esto es debido a que la FDN, que aumenta en relación a la madurez de la planta, es más difícil de digerir limitando el consumo por el llenado del rumen (Oba y Allen, 1998). Al respecto (Kraiem *et al.*, 1997), encontraron diferencia significativa en el consumo de forraje de avena cosechado en estado masoso vs madurez (1.40 y 1.34 kg/d).

2.9.3. Heno de alfalfa.

La alfalfa es un forraje estándar calificado como insumo proteico por excelencia, debido que contiene casi todo los nutrientes que requieren los animales, principalmente para rumiantes, la composición química de heno de alfalfa madura expresado en base seca fue: 15 % de proteína cruda, 51.46 % de fibra detergente neutro, 2.50 % de extracto etéreo, 10.34 % de ceniza, 20.70 % de glúcidos no fibrosos y 4284 Cal/g de energía bruta (Bautista, 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MEDIO EXPERIMENTAL

3.1.1. Ubicación

El trabajo de investigación fue realizado en el Centro de Investigación y Producción “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 altura entre 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 anual promedio fue de 6.20°C (máxima de 14.16°C y mínima de -1.75°C) y una precipitación pluvial de 525.7 mm (SENAMHI, 2016).

Las muestras de semen fueron evaluadas en el laboratorio de reproducción del Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional San Antonio Abad de Cusco (UNSAAC).

El análisis de la concentración de proteína total y energía bruta de insumos alimenticios para la suplementación se realizó en el Laboratorio de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano.

3.2. MATERIALES.

3.2.1. Material experimental.

- **Forrajes (insumos).** Se utilizó heno de Alfalfa, heno de Avena, paja de Ichu y pre- mezcla vitamínico-mineral.
- **Animales.** Se trabajó con 8 machos y 60 hembras con crías recién nacidas.

3.2.3. Otros materiales y equipos.

Para picado de forraje.

- Molino/picador forrajero Trapp TRF-800.
- Sacos
- Mantas

Para construcción de instalaciones.

- Paneles metálicos
- Rollizos de madera
- Alambre
- Grapas
- Polietileno
- Cuerdas

Para registro de peso vivo.

- Balanza digital con capacidad de 200 kg, con 1 decimal para el pesado de los animales para determinar el peso vivo.

Para colección de semen.

- Proctoscopio desechable de uso humano
- Tubos colectores de semen de 15 ml

Para evaluación de semen.

- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objetos
- Micro pipetas
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Cámara Newbauer
- Papel toalla
- Tips
- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Contador de hematocrito
- Microscopio
- Baño maría

Para dilución de semen.

- TRIS
- Fructosa
- Yema de huevo

Reactivos.

- Colorante Eosina-Nigrosina

- Cloruro de sodio Cl Na 5%
- Coloración de diff Quick

Para ecografía.

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

Para inducción de ovulación.

- GnRH.

Para inseminación artificial.

- Pipeta de plástico para vacunos
- Jeringa de 3 ml
- Proctoscopio con luz acondicionado.

3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

3.3.1. Instalaciones

Se construyeron tres comederos de polietileno para hembras, estos comederos fueron de 0.60 x 10.00 metros suspendido a 65 cm de altura, en cambio para machos se construyó corrales individuales de 0.80 x 1.50 metros y con comederos suspendido a 65 cm de altura, en donde se realizó la suplementación alimenticia y cuantificación de la MS residual de la dieta suplementaria para ambos sexos.

3.3.2. Forrajes (insumos).

Se utilizaron forrajes: Ichu (*Stipa ichu*), heno de avena (*Avena sativa*) y heno de alfalfa (*Medicago sativa*) y pre- mezcla vitamínico-mineral.

Los análisis químicos del alimento, fueron analizados tomando como referencia los métodos oficiales de la AOAC (2005), obteniéndose los datos según la tabla 1.

Tabla 1: Composición química en los forrajes – insumos analizados

Forrajes - insumos	MS %	PT %	EB Mcal/Kg	EM Mca/Kg
Alfalfa heno	98.45	16.33	4.29	2.34
Avena heno	98.22	5.25	4.12	2.25
Ichu	97.70	3.33	4.41	2.41
Vit-Min.	98.50	-	-	-

3.3.3. Dieta Suplementaria.

La dieta suplementaria fue elaborada en base a forrajes como heno de avena, paja de ichu y heno de alfalfa procesados mecánicamente con un molino/picador forrajero Trapp TRF-800 a 12mm Ø de tamaño de partícula.

El cálculo de la dieta para la suplementación tanto para Llamas hembras y machos fue realizado en base a las dietas planteadas y composición química de los forrajes – insumos, tabla (1). La tabla (2) muestra la dieta con 14 de proteína total (PT), y con 2.3 Mcal/kg el cual fue en base seca.

Tabla 2. Porcentaje y cantidades de forrajes-insumos en la DS en Base Seca.

Forrajes - insumo	Mezcla %	PT %	EB Mcal/Kg	EM Mcal/Kg
Alfalfa	80	13.06	3.43	1.87
Avena	16	0.84	0.66	0.36
Ichu	3	0.10	0.13	0.07
Min - Vit.	1	-	-	-
Total	100.0	14	4.22	2.30

En la preparación de mezcla de la dieta suplementada, primeramente se realizó el pesaje de las cantidades de forrajes - insumos calculados (Tabla 2), los mismos fueron mezclados manualmente (pala), esto se realizó de forma diaria durante los 45 días de la fase experimental.

3.3.4. Animales

Se utilizaron 8 machos y 60 hembras con crías recién nacidas. Distribuidos en dos grupos de tratamiento, los cuales se detallan a continuación:

Tabla 3: Distribución de los animales experimentales por sexo y alimento

LLAMA	DIETA	DIETA	TOTAL
	PN (T1)	DS+ PN (T2)	
MACHOS	4	4	8
HEMBRAS	30	30	60
TOTAL	34	34	68

T1=(n=34) Llamas al pastoreo, en pasto natural (PN)

T2=(n=34) Llamas al pastoreo en pasto natural (PN) y dieta suplementada (DS).

Los machos fueron identificados mediante una numeración de 1 a 8 para machos, las hebras fueron identificadas con collares, rojo para grupo experimental y amarillo para grupo control en proporciones de 30 para cada grupo respectivamente. Lo cual facilitó la toma de datos.

3.3.4.1. Acostumbramiento de los animales a la dieta suplementaria.

El periodo de acostumbramiento se realizó durante 7 días, con el suministro de la proporción de mezclas de forrajes e insumos.

Inicialmente los animales consumieron lo mínimo debido al cambio de manejo el cual les ocasiona cierto estrés (corrales, comederos y personal), al finalizar la fase de acostumbramiento todas las llamas consumieron la dieta suplementada, esto debido a que las llamas son animales que se adaptan fácilmente a cualquier sistema de pastoreo y crianza.

