



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



“EVALUACIÓN ESPERMÁTICA DE ALPACAS
REPRODUCTORES HUACAYA DEL CENTRO EXPERIMENTAL
LA RAYA-UNA PUNO”

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. AMILCAR LIBIO SUCA VALERIANO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2022



DEDICATORIA

*Quiero dedicar este trabajo de tesis a Dios por ser el báculo de mi vida, a mis padres: **Pascual Suca Soncco** y **Dominga Valeriano Inquilla** por su inagotable sacrificio y apoyo constante para ver realizado mi anhelo de ser profesional, mi eterna gratitud.*

*Con inmensa nostalgia a mis docentes que fueron mis jurados que perdieron la vida con esta cruda pandemia: **Dr. Félix Hugo Cotacallapa Gutiérrez** y **Dr. Felipe Santiago Amachi Fernández**, que en vida dejaron en mí una huella para la eternidad.*

*A mis queridos y adorados hijos **Yael** y **Gael** y a el amor de mi vida **Rosmeri** por ser el mejor regalo que Dios me dio y ser el motivo de mi superación personal.*

Amilcar Libio Suca Valeriano



AGRADECIMIENTOS

MIS PROFUNDOS AGRADECIMIENTOS:

A la primera casa de estudios Universidad Nacional del Altiplano - Puno, a la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, quien es alma mater de mi formación profesional, por ser el alma formadora de personas, intelectual y espiritualmente.

Mi sincero agradecimiento al Dr. JULIO MALAGA APAZA, por dirigirme el presente trabajo de investigación, por su constante apoyo intelectual, su aporte científico para que el trabajo sea publicado.

A los docentes que conformaron el Jurado: D. Sc. MANUEL GUIDO PEREZ DURAND, M.Sc. CLEMENTE VILCA CASTRO, M.Sc. F. HALLEY RODRIGUEZ HUANCA agradecerles por sus orientaciones y críticas constructivas en el proceso de investigación.

Al Dr. GUIDO MEDINA SUCA, por ayudarme incansablemente en la ejecución de este trabajo.

Al C.E. "La Raya" – UNA-Puno, a todas las personas que conforman este gran equipo, por la ayuda recibida, tanto técnica como humana, en donde obtuve la información y la base de datos para desarrollar la parte empírica de la investigación.

Al cuerpo de docentes de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por sus valiosas enseñanzas y guía en el logro de mi profesión.

Finalmente, a todos mis amigos; que directa e indirectamente contribuyeron a la culminación del presente trabajo Ruso, Oscar, Gonzalo, Yuliño, Elizabeth, Alicia, Vladimir.

Amilcar Libio Suca Valeriano



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN..... 9

ABSTRACT..... 10

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN..... 12

1.1.1. Objetivo general..... 12

1.1.2. Objetivos específicos 12

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEÓRICO 13

2.1.1. Espermatogénesis..... 13

2.1.2. Control hormonal de la espermatogénesis 16

2.1.3. Los espermatozoides 16

2.1.4. Características del semen de alpaca 17

2.1.5. Motilidad espermática..... 19

2.1.6. Vitalidad espermática..... 21

2.1.7. Morfología espermática 21

2.1.8. Anormalidades espermáticas 22

2.1.9. Colección de semen 25

2.1.10. Definiciones conceptuales 32



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO	34
3.2. MATERIAL DE ESTUDIO	35
3.3. MATERIALES.....	35
3.3.1. Instalaciones.....	35
3.3.2. Equipos	36
3.4. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS.....	37
3.4.1. Método de colección de muestras	37
3.4.2. Método de conservación de muestra.....	39
3.4.3. Método de evaluación microscópica.....	39
3.4.4. Método de evaluación de la motilidad	39
3.4.5. Método de evaluación de la vitalidad	40
3.4.6. Método de evaluación de la morfología.....	41
3.4.7. Análisis estadístico.....	41

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERÍSTICAS EVALUADAS SEGÚN EL PESO VIVO.....	43
4.2. CARACTERÍSTICAS SEGÚN LA LONGITUD TESTICULAR.....	44
4.3. CARACTERÍSTICAS EVALUADAS SEGÚN EDAD.....	45
V. CONCLUSIONES.....	48
VI. RECOMENDACIONES	49
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	50
ANEXOS.....	52

Área : Reproducción Animal

Tema : Evaluación espermática de alpacas reproductores

FECHA DE SUSTENTACION: 11 de agosto del 2022



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Espermiogénesis en mamíferos	14
Figura 2:	Anormalidades primarias y secundarias (*) en los espermatozoides	24
Figura 3:	Ubicación geográfica del C.E. "La Raya"	34
Figura 4:	Registro de datos de los machos durante el empadre.	52
Figura 5:	Espermatozoides vivos (v) espermatozoides muertos(m).	52
Figura 6:	Presencia de eritrocitos, aglutinación de espermatozoides y artefacto.....	53
Figura 7:	Espermatozoide con doble cabeza y un espermatozoide.....	53
Figura 8:	Concentración de espermatozoides	54
Figura 9:	Alpaca macho de 3 años con características espermáticas bajas.....	54
Figura 10:	Alpaca macho con características poco deseables en un hato.	55
Figura 11:	Alpaca macho de 7 años con excelentes características espermáticas.	55



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características obtenidas según el peso vivo de cada macho.....	43
Tabla 2: Características obtenidas según la longitud del largo testicular de cada macho	44
Tabla 3: Características obtenidas según la edad de cada macho	45
Tabla 4: Resumen de medias obtenidas en la evaluación.....	45



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

μm	: Micrómetros.
ABP	: Proteína transportadora de andrógeno.
ADN	: Acido desoxirribonucleico.
C.E.	: Centro experimental.
Col.	: Colaboradores.
CSA	: Camélidos sudamericanos.
E	: Edad del macho.
FSH	: Hormona Folículo Estimulante.
GL	: Glándula.
GNRG	: Hormona liberadora de la gonadotropina.
L_1L_2	: Límite inferior y límite superior.
L2	: Segunda vértebra lumbar.
LH	: Hormona luteinizante.
LT	: Longitud de largo testicular.
MINAGRI	: Ministerio de desarrollo y riego.
M.S.N.M.	: Metros sobre el nivel del mar.
PAF	: Proteína andrógena de fijación.
$PGF2\alpha$: Prostaglandina.
PH	: Potencial de hidrogeniones.
P.V.	: Peso vivo.
S2-4	: Segunda tercera y cuarta vertebra sacra.
T10	: Decima vertebra torácica.
T°	: Temperatura.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Reproducción del Centro Experimental ‘‘La Raya’’, ubicado en el distrito de Santa Rosa de la provincia de Melgar, Departamento de Puno entre los meses de enero y marzo de 2020. Con el objetivo de evaluar 3 características microscópicas del semen de alpaca en cuanto a peso vivo (PV) longitud testicular (LT) y edad (E) de alpacas reproductoras de la C.E. ‘‘La Raya’’ - Puno. Se trabajó con 14 machos de alpacas Huacaya con un (PV) $71.41\text{kg}\pm 6.37$ pesado con balanza electrónica, (LT) $3.85\text{cm}\pm 0.30$ medido con regla vernier de precisión y entre 3 a 10 años de (E) medido por los aretes de identificación de cada macho, se trabajó con 98 eyaculados obtenidos del tracto genital de la hembra post cópula. Cada muestra de semen fresco se evaluó microscópicamente respecto a la motilidad, vitalidad y anomalías de los espermatozoides, obteniendo un promedio de $60,07\%\pm 10,25$, $58,15\%\pm 7,63$ y $13,99\%\pm 3,29$, respectivamente. Estos datos fueron sometidos a un coeficiente de correlación entre (PV) y motilidad $r=0.63$, $p\leq 0.05$ (0.0152) lo que indica que tiene una relación significativa; vitalidad $r=0.4$, anomalías espermáticas $r=-0.63$, $p\leq 0.05$ (0.0167) indica que existe una relación negativa significativa, es decir, a mayor (PV), menor anomalía espermática; para (LT) versus motilidad $r=0.59$, $p\leq 0.05$ (0.0278) esta relación es significativa e indica que si un macho tiene mayor (LT) mayor motilidad espermática tendrá; vitalidad $r=0,31$ anomalías espermáticas $r=-0,37$; y la (E) versus motilidad $r=0.1$, vitalidad $r=0.52$ anomalías espermáticas $r=0.03$. En conclusión, existe una relación positiva entre motilidad y vitalidad frente a (PV), (LT) y (E); sin embargo, existe una relación negativa con las anomalías espermáticas frente a (PV), (LT) y (E).