3.3.4.2. Suministro de la dieta suplementaria y pastoreo

La dieta suplementada para hembras fue de 3Kg/corral para 10 Llamas durante los 45 días de la fase experimental, es decir 0.300 Kg/Llama/3 horas/día. El peso de la dieta residual (no consumida o rechazada) fue registrado cada día, para determinar el consumo de la dieta suplementada por animal (g/Llama/día), tanto para hembras y machos.

La dieta suplementada para machos fue de 300 g/Llama/3 horas/día en comederos individuales durante los 45 días de la fase

experimental, el suministro se realizó en las mismas horas que para hembras de 6 a 9am.

Tanto para machos y hembras la suplementación de la dieta fue suministrada por 45 días, luego se procedió con la inseminación artificial.

El pastoreo de llamas del grupo Testigo en pasto natural (T1) fue de 7 a 4:30 pm y el pastoreo de llamas del grupo experimental con dieta suplementada más pasto natural (T2) fue de 9 a 4:30 pm durante 45 días experimentales (Bautista *et al.*, 1997).

3.3.5. Consumo de materia seca de la dieta suplementaria.

El consumo de materia seca de la dieta suplementaria se determinó en todos los animales experimentales, por diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado, durante las horas de suplementación, ajustado a la forma de manejo de alimentación del animal en las instalaciones CIP “La Raya”. El período de medición tuvo una duración de 45 días. Las mediciones fueron por día: materia seca ofrecida (MSO), materia seca rechazada (MSR). La ingestión de materia seca (IMS), se calculó utilizando las fórmulas propuestas por (Burns *et al.*, 1994).

$$\text{IMS, kg/d} = \text{MSO} - \text{MSR}$$

Los resultados se expresaron como consumo de materia seca de la dieta suplementaria en gramos/ llama/3 horas/día.

3.3.6. Evaluación de ganancia de peso vivo y condición corporal de llamas machos y hembras.

La ganancia de peso vivo se determinó a través de la medición del peso vivo: al inicio día 0 y final de la fase de alimentación día 45, en una balanza digital en los dos grupos (control y experimental).

La evaluación de la condición corporal fue evaluado por personal capacitado del CIP La Raya, en donde la CC se determinó mediante la palpación en el área de las vértebras lumbares de la llama, tomando como base anatómica de referencia la apófisis espinosa de la columna vertebral, cerca de las últimas costillas (Cooper, 2008), mediante la escala de evaluación de 1 a 5, la evaluación se realizó al inicio y al final de la fase experimental.

3.3.7. Colección de Semen:

La colección de semen se realizó por el método de aspiración vaginal post-copula, metodología seguida para la colección de semen según (Neely y Bravo, 1998) comprende los siguientes pasos:

- ✓ Para la colección de semen fue necesario que el macho realice el empadre hasta su culminación.
- ✓ Culminado el empadre inmediatamente se introduce vía vaginal el proctoscopio adosado con un tubo colector el cual está a una temperatura adecuada de 37°C, simultáneamente se levanta la parte anterior (tren anterior) del animal a una altura adecuada de tal

manera que por efecto de gravedad el semen descienda hacia el tubo colector previamente calentado a temperatura adecuada de 37°C.

- ✓ Luego se realiza el traslado del semen obtenido hacia el laboratorio para su evaluación Macroscópica y Microscópica.

3.3.8. Evaluación de la calidad de Semen

La evaluación de la calidad de semen se realizó al inicio y final (45 días) de la suplementación alimenticia en ambos grupos experimentales.

3.3.8.1. Características macroscópicas

3.3.8.1.1. Volumen

La cantidad de volumen de semen colectado se determinó a la lectura del tubo colector graduado. Cabe indicar que el volumen de semen es variable entre colecciones en el mismo animal ya que por este método el semen contiene flujo vaginal en gran proporción, por lo cual el volumen de semen se considera como un volumen relativo.

3.3.8.1.2. Color

El color se determinó mediante la observación directa del semen colectado en el tubo.

3.3.8.2. Características microscópicas

3.3.8.2.1. Motilidad individual

La determinación de la motilidad se realizó inmediata a la colección del semen, con el procedimiento siguiente:

- ✓ Se colocó una gota de semen en una lámina portaobjetos, luego se cubrió con una lámina cubreobjetos (ambas precalentadas a 37 °C).
- ✓ Se examinó primero a un aumento de 100X y luego a 400X en tres campos como mínimo y se contabilizaron los espermatozoides motiles y a los que no presentaron movimiento hasta un número de 100 espermatozoides.
- ✓ Una vez concluida la lectura, se determinó el porcentaje de motilidad individual de espermatozoides a través de la fórmula siguiente:

$$MI = \frac{n}{N} \times 100$$

MI = % motilidad individual.

n = Número de espermatozoides motiles.

N = Número total de espermatozoides observados.

3.3.8.2.2. Concentración

La concentración espermática fue evaluada de la siguiente manera:

- ✓ Con la utilización de una jeringa, se aspiró 1ml. de CINA al 5%, colocándose a los tubos de ensayo.

- ✓ De la misma forma, se aspiró 10µl de semen, para colocar en tubos de ensayo con CINA al 5%.
- ✓ Se dejó en reposo durante 5 minutos.
- ✓ Posteriormente fue homogenizado y se aspiró 10µl de mezcla.
- ✓ Luego se dejó caer una gota en cada extremo de la cámara de Neubauer, estas gotas por capilaridad cubrieron el área determinada de la cámara.
- ✓ Se dejó reposar de 3 a 4 minutos antes de proceder con el recuento, en 5 de los 25 cuadrantes. El número de espermatozoides contados fue multiplicado por el factor 10 000 para denotar el número de espermatozoides por mm³, aplicando la siguiente fórmula:

$$C = \frac{CI + CII}{2} \times 10,000$$

C = Concentración

CI = Total de la cámara 1

CII = Total de la cámara 2

3.3.8.2.3. Vitalidad

La vitalidad espermática se determinó utilizando la técnica de coloración Eosina – Nigrosina:

- ✓ Una gota de semen fue mezclada con una gota de colorante sobre una lámina portaobjetos precalentada a 37 °C y luego se dejó reposar por 10 segundos.

- ✓ Pasado ese tiempo se realizó el frotis utilizando una lámina portaobjetos limpio colocando a un ángulo de 45 ° y se arrastró hacia adelante.
- ✓ Luego del secado se procedió a realizar la lectura de la lámina contando 100 espermatozoides para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos a través de la siguiente fórmula:

$$\% V = \frac{n}{N} \times 100$$

%V = % de espermatozoides vivos

n = Número de espermatozoides sin coloración (vivos)

N = Número total de espermatozoides observados

3.3.8.2.4. Morfología

Para determinar las anomalías se utilizó la coloración Diff Quick, siendo el procedimiento de la siguiente manera:

- ✓ Se utilizó la misma lámina leída para la característica de motilidad (se realizó el frotis sin coloración inmediata a la evaluación).
- ✓ La lámina fue colocada en el fijador, durante 1 minuto.
- ✓ Se procedió con la coloración Eosina, durante 1 minuto.
- ✓ Seguidamente se realizó la coloración Nigrosina, durante 1 minuto.
- ✓ Finalmente se dejó secar durante 5 a 10 minutos y se realizó el conteo de los espermatozoides con anomalías y según la siguiente fórmula:

$$X = \frac{n}{N} \times 100$$

$X = \%$ de anormalidades

$n =$ Número de espermatozoides con anormalidades.

$N =$ Número total de espermatozoides observados.

3.3.9. Procedimiento para inseminación artificial.

3.3.9.1. Distribución de animales (tratamientos) para la Inseminación Artificial

Los animales fueron distribuidos según la tabla siguiente:

Tabla 4: Distribución de animales por tipo de alimentación

Nº de machos en PN 4	Nº de machos con DS+PN 4
Nº de hembras en PN 30	Nº de hembras con DS+PN 30

3.3.9.2. Inducción de la ovulación

Al término de los 45 días después de la suplementación alimenticia, se procedió con la inducción de ovulación con la inyección de GnRH a dosis de 2ml/llama vía intramuscular (IM), 24 horas antes de la inseminación (IA) de las 30 hembras con DS+PN y 30 hembras con PN (Bravo, 2002).

3.3.9.3. Inseminación artificial

La inseminación artificial se realizó según la metodología utilizada por (Bravo *et al.*, 2008):

- ✓ Se colectó semen de machos donadores tanto de dieta suplementaria y de pasto natural con la evaluación de la motilidad y luego se realizó la dilución (TRIS, fructosa, yema de huevo).
- ✓ Para la inseminación artificial se preparó la pipeta de plástico adosados a una jeringa de 3 ml.
- ✓ La sujeción de la llama fue manual para luego separar los labios de vulva e introducir el Proctoscopio adaptado con fuente de luz lo que facilitó la observación de la cérvix introduciendo la pipeta hasta llegar a la parte craneal de la vagina próximo a la cérvix y se atraviesa la cérvix con la pipeta donde se depositó la dosis de espermatozoides, luego se retira la pipeta, procediéndose a realizar un ligero masaje a nivel de la zona del clítoris.
- ✓ Las hembras inseminadas fueron identificadas y registradas para la posterior determinación de la fertilidad por ecografía y seguimiento de la misma, en ambos grupos de llamas.

3.3.9.4. Diagnóstico de la fertilidad de llamas inseminadas.

La fertilidad fue evaluada en ambos grupos de animales (con y sin dieta suplementaria, a los 21 días pos inseminación artificial, para esta actividad las llamas hembras fueron llevadas a un corral para su evaluación de la fertilidad con el uso de un ecógrafo (transductor lineal de 5MHZ).

Después de 21 días se determinó la presencia de vesícula embrionaria mediante la ecografía, con lo cual se confirmó la fertilidad de la hembra.

La determinación de Fertilidad fue con la siguiente fórmula:

$$FER = \frac{\text{Nº de alpacas fértiles}}{\text{Nº de alpacas inseminadas}} \times 100\%$$

3.4. VARIABLES DE MEDICIÓN

Consumo de materia seca de la dieta suplementaria, g/animal/3 horas/día.

- ✓ Calidad de semen (volumen ml, motilidad %, concentración espermatozoides/mm³, vitalidad %, y morfología %).
- ✓ Fertilidad a los 21 días después de la inseminación artificial %.
- ✓ Condición corporal (1 a 5 puntos).
- ✓ ganancia de peso vivo, g/animal/día.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

3.5.1. Consumo de materia seca, ganancia de peso vivo y condición corporal

Se analizaron mediante la prueba estadística de “t” (student).

3.5.2. Calidad de semen: volumen, Motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología espermática

Se analizaron mediante la prueba estadística de “t” (student); mediante la fórmula siguiente:

$$tc = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

Donde:

\bar{X}_1 : Promedio del grupo N° 1

\bar{X}_2 : Promedio del grupo N° 2

S_1 : Desviación estándar del grupo N° 1

S_2 : Desviación estándar del grupo N° 2

n_1 : Número de muestra del grupo N° 1

n_2 : Número de muestra del grupo N° 2

3.5.4. Fertilidad en llamas hembras

Los datos de la variable de tasa de fertilidad se procesaron mediante la prueba estadística de “Ji – cuadrado”, cuya fórmula fue el siguiente:

$$\chi^2 = \sum \sum \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

Donde:

X^2_c = Ji – Cuadrado calculado.

O_i = Valores observados de la i-ésima clase

E_i = Valores esperados en la i-ésima clase

$\Sigma\Sigma$ = Sumatoria

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CONSUMO DE MATERIA SECA DE LA DIETA SUPLEMENTARIA.

Los resultados sobre consumo de materia seca g/llama/3 horas/día de la dieta suplementaria (compuesta por heno de avena, alfalfa, paja de ichu, minerales y vitaminas) de llamas machos y hembras se muestra en la Tabla 5. En donde el consumo de materia seca para las llamas machos y hembras fue de 270 y 233 g/llama/3horas/día, los cuales reflejan diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Tabla 5: Consumo de la dieta suplementaria por llama, g/llama/3 horas/día.

SEXO	n	PROMEDIO \pm	D.S.	C.V.%
MACHOS	45	270.20	15.60	5.77
HEMBRAS	45	233.56	43.27	18.53

Cuando se realizó suplementación alimenticia de llamas machos y hembras con una dieta de 300g/llama/3horas/día, se observó un consumo de 270g., para machos y 233 g/llama/3horas/día para hembras, esta diferencia de consumo de la dieta suplementaria (DS) entre machos y hembras probablemente se deba al tipo de comedero; debido a que el suministro de la DS de los machos fue en comederos individuales, en cambio la suplementación de hembras se realizó en comederos grupales además el consumo de MS en hembras y machos se vio afectado posiblemente por su comportamiento de emitir escupitajos y las condiciones climáticas (lluvias), en donde la MS ofrecido fue humedecida, el cual influyo negativamente en el cantidad consumida de materia seca.

En general el consumo de materia seca (MS) de la dieta suplementada en llamas fue menor, debido a que se ha limitado el suministro del suplemento en menor cantidad y tiempo 300g/llama/3horas/día para machos y hembras. Sin embargo en otros trabajos la alimentación fue completa todo el día por lo que el consumo de MS siempre será mayor.