Palabras clave: Colección de semen, Evaluación de semen, Relación.



ABSTRACT

The present research work was carried out in the Reproduction Laboratory of the ‘‘La raya’’ Experimental Center, located in the Santa Rosa district of the province of Melgar, Department of Puno, between the months of January and March 2020. With the objective of evaluating 3 microscopic characteristics of alpaca semen regarding live weight (LW), testicular length (LT) and age (E) of breeding alpacas from the C.E. The Raya A Puno. We worked with 14 male Huacaya alpacas with a (PV) $71.41\text{kg}\pm 6.37$ weighed with an electronic scale, (LT) $3.85\text{cm}\pm 0.30$ measured with a precision vernier ruler and between 3 to 10 years of (E) measured by the identification earrings of each male, we worked with 98 ejaculates obtained from the genital tract of the female post copula. Each fresh semen sample was microscopically evaluated for sperm motility, vitality, and abnormalities, obtaining $60.07\%\pm 10.25$, $58.15\%\pm 7.63$, and $13.99\%\pm 3.29$ on average, respectively. These data were subjected to a correlation coefficient between (PV) and motility $r=0.63$, $p\leq 0.05$ (0.0152) which indicates that it has a significant relationship; vitality $r=0.4$, sperm abnormalities $r=-0.63$, $p\leq 0.05$ (0.0167) indicates that there is a significant negative relationship, that is, the higher the (PV), the lower the sperm abnormalities; for (LT) versus motility $r=0.59$, $p\leq 0.05$ (0.0278) this relationship is significant and indicates that if a male has higher (LT) greater sperm motility will be; vitality $r=0.31$ sperm abnormalities $r=-0.37$; and the (E) versus motility $r=0.1$, vitality $r=0.52$ sperm abnormalities $r=0.03$. In conclusion, there is a positive relationship between motility and vitality against (PV), (LT) and (E); however, there is a negative relationship with sperm abnormalities against (PV), (LT) and (E).

Keywords: Semen collection, semen evaluation relation, relationship.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La crianza de los camélidos sudamericanos domésticos, alpacas y llamas en el Perú es una de las actividades de mayor importancia e impacto en el desarrollo socio económico de la población alto andina de nuestro país, por su capacidad de adaptación a las difíciles condiciones medioambientales, las alpacas poseen una gran capacidad de adaptación a grandes alturas, su crianza es relevante pues genera productos derivados como carne y fibra, sustento económico de las comunidades alto-andinas asentadas sobre los 4000 m.s.n.m. de la sierra sur(Huanca *et al.*, 2007).

El conocimiento de la biotecnología reproductiva de los camélidos sudamericanos es aún insuficiente, especialmente en lo referido a la fisiología reproductiva del macho.(Bravo *et al.*, 2012) Algunas biotecnologías como la inseminación artificial (IA) han contribuido al progreso genético en diversas especies de animales en producción. Especialmente el bovino; sin embargo existe muy poca información sobre la colección, características, evaluación y conservación del semen en la alpaca, debido a la falta de una metodología confiable y reproducible para la colección de semen, (Serna *et al.*, 2018) .

La producción espermática individual de cada macho está relacionada proporcionalmente al tamaño de los testículos, (Bravo *et al.*, 2003) en un estudio de reservas espermáticas señala no haber encontrado diferencias en la concentración espermática en los testículos del lado derecho e izquierdo, habiendo encontrado una producción promedio de 92 millones de espermatozoides por ml al momento del empadre. (Huanca *et al.*,2007).



La evaluación espermática es una herramienta esencial para realizar una selección adecuada de machos reproductores que puedan heredar las mejores características fenotípicas y genotípicas.

El espermograma representa el conjunto de pruebas de laboratorio encaminadas a evaluar la capacidad fertilizante potencial de una muestra de semen y por tanto la calidad de un eyaculado y la funcionalidad del macho como reproductor. El método más preciso para valorar la calidad de los espermatozoides es estimar el porcentaje de gestaciones y producción de descendencia tras una monta natural o Inseminación Artificial (IA). Sin embargo, esta valoración de la fertilidad in vivo requiere desarrollar ensayos de campo que suponen un importante consumo de tiempo y mano de obra, por esto, habitualmente se recurre al espermograma para evaluar in vitro una serie de parámetros como la motilidad, vitalidad, concentración.(Cuno *et al.*, 2003).

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Objetivo general

Evaluar tres características microscópicas del semen de alpaca respecto al peso vivo, longitud del largo testicular y a la edad de alpacas Huacaya reproductores del C.E. "La Raya" UNA Puno.

1.1.2. Objetivos específicos

- Evaluar la motilidad, vitalidad y anormalidades espermáticas de semen en relación a peso vivo, de las alpacas reproductores Huacaya.
- Evaluar la motilidad, vitalidad y anormalidades espermáticas de semen en relación a la longitud del largo testicular de alpacas reproductores Huacaya.
- Evaluar la motilidad, vitalidad y anormalidades espermáticas de semen por edad de alpacas reproductores Huacaya.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso de diferenciación celular que se lleva a cabo en los testículos (gónadas) en el cual las espermatogonias, a través de varias divisiones meióticas y transformaciones citológicas, dan origen a las espermátidas; este proceso se lleva a cabo en los compartimientos basal y adluminal del túbulo seminífero, separados funcionalmente entre sí por las células de Sertoli, que garantizan el ambiente propicio para que se lleve a cabo la espermatogénesis (Boeta *et al.*,2018).

Bajo la acción de la FSH las células de Sertoli secretan glicoproteínas como transferrina, ceruloplasmina, inhibina, y proteína transportadora de andrógeno ABP; la espermatogénesis se divide en dos fases donde la primera es la espermatocitogénesis, en donde suceden una serie de divisiones en las cuales la Espermatogonia forma las espermátides, y la segunda fase es la espermatogénesis, en las que las espermátides sufren metamorfosis para que logre formar al espermatozoide respectivamente; este proceso para que sea completo se efectúa en siete semanas aproximadamente, conforme se va desarrollando la espermatogénesis (Cuno *et al.*,2003).