4.2. GANANCIA DE PESO VIVO EN LLAMAS HEMBRAS

Los valores para ganancia de peso vivo para hembras se muestran en la tabla 6, en donde la ganancia de PV para las llamas con DS+PN fue de 77.93 y para llamas con PN fue de 16.13 g/animal/día, al final de la fase de suplementación alimenticia de 45 días. Los cuales muestran diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Tabla 6: Ganancia de peso vivo llamas hembras, g/llama/día.

ALIMENTO	n	PROMEDIO \pm	DS	CV %
DS+PN	30	77.93	15.16	19.46
PN	30	16.13	11.46	71.02

En un estudio Bautista *et al.* (2017) indica que las alpacas hembras suplementadas con 333g/alpaca/3horas/día tuvieron ganancias de peso vivo (59 g/alpaca/día), estos son inferiores a los registrados en nuestro estudio, diferencia que sería quizás al menor consumo promedio de materia seca de la dieta (222 g/alpaca/3horas/día) por parte de las alpacas, en cambio el consumo de MS en nuestro trabajo fue mayor (233.56g/llama/3horas/día. Tabla 5) lo cual justificaría la mayor GPV obtenido en nuestro trabajo.

De igual manera se observó una menor ganancia de peso vivo en las llamas madres alimentadas solo con PN 16.13g/llama/día, el cual se debería posiblemente a que existe mayores requerimientos de nutrientes para priorizar la producción de leche para crías, mayor actividad de los órganos reproductores (involución uterina, crecimiento de folículos para la ovulación) y algunas madres aún se encuentran en etapa de crecimiento y desarrollo corporal. En cambio las llamas madres alimentadas con DS+PN lograron una ganancia de 77.93g/llama/día, el cual es superior a la llamas con solo PN, esta diferencia de GPV para llamas con DS+PN se debería al consumo extra de MS en la dieta suplementaria (233.56g /animal/3horas/día Tabla 5).

4.3. GANANCIA DE PESO VIVO EN MACHOS.

Los valores para ganancia de peso vivo en machos se muestran en la tabla 7, en donde la ganancia de peso vivo para las llamas con DS+PN fue 100.00 y para llamas con PN fue de 27.50 g/animal/día al final de la fase de alimentación de 45 días. Los cuales muestran diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Tabla 7: Ganancia de peso vivo llamas machos, g/llama/día.

ALIMEN	n	PROMEDIO \pm	DS	CV %
DS+PN	4	100.00	12.70	12.70
PN	4	27.50	11.00	40.00

Al finalizar la fase de suministro de la dieta suplementaria se registró GPV de 100 y 27g/llama/día para machos con DS+PN y machos con PN, esta

diferencia entre estos grupos se debería probablemente al mayor aporte de nutrientes por el consumo adicional de MS 270g/llama/3horas/día. (tabla. 5) para los machos con DS+PN, el cual nos indica la importancia de la dieta suplementaria para GPV.

García y San Martín (2002) realizaron engorde de llamas bajo diferentes regímenes alimenticios durante 90 días donde en el periodo de 0-30 días encontraron una mayor ganancia de peso ($P<0.05$) en llamas de dos años (183 g/d) que en las de un año de edad (146 g/d). La ganancia de peso fue mayor en la estación de lluvia (171 g/d) que en la estación seca (136 g/d; $P<0.05$). Al evaluar el régimen alimenticio observaron mayor ganancia de peso en ryegrass + trébol (199 g/d) y phalaris + trébol (182 g/d) que en la pradera nativa (78 g/d; $P<0.05$), estos reportes son superiores a los encontrados en este estudio, el cual se debería al tiempo y horas de alimentación el cual fue todo el día durante 90 días en pastos cultivados, en cambio en nuestro estudio solo se suplemento la cantidad de 300g/llama/3horas/día/45 días.

4.4. EVALUACIÓN DE CONDICIÓN CORPORAL EN HEMBRAS

Los valores de condición corporal se muestran en la tabla 8, en donde la condición corporal para las llamas con DS+PN fue 3.67 y para llamas con PN fue de 3.10 puntos; en una escala de (1 - 5), al final de la fase de alimentación de 45 días. Los cuales muestran diferencia significativa ($p\leq 0.05$).

Tabla 8: condición corporal llamas hembras (1-5puntos).

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS + PN	30	2.90	0.31	10.52	3.67	0.48	13.08
PN	30	3.03	0.49	16.16	3.10	0.48	15.51

Bautista *et al.* (2017) determinó condición corporal (3.1) para las alpacas suplementadas con 14% de PT y 2275 kcal/kg de EM en 333g de dieta suplementada. Estos resultados son inferiores a los encontrados en el presente estudio, el cual se deba probablemente por el menor consumo de MS por las alpacas (222g/alpaca/d) siendo inferior a nuestro trabajo donde el consumo fue (233.56g/llama/3horas/día).

La mayor CC de llamas con DS+PN, frente a los de PN (3.67 vs 3.10) se deba probablemente a la mayor ingesta de nutrientes por el consumo de MS de la dieta suplementaria (233.56g/llama/3horas/día), en las llamas con DS+PN.

4.5. EVALUACIÓN DE CONDICIÓN CORPORAL EN MACHOS

Los valores de condición corporal para machos se muestran en la tabla 9, en donde la condición corporal para las llamas con dieta suplementada fue 4.75 y para llamas con pasto natural fue de 3.75 puntos; en una escala de (1 - 5), al final de la fase de alimentación de 45 días. Los cuales muestran diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Tabla 9: condición corporal llamas machos (1-5puntos).

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS+PN.	4	3.50	0.58	16.50	4.75	0.50	10.53
PN	4	3.75	0.50	13.33	3.75	0.50	13.33

Bautista *et al.* (2017) determinó condición corporal de (3.1), para las alpacas machos con 14% de PT y 2275 kcal/kg de EM en 333g de dieta suplementada, estos resultados son inferiores a los encontrados en el presente trabajo, el cual estaría relacionado al menor consumo de MS de su dieta suplementada (150 g MS/alpaca/d), en cambio en nuestro estudio el consumo de MS fue mayor (270g/llama /3horas/día), lo cual coincide con la mayor CC (3.7puntos).

Carhuapoma, Sáenz y Quispe (2009) quienes en un estudio en alpacas en condiciones de pastoreo hicieron la evaluación de CC encontrando $2,99 \pm 0,06$ puntos. Encontrado suficiente evidencia para indicar que el sexo, la edad y la localidad son factores que influyen sobre la CC demostrando que alpacas machos y jóvenes (dientes de leche) tienen mejor condición que los animales hembras y adultos (Dos dientes a más). Estos resultados son inferiores a los encontrados en el presente trabajo, esta diferencia probablemente se deba por tratarse de especies diferentes.

4.6. EVALUACION DE LA CALIDAD DE SEMEN.

4.6.1. Evaluación macroscópica.

4.6.1.1. Volumen.

Los valores de volumen de semen se muestran en la tabla 10, en donde el volumen de semen al inicio del experimento para llamas alimentadas sobre pastos naturales fue de 5.88 y para llamas con dieta suplementada fue de 5.38 ml. al finalizar los volúmenes de semen para los animales alimentados en pasto natural y suplementada fue de 5.50 y 6.0 ml. respectivamente, no habiendo diferencia entre estos grupos ($P \geq 0.05$). Estos resultados son probablemente debido al factor individuo, manejo de método de colección. Además existen otros factores como, el estado fisiológico del macho, edad, frecuencia de colección (Pacheco, 2007).

Tabla 10: Volumen de semen por tipo de alimentación mm³.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS+PN.	4	5.88	2.39	40.74	6.00	0.82	13.61
PN	4	5.38	1.70	31.66	5.50	0.58	10.50

Barreda (2017) realizó la suplementación en alpacas por 45 días con 14% de PT y 2275 kcal/kg de EM en 333g de dieta suplementada, donde las alpacas machos alimentadas con DS+PN obtuvieron un volumen de semen de 3.67 y 1.83mL para machos alimentados con solo PN. Estos resultados

son inferiores a los encontrados en el presente trabajo, el que se debería al método de colección utilizado y la diferencia de especies.

En otro estudio empleando vagina artificial lograron volúmenes de eyaculados de 0.94 ml hasta un volumen de 12.5 ml (Rivera, 1998; Raymundo *et al.*, 2006). Realizando colección de semen del conducto deferente de alpacas empleando la técnica de desviación del conducto deferente se obtuvieron volúmenes de 0.45 a 1.0 ml (Deza, 2004). Estas diferencias se deberían probablemente a los métodos de colección utilizados por los autores mencionados, además de tratarse de diferentes especies.

El método utilizado para la colectada de semen (Relujo vaginal postcoital) no permite obtener un volumen real considerando que el semen recuperado está diluido con secreciones del tracto genital de la hembra, lo cual concuerda con lo citado por (Bravo *et al.*, 1997) que indica que los criterios habituales (volumen, motilidad, concentración, morfología espermática) para la evaluación son de difícil aplicación en la alpaca y llama, debido a la viscosidad de los eyaculados que no permiten una preparación adecuada de las muestras para su examen y no reflejan necesariamente las características de un eyaculado natural (McEvoy *et al.*, 1994).

4.6.2. Evaluación microscópica

4.6.2.1. Motilidad

Los valores para motilidad espermática se muestran en la tabla 11, en donde la motilidad espermática al inicio del experimento para llamas

alimentados sobre con solo PN fue de 55.00% y para llamas alimentados con DS+PN fue de 57.50%, al finalizar los 45 días la motilidad espermática para los animales alimentados en pasto natural (PN) y dieta suplementada más pasto natural (DS+PN) fue de 60.00% y 82.50%. esta diferencia es numérica ya que no existe una diferencia estadística ($P \geq 0.05$). Por tanto concluimos que la suplementación alimenticia no influye en los valores de motilidad espermática.

Tabla 11: Motilidad por tipo de alimento %.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS+PN.	4	57.50	17.08	29.70	82.50	9.57	11.61
PN	4	55.00	20.82	37.85	60.00	21.60	36.00

Barreda (2017) realizó evaluación de calidad de semen por efecto de tipo de alimentación en alpacas machos, encontrando una motilidad de 80.0% y 83.3% para alpacas alimentadas con PN y DS+PN (14% de PT y 2275 kcal/kg de EM). Estos resultados son superiores a los encontrados en el presente trabajo el cual se debería a la diferencia de especies y el método de colección utilizado.

Los resultados encontrados en el presente estudio son superiores al estudio de Bravo y Alarcón (2015), quienes proporcionaron suplementos nutritivos obteniendo una motilidad de 50% en machos suplementados con Preñatec, 33% en machos suplementados con Catosal y 24.4% en machos control. Los mismos alimentados en pasturas naturales y la suplementación nutritiva fue sistémica vía intramuscular con 4 mL de suplemento cada

semana por 6 semanas, antes del empadre. Diferencias que se deberían al tipo del suplemento que recibieron.

4.6.2.2. Concentración espermática

La concentración espermática en llamas se menciona en la tabla 12, en donde la concentración de semen al inicio del experimento en llamas alimentados con pasto natural fue de 9'750,000 y para las llamas con dieta suplementada fue de 11'750,333esp/mm³, y al final del trabajo (45 días) en animales alimentados en pasto natural (PN) y dieta suplementada más pasto natural (DS+PN) fueron 10'250,333 y 48'000,000 esp/mm³, notándose una clara diferencia numérica entre grupos por alimentación y sin diferencia estadística, ($P \geq 0.05$).

Tabla 12: Concentración espermática por tipo de alimento esp/mm³.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V.%
DS+PN.	4	11'750,000.00	4'193,248.54	35.69	48'000,000.00	36'624,217.85	76.30
PN	4	9750000.00	6'701,989.75	68.74	10'250,000.00	8'098,353.74	79.01

Barreda (2017) realizó evaluación de calidad de semen por efecto de tipo de alimentación en alpacas machos, encontrando una concentración de 13'333,333 esp/mm³ y 54'000,000 esp/mm³ para alpacas alimentadas con solo PN y DS+PN (14% de PT y 2275 kcal/kg de EM). Estos resultados son superiores a los encontrados en el presente trabajo esta diferencia posiblemente se atribuye a que son diferentes especies y al método de colección utilizado.

Los resultados obtenidos en el estudio son inferiores a los estudios realizados con suplementos nutritivos (Bravo y Alarcón, 2015) quienes obtuvieron una concentración de 192 millones en machos suplementados con Preñatec, 82 millones en machos suplementados con Catosal y 60 millones en machos control, mantenidas sobre pastos naturales y la suplementación nutritiva antes del empadre. Diferencia que se debería a la especie y tipo de suplementación.

4.6.2.3. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática se muestra en la tabla 13, en donde al inicio de la investigación las llamas alimentadas con pasto natural obtuvieron 89% y los de dieta suplementada 90%, después de 45 días de alimentación el grupo con (DS+PN) y el grupo con (PN) obtuvieron 97% y 90% de vitalidad espermática, donde sí se encontró diferencia ($P \leq 0.05$).

Tabla 13: Vitalidad espermática por tipo de alimento %.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS+PN.	4	89.50	1.29	1.44	96.75	1.26	1.30
PN	4	90.00	3.74	4.16	90.25	2.87	3.18

Barreda (2017) realizó evaluación de calidad de semen por efecto de tipo de alimentación en alpacas machos encontrando espermatozoides con vitalidad de 89% y 96% para alpacas alimentadas con PN y DS+PN (14% de PT y 2275 kcal/kg de EM/45 días). Estos resultados son similares a los encontrados en el presente trabajo.