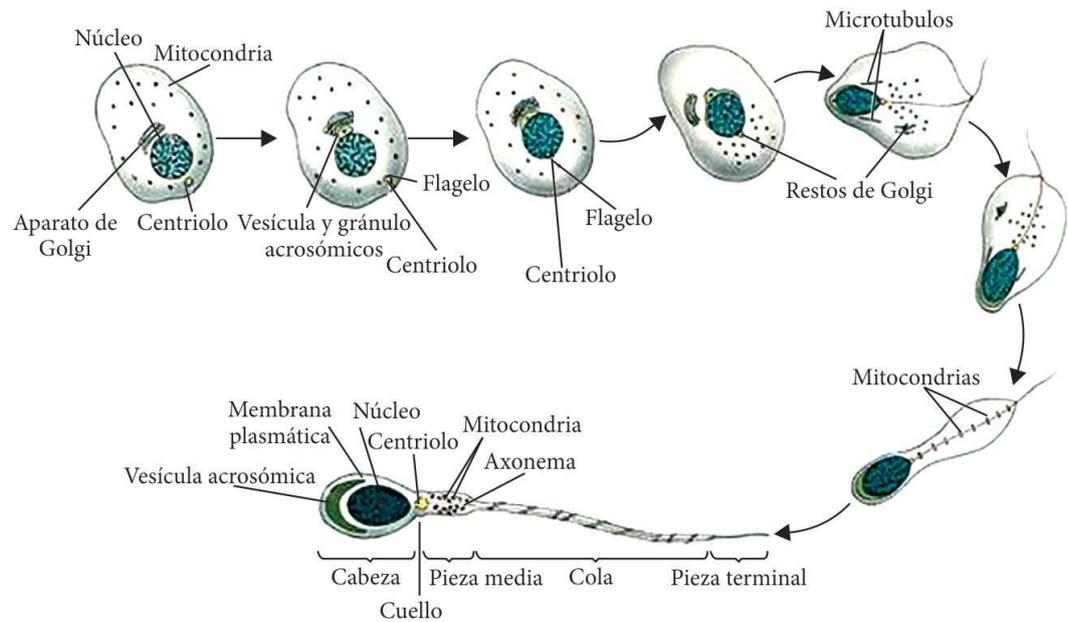


Figura 1: Espermiogénesis en mamíferos

Fuente: (Muiño *et al.*,2005)

A. Espermatocitogénesis.

Los túbulos seminíferos constituyen dos tipos de células, como las células de Sertoli las cuales son grandes y sirven como células nutricionales; el otro tipo de células son las espermatogonias que son células más pequeñas, pero más numerosas y son los gametos primitivos. Los espermatocitos de primer orden están constituidos por cromosomas completos, como las células somáticas; mediante la mitosis de reducción se separan otra vez los pares de cromosomas, emigrando cada uno de los pares hacia los polos del huso.(Boeta *et al.*, 2018)

Aquellos cromosomas no se parten en cromosomas hijos, sino que los paternos se separan de los homólogos maternos y cada uno de estos dos grupos se distribuye en una célula hija, dando como resultado uno con el cromosoma X y el otro con el cromosoma Y que son células hijas haploides; la mitosis ocupacional es la segunda división de maduración; donde cada espermatocito de primer orden deriva cuatro células haploides que son espermátides; las mismas tienen la función de conservar aun el carácter normal



como tales células (Pari & Cotacallapa, 1993), “fase que comprende el proceso por el cual las células germinales primordiales se convierten en espermátides” (Hafez *et al.*, 2002).

B. Espermiogénesis.

Durante la espermatogénesis, también conocida como etapa de diferenciación, los espermatozoides, sin división, experimentan una transformación que los transforma en espermátidas, que finalmente se liberan de las células de Sertoli hacia la luz del túbulo vendedor de las coníferas; la espermatogénesis es un proceso largo y complejo porque los espermatozoides sufren complejos cambios nucleares, citoplasmáticos y morfológicos que conducen a la espermatogénesis; algunos de estos cambios incluyen la condensación del material nuclear para formar un núcleo plano y denso, la eliminación del citoplasma para formar una célula muy pequeña, la formación de una estructura especializada llamada acrosoma o casco, y la formación del cuello y la cola. (bandera) espermatozoides, de los que depende su motilidad. (Boeta *et al.*, 2018).

Durante la mayor parte de la espermatogénesis, los espermatozoides permanecen estrechamente asociados con las células de Sertoli; luego notamos un flagelo prominente hacia el lumen que parecía estar saliendo de las células de Sertoli, de hecho, los flagelos espermáticos aún no habían sido expulsados hacia el lumen antes mencionado, al liberar los espermatozoides hacia la luz del túbulo, las células de Sertoli realizan la fagocitosis de parte del citoplasma de los espermatozoides (cuerpos residuales); también fagocitan los restos de todas las células germinales que sufren apoptosis o degeneran durante la espermatogénesis; se piensa que al realizar estas funciones las células de Sertoli pueden hacer un monitoreo de la eficiencia de la espermatogénesis, lo que les permitiría emitir señales para colaborar en la regulación de ese proceso a nivel gonadal y a nivel sistémico a través de la secreción de hormonas como la inhibina y el estradiol, además de inhibina y activina, las células de Sertoli sintetizan otras proteínas, como la ABP (proteína ligadora



de andrógenos) que sirve como una molécula transportadora de andrógenos dentro de los túbulos seminíferos, conductos deferentes y epidídimo, o la transferrina, que transporta el hierro necesario para la respiración celular.(Boeta *et al.*, 2018).

2.1.2. Control hormonal de la espermatogénesis

La función de la LH en la regulación de la espermatogénesis es indirecta, ya que ésta estimula la liberación de testosterona. La testosterona 6.70 mg/dl y la FSH actúan en Los túbulos seminíferos estimulando la espermatogénesis. La testosterona es necesaria en ciertas etapas de la espermatogénesis, y es más dominante en la regulación de estos procesos. La FSH es más dominante en la regulación de la espermiogénesis, tanto la testosterona como la FSH ejercen una influencia directa a través de las células germinales, indirectamente a través de las células de Sertoli. La FSH estimula a las células de Sertoli para secretar a la proteína andrógena de fijación PAF y la inhibina. La PAF es simplemente un transportador para la testosterona, facilitando su disponibilidad durante la espermatogénesis en los túbulos seminíferos y transportándola a través de la red de testis hacia el epidídimo. La PAF se absorbe en el epidídimo (Ptaszynska & Molina, 2007).

Los controles de retroalimentación que operan entre los testículos, hipotálamo e hipófisis anterior en la regulación de la liberación de gonadotropinas FSH y LH y esteroides gonadales (testosterona). La PG2a estimula la liberación de LH y de testosterona (Muiño *et al.*, 2005).

2.1.3. Los espermatozoides

El espermatozoide es una única célula fecundante diseñada para abandonar el organismo del macho y así poder completar su función biológica de unión al ovocito maduro durante la fecundación, formación del cigoto y embrión; el rol principal de esta



célula es el transporte de un paquete del genoma nuclear y el centriolo, hasta el ovocito (Hafez *et al.*, 2002). Para realizar esta tarea, el espermatozoide está equipado con una batería de estructuras especializadas los que garantizan la interacción particular con el tracto genital femenino y el ovocito y sus envolturas; las cualidades que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, motilidad hiperactiva, integridad estructural y funcional de la membrana, integridad de las enzimas asociadas con la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético(Boeta *et al.*,2018).

2.1.4. Características del semen de alpaca

2.1.4.1. Características macroscópicas

Las principales características macroscópicas en los exámenes de semen de diferentes especies incluyendo al de las alpacas se aborda en la siguiente lista.

A. Volumen

El volumen se puede apreciar en el tubo colector graduado a simple vista en el que se colecta el semen, y se observa que varía según el estado fisiológico del macho, edad, raza, alimentación, frecuencia de colección y separación psicosexual (Quintanilla,2009).

El semen eyaculado es una combinación de las secreciones de los testículos, de las vías de conducción de las secreciones de las glándulas accesorias (Trujillo, 2019)

En alpacas se puede mencionar que existe una variabilidad del volumen del eyaculado entre individuos aun en el mismo individuo de una colección a otra, además, no se descarta que el eyaculado en alpacas sea un proceso continuo (Galindo *et al.*,1995).



B. Color

El color del semen depende de la concentración de espermatozoides y varían según las diferentes especies, (Bonnadona,1986), menciona que el color opaco indica una mayor concentración con orina, sangre u otros elementos. En las alpacas, (Calderón,1976), indican que el color de los eyaculados varia de blanco lechoso a blanco cristalino.

Del mismo modo Sumar & Leyva (1981), encontraron que el color del eyaculado, independiente del volumen, fue de blanco lechoso a blanco cristalino claro, y no encontró ninguna colección de color cristalina que se reporta en las colecciones con electro eyaculado. Chipana (1997), encontró variaciones en el color de semen de alpaca que van desde blanco cristalino, a blanco lechoso, al colectar con vagina artificial.

En la mayoría de especies el semen tiene una coloración blanquecina y su opacidad se halla en función de la concentración espermática. En la alpaca el semen es de color blanco, variando de cristalino a lechoso, correspondiendo a concentraciones altas el color blanco lechoso (Quintanilla,1997)

C. Filancia o aspecto

El eyaculado de los Camélidos Sudamericanos (CSA) es filante y muy viscoso esta característica dificulta el manejo del semen para aplicar en biotecnologías reproductivas y para realizar evaluaciones de rutina. La filancia puede definirse como la capacidad de un fluido de extenderse hasta formar hilos, a su vez un fluido viscoso es aquel en el cual existen fuerzas de atracción entre porciones adyacentes del fluido, estas fuerzas definen el comportamiento del flujo, el cual puede ser estudiado mediante un reograma, un gráfico de fuerza de corte (en función de la velocidad de corte) (Giuliano &



Casaretto, 2011). Por lo tanto, cuando el eyaculado de los CSA se pipetea, se forma un hilo de extensión esta característica es medible (Giuliano *et al.*, 2010).

Esta característica dificulta su manejo durante los procedimientos en el laboratorio (pipetear, frotis por extensión, tinción y otros), dificulta determinar parámetros como concentración espermática y motilidad y su mezcla con dilutores (Garnica *et al.*, 1993; Tibary & Vaughan, 2006). El grado de filancia varía entre machos (Tibary & Memon, 1999) y disminuye con el incremento de número de eyaculados en cualquier día (Bravo *et al.*, 1997). Dicha característica se da a consecuencia de la secreción de una de las glándulas accesorias que lo produce la glándula prostática pero que es importante por la recencia un el factor de ovulación que es imprescindible en la hembra después de la copula.

2.1.4.2. Características microscópicas

Las características microscópicas más importantes son concentración, motilidad, vitalidad, endósmosis y porcentaje de anormalidades espermáticas.

2.1.5. Motilidad espermática

Es una de las pruebas más utilizadas en la valorización de la calidad del semen. Una fuerte y progresiva motilidad es un índice importante de la viabilidad de la población espermática y normalmente, aparece como un movimiento en forma de honda o torbellino, en eyaculados sin diluir a pesar de que la motilidad se puede medir con la ayuda de aparatos, normalmente se hace de forma subjetiva, por el técnico experimentado.

La proporción de células móviles se determinan, también subjetivamente durante el examen microscópico de la muestra. La motilidad se realiza mediante la estimulación visual microscópica del porcentaje (0 - 100%) de células móviles en una muestra de



semen, la motilidad de los espermatozoides es indispensable para que estos puedan acceder hasta las trompas para fertilizar al ovulo (Restrepo & Ocampo, 2013).

Con esta prueba se valora el movimiento masivo de los espermatozoides o el carácter y tipo de movimiento individual, con la finalidad de establecer el porcentaje de espermatozoides vivos, se realiza de 37 a 39 °C. Sumar & Leiva (1981), mencionan que el semen obtenido por vagina artificial en alpacas no muestra motilidad masal (caracterizada por remolinos y turbulencias). Que es propia en especies con alta concentración espermática y gran motilidad individual. Solo se observa motilidad individual con un desplazamiento muy lento, siendo muy fácil seguir a los espermatozoides en su trayectoria.

a) Motilidad individual

Para observar el movimiento individual de las células se mezcla una gota de semen con un pequeño volumen de una solución salina fisiológica y se observa al microscopio bajo un cubre objetos, con lente de gran aumento 40X (Pérez,1990). El movimiento individual se observa rectilíneo y progresivo además del porcentaje de espermatozoides que se mueven. Se requiere como mínimo para un eyaculado un mínimo progresivo de 70%. (Jara,2000).

b) Motilidad masal

Es un movimiento de superficie que refleja la proporción de espermatozoides que presentan algún tipo de movimiento. Para observarlo se deposita una gota de semen puro y se coloca en un portaobjetos, se examina en un microscopio óptico a 40X aumentos y se valora la velocidad con la que se mueven los remolinos que se forman en la superficie de la gota de semen. Se les da una valoración de 0 a 5, siendo solamente utilizados para



inseminación aquellos que presenten una motilidad masal buena cuatro o muy buena cinco (Muiño *et al.*, 2005)

2.1.6. Vitalidad espermática

La vitalidad se refiere a la supervivencia de espermatozoides en relación de los muertos de estas células después de la colecta (Cuno *et al.*, 2003).

Las tinciones permiten diferenciar los espermatozoides vivos de los espermatozoides muertos, así en lo referente a colorantes, la cabeza tiene la propiedad de dejar pasar los colorantes de la membrana acrosomal mientras que los vivos no dejan pasar ningún tipo de colorante o sustancia extraña por lo tanto no se llegan a teñir de ningún color (Rubio, 2019).

2.1.7. Morfología espermática

El espermatozoide es una célula masculina que se caracteriza por ser alargada especializada que está formada por tres componentes principales: cabeza, cuello y cola, ambos rodeados por una membrana espermática o plasmolema (Boeta *et al.*, 2018).

La cabeza del espermatozoide contiene el material genético y mide nueve micrones de largo, cinco micrones de ancho y 0.5 micrones de grosor; en la cabeza del espermatozoide se ubica el núcleo celular y el acrosoma; el núcleo es ovalado, aplanado, y la cromatina está compactada y conformada por ADN unido a histonas espermáticas (Fumuso *et al.*, 2014). Los núcleos de los espermatozoides de la mayor parte de las especies contienen sólo protaminas, mientras que en otras especies contienen cantidades variables de histonas más grandes, ricas en arginina (Hafez *et al.*, 2002). El extremo anterior del núcleo está cubierto por el acrosoma, un delgado saco membranoso de doble capa ubicado sobre el núcleo a manera de casquete, que contiene acrosina, hialurodasa y



otras enzimas hidrolíticas, que participan en el proceso de fecundación(Hafez *et al.*, 2002).

El cuello del espermatozoide es una estructura relativamente corta (0.4-1.5 micrones de largo) ubicada entre la cabeza y la pieza intermedia. Tiene un centriolo rodeado de nueve fibras periféricas orientadas longitudinalmente que se continúan con las fibras exteriores de la pieza intermedia(Hafez *et al.*, 2002).

La cola espermática provee la fuerza motil al espermatozoide; está formada por el cuello y los segmentos principal medio y caudal; la región de la cola comprendida entre el cuello y el anillo citoplasmático es el segmento medio; el centro de este segmento medio, junto con toda su longitud de la cola, comprende el axonema; el axonema, como tal, se compone de nueve pares de microtúbulos dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales; en el segmento medio, esta disposición 9 + 2 de los microtúbulos está rodeada por nueve fibras gruesas o densas que al parecer están relacionadas con los nueve dobletes del axonema; el axonema y las fibras densas asociadas del segmento medio están cubiertos de manera periférica por numerosas mitocondrias; la vaina mitocondrial, dispuesta en un patrón helicoidal alrededor de las fibras longitudinales de la cola, es la fuente de energía necesaria para la motilidad espermática (Boeta *et al.*, 2018)

2.1.8. Anormalidades espermáticas

a) Deformaciones en la cabeza

Las principales formas amorfas que se puede encontrar en relación a la cabeza de los espermatozoides son: cabeza grande, cabeza pequeña, cabeza alargada, cabeza piriforme, cabeza vacuolada y cabezas dobles; en ocasiones, los espermatozoides tienen un fallo en el desarrollo del acrosoma que estructuralmente ocasiona el defecto de una cabeza pequeña y redonda (Giuliano & Ferrari, 2015).



b) Deformaciones del cuello

Las alteraciones de la pieza intermedia de los espermatozoides que se consideran anormales son: el cuello doblado, la inserción asimétrica del cuello en la cabeza, el cuello grueso, el cuello irregular o el cuello muy fino (Dyce *et al.*, 2012).