Los resultados del trabajo de investigación son superiores al estudio realizado (Bravo y Alarcón, 2015) con suplementos nutritivos donde obtuvieron una vitalidad de 86% en machos suplementados con Preñatec, 80% en machos suplementados con Catosal y 88.8% en machos control, siendo mantenidas sobre pastos naturales y la suplementación nutritiva antes del empadre. Diferencia que sería debido a la suplementación alimenticia y especie.

4.6.2.4. Morfología espermática

Los valores para morfología espermática se muestran en la tabla 14, los cuales se refieren a espermatozoides normales, espermatozoides con cabeza anormal, espermatozoides con defecto de cola y con gota citoplasmática en llamas. En donde las llamas alimentadas con PN y las llamas alimentadas con DS+PN obtuvieron 70.77% y 71.22% de espermatozoides normales al final de los 45 días, no habiendo diferencia significativa ($P>0.05$).

Tabla 14: Morfología espermática por tipo de alimento %.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
DS+PN.	4	69.76	4.37	6.26	71.22	2.78	3.91
PN	4	69.57	3.28	4.71	70.77	3.40	4.80

Barreda (2017) realizó evaluación de calidad de semen por efecto de tipo de alimentación en alpacas machos, encontrando espermatozoides normales de 81% y 86% para alpacas alimentados PN y DS+PN (14% de

PT y 2275 kcal/kg de EM). Estos resultados son superiores a los encontrados en el presente trabajo, esto se debería tal vez porque son especies diferentes y al método de colección utilizado.

Los resultados del estudio son similares al estudio de Bravo y Alarcón (2015) realizado con suplementos nutritivos donde obtuvieron espermatozoides normales de 72 % en machos suplementados con Preñatec, 70.2 % en machos suplementados con Catosal y 69.1% en machos control, mantenidas en pastura natural y la suplementación nutritiva antes del empadre.

4.7. FERTILIDAD POR INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.

La fertilidad de llamas por Inseminación artificial se muestra en la tabla 16, donde en el grupo de machos y hembras con dieta suplementada alcanzaron 46.43 %, y en hembras alimentadas solamente sobre pastos naturales fueron 41.38 % de fertilidad, los mismos sometidos a un análisis estadístico no muestran diferencias ($p \geq 0.05$).

Tabla 16: Fertilidad de llamas por inseminación artificial, por efecto de tipo de alimento %.

TRATAMIENTOS (Alimentación)	Nº DE HEMBRAS INSEMINADAS	% DE HEMBRAS PRENADAS
Machos y hembras con DS+PN.	28	46.43
Machos y hembras solo con PN.	29	41.38

Barreda (2017) realizó evaluación de fertilidad por efecto de tipo de alimentación en alpacas hembras, encontrando 35.71% y 35.71% de

preñez para alpacas alimentadas con PN y DS (14% de PT y 2275 kcal/kg de EM). Estos resultados son inferiores a los encontrados en el presente trabajo diferencia que sería posiblemente a la especie, técnica y la calidad de semen previo a la IA.

Los resultado del presente estudio son inferiores, al trabajo realizado por Bravo y Alarcón (2015) sobre el efecto de dos suplementos nutritivos, Preñatec y Catosal fue evaluado en machos y hembras alpacas, mantenidas en pastizales naturales y la suplementación nutritiva fue sistémica, vía intramuscular de 4 mL/semana hasta 6 semanas, antes del empadre; en el cual porcentaje de hembras preñadas fue superior ($P < 0.05$) para hembras preñatec (90 %), hembras catosal (50 %) y hembras control (76 %); trabajo que resalta, tanto en machos (mayor concentración de 192, 82 y 60 millones de espermatozoides con preñatec, catosal, control, respectivamente) como en hembras; lo que influyo en mayor número de hembras preñadas suministradas con preñatec. Esta diferencia probablemente se debe al tipo de técnica reproductiva utilizada (empadre natural vs inseminación artificial).

Los bajos resultados de fertilidad obtenidos en hembras con DS (46.43%) se deberían posiblemente al aumento en condición corporal (3.7 puntos), el cual influye negativamente en la fertilidad de llamas así como indica Apaza (2017) quien realizo Transferencia de Embriones, en donde de 14 llamas receptoras con condición corporal que fluctuaron entre los valores ≥ 2 y ≤ 3 resultaron preñadas diez (71.43%), de 13 llamas receptoras con condición corporal que fluctuaron entre los valores > 3 y < 4 resultaron ocho preñadas

(61.54%) y de seis llamas receptoras con condición corporal que fluctuaron entre los valores ≥ 4 y ≤ 5 resultaron tres preñadas (50%).

En general no existen trabajos sobre el efecto de la suplementación alimenticia en la fertilidad de llamas hembras.

V. CONCLUSIONES

- 1) El consumo de materia seca para llamas machos y hembras fue de 270 y 233 g/animal/3 horas/día, donde se encontró diferencia entre sexos ($p \leq 0.05$).
- 2) La calidad de semen: volumen, motilidad, concentración y morfología espermática en llamas por efecto del tipo de alimentación, no mostraron variabilidad ($P \geq 0.05$) entre los machos alimentados en pastos naturales y los de dieta suplementada.

Pero si se encontró diferencia para la vitalidad espermática de machos alimentados con PN y DS+PN fue de 90% y 97%, estos si mostraron variabilidad ($P \leq 0.05$).

- 3) La ganancia de peso vivo para llamas machos de los grupos: T1, sin suplemento con pasto natural (PN) y T2, con dieta suplementada más pasto natural (DS+PN) fueron de 27.50 y 100.00g/animal/día, se encontró diferencia entre estos dos tratamientos ($p \leq 0.05$).

La ganancia de peso vivo para llamas hembras de los grupos: T1, sin suplemento con pasto natural (PN) y T2, con dieta suplementada (DS) fueron de 16 y 78 g/animal/día, reflejando diferencia entre estos dos grupos ($p \leq 0.05$).

- 4) La condición corporal para llamas machos si refleja variación ($p \leq 0.05$) entre los grupos: T1, sin suplemento con pasto natural (PN) y T2, con dieta suplementada (DS) fueron de 3.75. y 4.75.

La condición corporal para llamas hembras si refleja variación ($p \leq 0.05$), entre los grupos: T1, con pasto natural (PN) y T2, con dieta suplementada y pasto natural (DS+PN), se registró CC de, 3.10 y 3.67.

- 5) La fertilidad de llamas después de 21 días posteriores a la inseminación artificial de los grupos: T1, sin suplemento con pasto natural (PN) y T2, con dieta suplementada (DS+PN) fueron de 41% y 46% esta diferencia es aritmética, porque no se encontró diferencia entre estos grupos ($p \geq 0.05$).