Por otra parte, la ausencia de mitocondrias dentro de la pieza intermedia también es considerada una anomalía del cuello, ya que las mitocondrias son las encargadas de crear la energía necesaria para que los espermatozoides puedan desplazarse (Dyce *et al.*, 2012).

c) Deformaciones de cola

La cola del espermatozoide puede presentar varios defectos que posteriormente afectaran a su movimiento principalmente. Entre ellos, encontramos la cola corta, la cola doble o múltiple, la cola en horquilla, la cola rota, la cola doblada (ángulo mayor de 90°), la cola enrollada y la cola de espesor irregular (Boeta *et al.*, 2018).

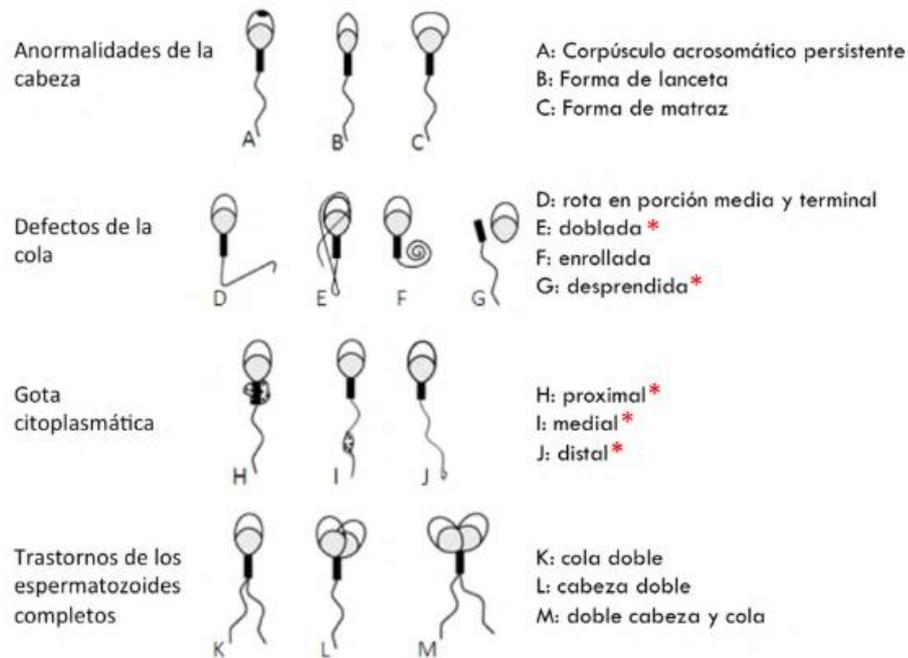


Figura 2: Anormalidades primarias y secundarias (*) en los espermatozoides

Fuente: (Boeta *et al.*, 2018)

Anormalidades primarias

- Forma de cabeza: piriforme, lanceolada, angosta o estrecha.
- Acrosoma: desprendido, rugoso, pequeño.
- Tamaño de cabeza: microcefalia, macrocefalia.
- Cabeza desprendida. Doble cabeza.

Anormalidades secundarias

- Espermatozoides con gota citoplasmática proximal.
- Espermatozoides con gota citoplasmática distal.
- Espermatozoide con cola enrollada.
- Espermatozoide con acrosoma desprendido.
- Espermatozoide con cola quebrada.



2.1.9. Colección de semen

Los autores e investigadores en diferentes zonas han efectuado estudios de colección de semen con alpacas, usando diversos métodos similares a otras especies domésticas ya estudiadas, como las fundas vaginales y esponjas vaginales, postcopula, electroeyaculación y vagina artificial (Sumar & García, 1991).

La colecta de semen varía de acuerdo a la especie por su comportamiento sexual, y en el caso particular de los camélidos sudamericanos, se presentan características muy peculiares. Como la posición en el apareamiento es decúbito ventral y el animal presentan temperamento nervioso, hace que la obtención de semen presente serias dificultades (Bravo *et al.*, 2012). La colección de semen en camélidos sudamericanos presenta dificultades como: la duración de la cópula, la posición de cópula, el lugar de depósito del semen y el tipo de eyaculación, así como el aspecto del eyaculado, su extrema viscosidad y lo dificultoso de su manejo, esto hizo que durante varias décadas se investigue una técnica óptima para poder extraer este semen y poder manejar los espermatozoides sin que estos pierdan su capacidad fecundante (Ramírez, 2019)

Los reportes sobre métodos de colección son diversos desde el primer reporte por aun no definirse exactamente el método idóneo para realizar biotecnologías reproductivas puesto tiene muchas limitantes las cuales con la investigación y experimentación paulatinamente se ira superando (Bravo *et al.*, 2012).

2.1.9.1. Fundas vaginales

Fue la primera técnica de colección de semen en alpacas, utilizando una funda de jebe colocada dentro de la vagina antes de la copula; después de la copula se retiraba la funda que servía de recipiente de semen; con esta técnica se logró coleccionar semen, aún con algunos inconvenientes, ya que se interfería con la copula normal y alargaba el tiempo



de monta, más allá de lo normal; la colocación de la funda dentro del tracto genital y su fijación daba problemas y con frecuencia provocaban lesiones que inhabilitaban a la hembra para su uso posterior; existieron otros intentos de coleccionar semen con fundas vaginales, realizadas en 1991, se realizó un estudio de colección de semen en alpacas mediante la técnica del preservativo, obteniendo pequeños volúmenes y bajas condiciones espermáticas (Mogrovejo, 1952). Esta técnica fue realizada sin tener conocimientos previos de como copulaba el macho, en este estudio no se sabía sobre la eyaculación intracornual, que el pene tenía que penetrar hasta los cuernos uterinos y al no poder realizar esta acción el macho no terminaba de copular. El trabajo dio muchos inconvenientes al no completar la copula, al dañar a la hembra al introducir un tubo de PVC y posteriormente se dejó de usar esta técnica por ser muy invasiva y poco aplicable (Sucapuca, 1991).

2.1.9.2. Esponjas vaginales

Esta investigación fue realizada por San Martín, (1961). con trozos de esponja que se introducen en la parte anterior del tracto genital de la hembra y que absorbe el semen y otros fluidos vaginales, sirviendo como contenedores; fue el primer trabajo de colección de semen post copula, el inconveniente de este método es que logra obtener semen muy contaminado y mezclado con los fluidos del tracto genital femenino y esto diluye el semen y es contaminado, dificultando así su evaluación, por lo que no se recomienda su uso para fines de inseminación artificial. (Pacheco, 2008) citado por (Ramírez, 2019).

2.1.9.3. Electroeyaculación

El uso de la electroeyaculación para la colección de semen fue diseñado para obtener semen de animales silvestres como leones y demás animales silvestres que no se podía obtener el semen de otra forma. con esta técnica se estimula el centro prostático



que determina la eyaculación, al trasladar esta técnica al camélido no daba buenos resultados dado que de las colecciones que hacían se estimulaba no solo la próstata sino también la vejiga por lo tanto llegaron a coleccionar un 80% de semen pervertido con orina a causa de que este equipo no estaba diseñado para camélidos sino era de toros u ovinos con diferentes voltajes hasta que en los años 2000 en argentina la mejoran esta técnica para la aplicación en camélidos mejorando el sistema de anestesia, mejor manejo del dolor, diseñaron un sistema para que orinaran antes de aplicar esta técnica y de esta manera evitarían esos problemas.(Pacheco, 2008)

La universidad de San Marcos (Fernández *et al.*,1966) realizó trabajos con esta técnica empleando alpacas, posteriormente esta técnica fue realizada en el C.E. “La Raya” obteniendo semen e vicuña y de alpacas, utilizando un equipo de fabricación nacional, con una intensidad máxima de 40 voltios, se obtuvieron muestras de semen con la ventaja de realizar la colección sin la necesidad de tener hembras en celo, el semen obtenido es bacteriológicamente el más limpio de las demás técnicas, acorta el tiempo de colección y realizar a lo largo de todo el año, sin embargo el semen obtenido es más voluminoso debido a la estimulación directa de las glándulas anexas y menos concentrado (diluido) con menor viscosidad puesto que es alterado bioquímicamente.

Los animales inducidos con esta técnica demoran 10 a 20 minutos en recuperarse de la anestesia es una técnica muy dolorosa e invasiva, necesita de un equipo calibrado es recomendado para animales de las cuales no se puede obtener el semen de otra forma para animales silvestres como vicuñas y guanacos. (Cárdenas *et al.*, 1987).



2.1.9.4. Fistula uretral

Técnica descrita por Kubiceck (1974) al no poder colectar una muestra de semen por vagina artificial desarrollo este método que requiere realizar una fístula quirúrgica en la uretra entre el ano y el escroto, la incisión se realiza en la piel y el semen es colectado durante una copula natural previamente haber sanado la herida quirúrgica, esta técnica se realiza utilizando anestesia epidural y anestesia local para colocar un catéter plástico en la uretra desde el pene hasta la vejiga, el cual sirve para guiar la cirugía y ayuda a identificar la uretra; el autor indico que causaba mucho dolor, mucha infección post quirúrgica y en estos tiempos y con los estándares de bienestar animal no se puede utilizar más esta técnica Kubiceck (1974) citado por (Ramírez, 2019)

2.1.9.5. Aspiración uterina post copula

Técnica usada en Puno post copula con una pipeta rígida y palpación rectal dirigiendo la pipeta cual inseminación artificial hacia el útero y con una jeringa aspirar la muestra seminal post copula; este estudio indico que por acción de la copula el útero quedaba muy friable, muy débil y al tratar de introducir la pipeta se perforaba el útero por acción de un salto de la hembra o la friabilidad del tracto genital(Pacheco, 2008).

2.1.9.6. Aspiración post copula

Estudio iniciado por conocimiento de existencia de un equipo de uso humano para la visualización del colon que se translocó para el uso como vaginoscopio en camélidos. Las muestras de semen pueden ser obtenidas por aspiración del fondo de la vagina después de la copula con ayuda de un Sigmoidoscopio de uso humano, ya que una pequeña cantidad de semen es eyaculada al momento de llevar el pene de un cuerno al otro, este método no es invasivo ni tedioso pero la desventaja es que este semen es



incompleto, contaminado y diluido con las secreciones del tracto genital femenino, (Neely & Bravo,1998) 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 diferentes colores que van de un color blanco cristalino, blanco lechoso, rosado, rojo claro, rojo oscuro ya que el endometrio se encuentra inflamado y lacerado por la copula; la técnica es introducir un Sigmoidoscopio por la vulva previamente aseada y con la ayuda de una fuente de luz se ubica la cérvix, inmediatamente por acción de gravedad y con ayuda de asistentes se deja caer semen que quedo arrastrado por la copula del macho, este semen es colectado en un tubo falcon, la utilización de este tipo de semen para evaluar la fertilidad del macho es muy cuestionada por otro lado la técnica es tan sencilla y tan practica que es una técnica para usarse en campo(Bravo *et al.*, 2002).

2.1.9.7.Vagina artificial

Esta técnica fue desarrollada por Sumar & Leyva (1981), para lo cual construyeron un maniquí en forma de una hembra sentada en posición de copula; la vagina artificial fue una modificación de la vagina artificial usada para vacunos y ovinos, la cual consistía en un tubo rígido de 7 cm de diámetro por 25 de largo con una funda interna de látex, un cono de látex al que envolvía un alambre en espiral simulando la cérvix de la alpaca y al final un frasco de colección de semen de ovino ó un tubo de centrifuga, el agua a 45°C. se coloca por una válvula; al inicio tuvieron ciertos inconvenientes como la temperatura adecuada de la vagina artificial, la presión correcta, era el arte de engañar al macho para que pueda copular dentro de la vagina artificial lo más completo posible; los machos aceptaron el maniquí después de un corto entrenamiento; la copula se interrumpía cada 10 min aproximadamente para renovar el agua caliente, el semen colectado varió, dependiendo de los machos, el tiempo de copula



y el número de interrupciones que se les hacía para cambiar el agua, el color del eyaculado, independientemente del volumen, fue de un blanco lechoso a blanco claro, este semen no muestra motilidad masal por lo espeso de su consistencia.

La utilización de vagina artificial en combinación con una hembra receptiva es la técnica más óptima de obtener semen de buena calidad, el que se puede utilizar para fines de inseminación artificial, teniendo en cuenta de usar una fuente de calor continuo y la característica que imite a la cérvix de solo utilizar el maniquí solo, incrementando el tiempo de copula (Bravo *et al.*, 1997).

En Bolivia se trató de mejorar la técnica de la vagina artificial utilizando un maniquí de grupa, el cual es un aditamento que se le coloca a la hembra sin necesidad de contar con un maniquí de cuerpo completo, la técnica es similar a la del maniquí, y otra técnica es la de la vagina artificial por desviación del pene en el momento de la penetración, tal como se realiza en vacunos, al comparar las tres técnicas se tuvo una aceptación por parte del macho del 20 % para la técnica del maniquí completo sin hembra receptiva, 80 % para la técnica del maniquí de grupa y un 90 % para la técnica de la desviación del pene al inicio de la copula, según el autor la última técnica es la más recomendable pues evita la contaminación del eyaculado (Ramírez, 2019).

2.1.9.8. Desviación de los conductos deferentes

Con el fin de coleccionar espermatozoides libres de la secreción de las glándulas anexas en alpacas, puesto que una limitante para el trabajo, la manipulación de semen es la viscosidad y con el fin de evitar este problema se desarrolla las técnicas de la desviación de los conductos deferentes y la extirpación de la próstata; la primera técnica intenta coleccionar espermatozoides directamente de su reservorio, la cola del epidídimo, sin que estos tengan contacto con las secreciones de las glándulas anexas, desviando



quirúrgicamente los conductos deferentes hacia la región ventral del animal ó la cara interna del muslo, formando una fístula permanente en la piel desde donde se puedan colectar continuamente sin la necesidad de tener hembra receptiva ni someter a los espermatozoides a la acción de enzimas proteolíticas que intenten licuefactar el coagulo del eyaculado para la mejor manipulación espermática (Paricahua, 2001)

Las ventajas de esta técnica es que se obtiene espermatozoides y ya no el semen así que se puede hacer el manejo de mejor forma, se puede obtener todo el año una vez sanado la intervención quirúrgica, la cirugía no es complicada y puede durar como 40 min, los animales se acostumbran fácilmente, la técnica no es muy lesiva, puede copular para obtener el plasma seminal puro en una vagina artificial sin embargo el tiempo de vida de los espermatozoides recuperados por esta técnica tienen el tiempo de vida muy limitado (Quintano, 2002).