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda realizar estudios en diferentes edades, variedad y con mayor tamaño de muestra, para evaluar el efecto de la suplementación alimenticia sobre la calidad de semen. (volumen, motilidad, vitalidad, concentración y morfología).
- ✓ Realizar la colecta de semen utilizando otro método diferente al utilizado en el presente trabajo, para obtener un volumen real de eyaculado.
- ✓ Para tener mejores resultados se recomienda la evaluación de la actividad ovárica (tamaño y número folicular) antes de realizar la IA.
- ✓ Realizar trabajos con suplementación proteica y energética en época seca.
- ✓ Se recomienda utilizar mayor tamaño de muestra en machos para nuevos estudios sobre consumo de materia seca.

VII. REFERENCIAS

- Adams, G., J. Sumar and O. Ginther. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.*
- Alarcon, V., A. Plasencia, J. Sumar. 1989. Diagnóstico de Gestación por ultrasonido en la Alpaca. (*Lama pacos*) y la Llama (*Lama glama*). Resúmenes de Investigación 1980-1989. Dirección de Investigación. FMVZ-UNA Puno Perú.
- Ampuero, E.; V. Alarcon, y J. Alpaca. 1989. Evaluación de diferentes métodos de diagnóstico de gestación en alpacas. *Bol. Div. N°02 cer-unsaac. Cusco-Perú.*
- Apaza N., R. Sapana, T. Huanca, W. Huanca. 2001. Inseminación artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. *Rev Invest Vet, Perú.*
- Apaza, M. 2017 "Transferencia de embriones por colectas repetidas y gestación en alpacas y llamas" Tesis de Pre-grado, FMVZ, UNA – PUNO.
- Aron, B. 1988. *Nutrición Animal*. 1era edición.
- Arthur, G. 1991. *Reproducción y obstetricia veterinaria*. 1ª edición. Editorial Interamericana.
- Barreda, J.L. 2017 "Efecto de la suplementación alimenticia en la fertilidad de alpacas machos y hembras por inseminación artificial," Tesis de Pre-grado, FMVZ, UNA – PUNO.
- Bautista, J.L., Medina G., Bravo P.W., Roque B., Barreda J.L. y M.N. Quispe. 2017. Efecto de la alimentación en la calidad de semen de alpaca Huacaya en el CIP. La Raya- UNA-Puno. Informe final de investigación grupo de escuela profesional. U.N.A. Puno – Perú.

- Bautista, J.L. 2009. Determinación de los requerimientos de proteína de mantenimiento y crecimiento de alpaca (*Lama pacos*) mediante la técnica de sacrificio comparativo. Tesis Doctoris Philosophiae. UNALM Lima, Perú.
- Bisinotto, R. S., L. F. Greco, E. S. Ribeiro, N. Martinez, F. S. Lima, C. R. Staples, W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2012. Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Animreprod*.
- Bondi, A. y D. Drori. 1988. Nutrición animal. Editorial ACRIBA, S.A. Zaragoza – España.
- Bourke, D.A., C.L. Adam. and C.E. Kyle. 1992. Ultrasonography as an aid controlled breeding in the llama (*lama glama*).
- Burns J.C., K.R. Pond, D.S. Fisher. 1994. Measurement of forage intake. In: Fahey Jr. GC. Forage quality, evaluation, and utilization. Lincon: University of Nebraska.
- Bravo, P.W. 2002. The reproductive process of South American camelids. Salt Lake City, ut: seagull printing.
- Bravo, P.W., V. Alarcon, C. Ordoñez. 2008. Experiences in artificial insemination of llamas and alpacas. ICAR 2008 Satellite Meeting on Camelid Reproduction. Budapest, Hungary: ICAR.
- Bravo, P.W., U. Flores, J. Garnica and C. Ordoñez. 1997. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology*.
- Bravo, P.W., R, Moscoso, V. Alarcon, and C. Ordoñez. 2002. Ejaculatory process and related semen characteristics of llamas and alpacas.

- Bravo, W. y V. Alarcón. 2015. La influencia de suplementos nutritivos en la calidad de semen y fertilidad de la alpaca. VII congreso mundial en camélidos sudamericanos, Puno-Perú.
- Bravo, P. W., D. Diaz, V. Alarcón, and C. Ordoñez. 2010. Effect of the reproductive state of female alpacas on embryonic mortality rate. Am. J. Vet. Res. 71.
- Bravo, W. 1990. Studies on ovarian dynamics and response to copulation en the South American camelids *Lama glama* and *Lama pacos*. Thesis Ph.D university of California, Davis U.S.A.
- Bravo, W. and J. Sumar. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim. Reprod.
- Bustinza, V. 2001. "La alpaca: Conocimiento del gran potencial andino". 1ra. Edic. Publicaciones UNA-Puno. Perú.
- Butler, W. R. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. Livestock Production Science.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. Anim Reprod.
- Byskov, A. 1982. Primordial germcells and regulation of meiosis. En: Reproduction in mammals, editado por C. Austin, R. Sbord. Cambridge: Cambridge University Press.
- Cárdenas, O., M. Ratto, A. Cordero, y W. Huanca. 2003. Evaluación de pérdida fetal temprana en llamas mediante ultrasonografía. Libro de resúmenes del III congreso mundial sobre camélidos. Potosí Bolivia.

- Carhuapoma P., A.P. Sáenz y E.C. Quispe 2009. Efecto de la condición corporal sobre el peso de vellón y finura de fibra en alpacas Huacaya (Vicugna pacos) color blanco en la región Huancavelica. Tesis para optar el Título de Ing. Zootec. UNH. Huancavelica.
- Coblentz, W.K.; K.P. Coffey; J.E. Turner; D.A. Scarbrough; J.S. Weyers; K.F. Jarrison; Z.B.Daniels; C.F. Rosenkrans; D.W. Kellong and D.S. Hubell. 2000. Effect of maturity on degradation kinetics of sod-seeded cereal grain forage grow in Northern Arkansas.
- Contreras, P. 1998. "Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños". Arch. med. vet.
- Cooper, N. 2008. Camelid body scoring. En: <http://www.alpacasnz.co.nz/articles-body-scoring.htm>. Accesado el 22 de agosto de 2009.
- Deza, H. 2004. Conservación de espermatozoides obtenidos a través del conducto deferente de alpacas (*lama pacos*) y llamas (*lama glama*) y su posterior viabilidad. Tesis FMVZ-UNA-Puno.
- Eddy, E., S. Clark, J. Gong and B. Fenderson. 1981. Origin and migration of Primordial germ cells in mammals. Gamete Res.
- Fernández-Baca, S. 1971. "La alpaca reproducción y crianza". Volumen N° 7, IVITA UNMSM, Lima - Perú.
- Fernandez-Baca, S. 1991. Avances y perspectivas de los camélidos sudamericanos. Organización de las naciones unidad para la Agricultura y la alimentación, oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago – Chile.

- Fernández-Baca, S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Animal reproduction science*.
- Fernández-Baca, S., W. Hansel, and C. Novoa. 1970. Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. of Reprod.*
- Franchi, L., A. Mandl and Zuckerman. 1962. The development of the ovary and the process of oogenesis Editado por S. Zukerman.
- Frasinelli, C.A., H. J. Casagrande, y J.H. Veneciano. 2004. La condición corporal como herramienta de manejo en rodeos de cría bovina. INTA- Estación Experimental Agropecuaria San Luis, Información Técnica.
- Genin, D.; P, Abasto y M. Tichit. 1995. Uso de los recursos forrajeros por llamas y ovinos. Wayra pampa. ORSTOM. CONPAC-IBTA, Oruro Bolivia.
- Gigli, I., A. Russo y A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarin 280. 1427. Ciudad autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Gondos, R. 1978. Oogonia and oocytes in mammals. En: *Vertebrato ovary*, editado por R. Iones, New York: Plenum Press.
- Hafez, E. 1989. Reproducción e inseminación artificial en animales. 5ta edición editora Interamericana Mc Graw Hill. México.
- Hafez, E. 2005. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7º edición en español. Editorial Interamericana. México.
- Kraiem, K.; A. Majdoub, S. BE Abbes and N. moujahed. 1997. Effects of the level of supplementation with concentrate on the nutritive value and utilization of oats hay cut a three maturity stage. Elsevier. *Libestock Production*.

- Lopez, A., S. Morales, C. Cabrera, y M. Arias. Ingestión y digestibilidad aparente de forrajes por la Llama (*Lama glama*), y paja de avena (*Avena sativa*).
- Mcevoy T.G., C.E. Kyle, D. Slater, C.L. Adams, D.A. Bourke. 1992. Collection, evaluation and cryopreservation of llama semen, *J. Reprod. Fertil.*
- Neely, D.P. and P.W. Bravo. 1998. Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. In: Youngquist RS (ed). Current therapy in large animal theriogenology. USA: WB Saunders.
- Novoa, C. 1989. Reproducción. In: simposio de producción de alpacas y llamas. XII reunión científica anual. Appa. Perú.
- Novoa, C. 1998. Evaluación reproductiva de camélidos sudamericanos. En: Ruiz, M.; Rivera, B.; Ruiz, A. (eds.), reproducción animal: métodos de estudio en sistemas. Red de investigación en sistemas sostenibles pecuarios de América latina – Rispal, San José, Costa Rica.
- Olivera, L. V. M., D. A. Zago, J. P. Jones, and E. Bevilacqua. 2003. Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. *Anat. Embryo.*
- Pacheco, J. 2007. Métodos de colección de semen en camélidos sudamericanos. Estudiante de la Maestría en Ganadería Andina, especialidad de Reproducción Animal-EPG-UNA-PUNO, Perú.
- Ratto, M. 2005. Ovarian follicular synchronization, ovulation and oocyte development in llamas and alpacas. *Thesis of Doctor of Philosophy in the Department of Veterinary Biomedical Sciences University of Saskatchewan. Canada.*
- Roche J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim reprod science.*

- San Martin, M., M. Copaira, J. Zúñiga, R. Rodríguez, G. Bustinza and L. Acosta. 1968. Aspects of reproduction in the alpaca.
- San Martín, M., y F. Bryant. 1987. Nutrición de los CSA, estado actual de nuestro conocimiento. Art. Téc. T-9-505. College of Agricultura] Sciencie. Texas. University.
- SENAMHI. 2016. Servicio nacional de meteorología e hidrografía Puno - Perú.
- Schneider, J. E. 2004. "Energy balance and reproduction" Physiology and Behaviour.
- Skidmore, J. A. 2011. Reproductive physiology in female old world camelids. Anim. Reprod.
- Sorensen, J. 1982. Reproducción animal principios y prácticas. Editorial interamericana mc graw hill. México.
- Sumar, J. 2007. Demographics and herd management practices in South America. In: youngquist R, threlfallw, editors. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed., st. Louis, mo: saunders/ elsevier.
- Taylor, S., P.J. Taylor, A.N. James and R.A. Godke. 2000. Successful comercial embryo transfer in the llama (*Lama glama*). Theriogenology 53, 344 abst.
- Van Saun, R.J. 2006. Nutrient requirements of South American camelids: a factorial approach. Small rumin res.
- Vaughan, J., K. Macmillan and M. D'Occhio. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. Anim. Reprod.
- García, W., F. San Martín, C. Novoa, y E. Franco. 2002. Engorde de llamas bajo diferentes regímenes alimenticios, IVITA-Maranganí.
- Zuckerman, S. 1962. The ovary. Vol. 2. 600 p. New York; Academic Press.

ANEXOS**ANEXO 1**

Tabla 17: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para motilidad de espermatozoides.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
SUPLEM.	4	49,61	10,35	20,87	65,82	7,18	10,91
PN	4	47,86	12,97	27,09	50,80	13,43	26,44

ANEXO 2

Tabla 18: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para vitalidad de espermatozoides.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
SUPLEM.	4	71,12	1,21	1,70	79,75	1,98	2,48
PN	4	71,83	3,81	5,30	71,93	2,64	3,68

ANEXO 3

Tabla 19: Transformación de datos porcentuales a datos angulares para morfología de espermatozoides.

ALIMENTO	n	INICIO			45 DÍAS		
		PROMEDIO±	DS	C.V. %	PROMEDIO±	DS	C.V. %
SUPLEM.	4	56,69	2,72	4,79	57,58	1,78	3,09
PN	4	56,55	2,02	3,57	57,28	2,09	3,65

ANEXO 4

Tabla 20: Prueba estadística de χ^2 para fertilidad en llamas.

TIPO DE AL.	PN.		SUPLEMENTO.		
PREÑEZ	O_i	e_i	O_i	e_i	TOTAL.
+	12	12.72	13	12.28	25
-	17	16.28	15	15.72	32
TOTAL	29	29.00	28	28.00	57

ANEXO 6



Fig. 1. Consumo de la dieta suplementaria.



Fig. 2. Colección de semen post – copula.



Fig. 3. Evaluación de semen.

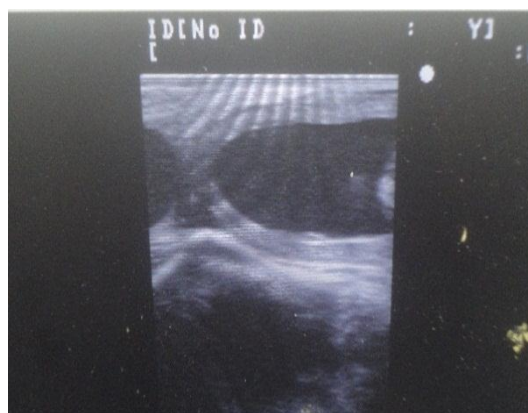


Fig. 4. Vesícula embrionaria.