2.1.9.9. Bulbourectomía

Esta técnica fue desarrollada con la finalidad de obtener espermatozoides sin la secreción de las glándulas bulbouretrales, las cuales, según literatura, son las encargadas de producir el material viscoso del semen entero, el cual causa gran dificultad en su manipulación; las características del semen obtenido se asemejan e incluso son superiores a las características del semen entero obtenido por vagina artificial, pero se indica una gran dificultad en la técnica quirúrgica por la ubicación de dicho órgano, lo que no permitió realizar esta técnica, optándose por realizar la prostatectomía (Ramírez, 2019).

La técnica de la bulbourectomía para posibilitar la colección de semen de llamas con escaso nivel de viscosidad, para lo cual se describe la técnica, con una incisión en la piel perianal hasta visualizar la uretra pélvica y las glándulas bulbouretrales, las cuales fueron extirpadas, esta técnica dura en promedio 3 horas con una recuperación



completa del animal en 17 días (Copa *et al.*,2003). Los animales fueron sometidos a una bulbouretrectomía y luego del reposo post operatorio, se realizó la colección de semen utilizando vagina artificial con la técnica del maniquí de grupa a intervalos de una semana; este eyaculado no posee viscosidad por lo que su manejo es más fácil y se puede utilizar dilutores usados en otras especies.

El problema es al momento de abordar la cirugía puesto que es muy riesgosa pasando vasos sanguíneos y músculos, sin embargo, al obtener las muestras de semen estas son de excelente calidad y de fácil manejo evitando esa viscosidad tan molesta que se secreta en esta glándula bulbouretral; anteriormente se realizaba prostatectomía no obstante al conocerse que la próstata de la alpaca macho tiene el factor de ovulación de la hembra ya no se usa más.(Pacheco, 2008).

2.1.10. Definiciones conceptuales

- a) **Alpaca.-** Especie doméstica de mamífero artiodáctilo de la familia camelidae de 2 razas usados para la producción de fibra.
- b) **Colección de semen.** - Proceso de obtención de semen de animales domésticos o de los seres humanos con el uso de varios métodos.
- c) **Eyaculación.** - Es la expulsión o emisión de semen a través del pene.
- d) **Filancia.** - Viscosidad anormal que forma un hilo al dejar caer una muestra de una pipeta.
- e) **Viscosidad.-** Es una propiedad física característica de todos los fluidos, la cual emerge de las colisiones entre las partículas del fluido que se mueven a diferentes velocidades, provocando una resistencia a su movimiento según la Teoría cinética.
- f) **Concentración.** - Es la cantidad en que se encuentran las sustancias que se disuelven (solute) en relación a la o las sustancias que lo disuelven (solvente).



- g) **Motilidad.** - Facultad de moverse que tiene la materia viva como respuesta a ciertos estímulos.
- h) **Vitalidad.** - Dinamismo de la algo que manifiesta cierta actividad o energía.
- i) **Morfología.** - Es la disciplina encargada del estudio de la estructura de un organismo o taxón y sus componentes o características.
- j) **Osmosis.** - Es el movimiento de moléculas a través de una membrana permeable con el objetivo de igualar las concentraciones de solutos.
- k) **Semen.** - Conjunto de espermatozoides y sustancias fluidas que se producen en el aparato genital masculino de todos los animales.
- l) **Sigmoidoscopio.** - Instrumento delgado en forma de tubo, con una luz y una lente para observar. A veces también tiene una herramienta para extraer tejido también se le denomina proctosigmoidoscopia.
- m) **Espermatozoide.** - Célula reproductora masculina de los animales, destinada a la fecundación del óvulo; mide de diez a sesenta micras de longitud y está compuesta de una cabeza que contiene el material cromosómico y de una cola o flagelo que actúa como propulsor.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro Experimental “La Raya” dependencia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, ubicado en el distrito de Santa Rosa provincia de Melgar departamento de Puno, limitando con el departamento de Cusco, a una altitud de 4237 metros de altitud, 4100 (zona baja) y 5400 msnm (zona alta) con una superficie de 5.905,87 hectáreas, próximo a las coordenadas 14° 30’ 33” de longitud sur y 70° 57’ 12” de longitud oeste encontrándose en el kilómetro 205 de la carretera Puno – Cusco. La temperatura anual promedio es de 4.85 °C. (- 8.24. 0 °C mínimo y 17.85 °C máximo) y una precipitación pluvial de 525.7 mm (Senami 2019). Y cuya ubicación política y geográfica se menciona a continuación:



Figura 3: Ubicación geográfica del C.E. “La Raya”.

Fuente: Google maps

Las muestras de semen de las alpacas se evaluaron en el Laboratorio del Centro Experimental “La Raya” MACHU WASI de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, Puno.



3.2. MATERIAL DE ESTUDIO

Las alpacas se manejaron bajo el sistema de pastoreo extensivo, su alimentación fue a base de pastos naturales; las principales especies de pastos naturales que son consumidas por las alpacas durante la época de lluvias y de secano son: *Calamagrostis rigencens*, *Stipa ichu*, *Maergericarpus pinnatus*, *Festuca dolichophylla*, *Calamagrostis sp*, *Hipchoeris stenocephala*, *Eleocharis albibracteata*, *Alchemilla pinnata*, *Trifolium amabile*, *Stipa brachiphylla*, *Calamagrostis vicunaru*, *Bromus lanatus*, *Poa sp*, *Ranunculus uniflorus* .

Por las características del trabajo, se utilizaron del 100% de alpacas Huacaya machos empleadas como reproductores del Centro Experimental "La Raya", en un grupo de 14. Se colecto las muestras post copula de las hembras.

El material biológico empleado fue semen de alpaca (*Vicugna pacos*) colectado del tracto genital de las hembras post copula de 14 machos adultos empleados como reproductores del Centro Experimental "La Raya", dichos animales se presentaron entre 3 - 10 años de edad. Para la colecta, por el tipo de empadre (controlado) estos machos se encontraron con características relativamente deseables con una condición corporal 4.4.

3.3. MATERIALES

3.3.1. Instalaciones

El trabajo de campo que consiste en la colección de semen se hizo en el lugar de empadre a temperatura ambiente (Raya Pata). La parte laboratorial se efectuó en "Machuwasí" en el Laboratorio de reproducción del Centro Experimental "La Raya"



3.3.2. Equipos

Los usados para la evaluación de semen fueron:

- Platina temperada
- Balanza electrónica
- Microscopio óptico
- Baño María
- Centrifuga
- Micropipeta
- Tips de micropipeta
- Computadora
- Cámara fotográfica automática
- Regla vernier
- Tubos colectores cónicos falcon
- Tubos viales
- Porta objetor
- Cubreobjetos
- Cámara de Neubauer
- Colorante eosina
- Colorante nigrosina



3.4. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

- Se identificaron a los machos por el número de arete y por el número designado para la campaña (pintado en la región escapular con pintura esmalte) a tempranas horas de la mañana.
- Consecuentemente se seleccionó a las hembras receptivas usando un macho que detecte la receptividad por efecto de monta, una vez seleccionadas se ingresaron los machos al empadre.
- Posteriormente se esperó que terminen la copula de 15 a 43 minutos para inmediatamente concluido sea higienizada la zona perivulvar con gasa y agua temperada y la copula sea colectada con ayuda de unos asistentes.
- Con un Sigmoidoscopio temperado a temperatura corporal se introdujo en el tracto genital de la hembra introduciendo de 5 a 10 cm.
- Con ayuda de unos asistentes la alpaca hembra es sujeta y levantada, así por gravedad el semen se desliza hacia el proctoscopio y de este a su vez hacia el tubo colector de fondo cónico (tubos falcom de 15 ml) a temperatura corporal.
- Una vez colectada la muestra se guardó en un chaleco acondicionado para que se mantenga lo mejor posible la temperatura.
- Todas las muestras fueron debidamente rotuladas y transportadas al laboratorio donde inmediatamente se colocó en un baño maría a 36°C.(Bravo *et al.*, 2012).

3.4.1. Método de colección de muestras

- El muestreo se realizó como recomienda (Torres, 2018) en la “punta” denominada Raya Pata a 4335 m.s.n.m. en horas de la mañana de 5:30 a 7:00 am; a 6°C con sensación de 4°C temperatura ambiente, donde se seleccionó hembras receptivas por monta directa usando al macho con más libido, seleccionando el



número de machos disponibles, después de identificar a los machos con el número de arete y número de macho (pintado en el cuerpo con pintura esmalte), se ingresaron a las hembras primeramente al corral de empadre para posteriormente dejar ingresar a los machos ordenadamente para que copule sin agredirse entre machos.

- Se esperó que terminen la copula y mientras se registraba los datos del macho en un cuaderno de campo; a los machos que no lograban penetrar se ayudó manualmente, la copula duro aproximadamente de 15 a 43 minutos, al terminar la copula los machos fueron inmediatamente retirados al corral para machos evitando repeticiones o interferencias a otros machos.
- La hembra servida con ayuda de 2 asistentes inmediatamente fue sometida a la técnica de colección seminal post copula con un Sigmoidoscopio temperado a temperatura corporal.
- La hembra fue higienizada en la zona perianal con agua tibia y gasa aun cuando está en posición decúbito ventral o posición de copula, para posteriormente insertar el especulo o proctoscopio hacia la vagina con movimientos rotatorios de ingreso y salida como recogiendo agua de un manantial en un tubo; una vez ingresado de 5 a 10 cm se inclinó el especulo en 20 a 30° hacia abajo para que por gravedad el semen se deslice hacia el tubo falcom que está al otro extremo del especulo.
- Inmediatamente después de coleccionar el tubo fue rotulado y guardado en un chaleco acondicionado a temperatura corporal 30° aproximadamente hasta llegar al laboratorio de reproducción; como indica (Bravo *et al.*, 2012) demorando 20 a 30 minutos hasta llegar para su posterior evaluación.



3.4.2. Método de conservación de muestra

- Una vez transportadas hacia el laboratorio de reproducción de "Machu Wasi", en el CE "La Raya". Los tubos con contenido seminal fueron inmediatamente colocados en baño maría previamente preparado a una temperatura de 37°C.

3.4.3. Método de evaluación microscópica

- La evaluación microscópica se ejecutó utilizando un microscopio LEICA y adaptando una platina temperada a 37°C y calentando los portaobjetos, cubreobjetos y tips de micropipeta anticipadamente a 37°C dentro de un ambiente cerrado a temperatura ambiente en el laboratorio de reproducción de "Machu Wasi" en el Centro Experimental "La Raya" perteneciente a la facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Del Altiplano Puno.

3.4.4. Método de evaluación de la motilidad

- La motilidad individual de los espermatozoides se determinó al momento de la colección, las muestras fueron observadas a un aumento de 100x de la siguiente forma como recomienda (Torres, 2018):
- En este procedimiento se utilizó un microscopio óptico Leica al cual se le acoplo una platina calentada a 37°C. Este mantenía la temperatura para tener las muestras en óptimas condiciones para la lectura.
- Se colocó 10 uL de la muestra en una lámina porta objetos con una micropipeta y un tip previamente temperado a 37°C. para evitar el shock térmico posteriormente se colocó una lámina cubreobjetos también calentada previamente.
- Se examinó en tres campos y se contabilizaron a los espermatozoides motiles y no motiles.



- Consecuentemente se dio la lectura y se sacó un porcentaje de motilidad aplicando la siguiente fórmula.

$$\% \text{ De motilidad} = \frac{N^{\circ} \text{ de espermatozoides motiles}}{N^{\circ} \text{ total de espermatozoides observados}} \times 100$$

3.4.5. Método de evaluación de la vitalidad

- La técnica de tinción se realizó mediante lo descrito por Srivastava y Pande, (2017) con ciertas modificaciones.
- Se determinó mediante la técnica de coloración supravital, tinción Eosina Nigrosina, (Eosina al 1%, Nigrosina al 5%) mediante el procedimiento siguiente:
- Se colocó una lámina portaobjetos sobre una platina térmica a 37°C, con la finalidad de atemperarlo.
- Se pipeteó del tubo colector falcón 30 µl. de semen y lo aspirado se colocó sobre una lámina portaobjetos, luego se vertió a su lado 20 µl. de colorante Eosina – Nigrosina a 37°C, seguidamente con la punta del tip se homogenizó el semen con el colorante dejando en la platina térmica, con la finalidad de teñir las células espermáticas muertas.
- Se realizó un frotis con otra lámina portaobjetos, extendiendo la mezcla sobre la lámina de un extremo a otro y se procedió al secado del frotis sobre una platina atemperada a 37°C.
- La evaluación de la vitalidad espermática se realizó con la ayuda de un microscopio a 40X y se hizo el conteo de 100 células espermáticas en diferentes campos del frotis.
- Se consideró espermatozoides vivos a aquellos que presentaron coloración blanco grisáceo y espermatozoides muertos los teñidos de color rosado.
- Los resultados se expresaron en porcentajes según la siguiente ecuación:



$$\% \text{ De vitalidad} = \frac{N^{\circ} \text{ de espermatozoides sin color}}{N^{\circ} \text{ total de espermatozoides observados}} \times 100$$

3.4.6. Método de evaluación de la morfología

- Para la observación de anomalías se procedió según lo descrito por (Torres, 2018) de la siguiente forma:
- Con la utilización de una micropipeta se absorbió 30 μ l de semen puro del tubo colectado, para luego extenderlo en una lámina portaobjetos mediante frotis en un área adecuado, se dejó secar por 3 minutos.
- Agregamos el colorante (eosina-nigrosina) para mejorar la visibilidad por 1 minuto en seguida se retiró dejando escurrir el colorante por unos segundos, luego se procedió a enjuagar el revés de la lámina con agua, dejando a intemperie para su secado por 10 minutos.
- Finalmente, se procedió a evaluar las láminas en microscopio a 100X con utilización de aceite de inmersión, para observar porcentajes de anomalías espermáticas, mediante la fórmula:

$$\text{Morfología \%} = \frac{N^{\circ} \text{ de espermatozoides anormales}}{N^{\circ} \text{ total de espermatozoides observados}} \times 100$$

3.4.7. Análisis estadístico

- El coeficiente de correlación de Pearson es una medida lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas, de manera menos formal, podemos definir el coeficiente de correlación de Pearson como un índice que puede utilizarse para medir el grado de relación de dos variables siempre y cuando ambas sean cuantitativas y continuas, el coeficiente de correlación de Pearson viene definido por la siguiente expresión:



$$r = \frac{\sum[(xi - \bar{x})(yi - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(xi - \bar{x})^2 * \sum(yi - \bar{y})^2}}$$

r= Coeficiente de correlación de Pearson.

\bar{x} = Promedio de las variables independientes.

\bar{y} = Promedio de las variables dependientes.

$\sum x_i$ = Sumatoria de las variables independientes.

$\sum y_i$ = Sumatoria de las variables dependientes.

Aunque la interpretación de la magnitud del coeficiente de correlación depende del contexto particular de aplicación, en términos generales se considera lo siguiente: Correlación baja < 0,30 en valor absoluto, correlación moderada o asociación (0,30 - 0,70) y correlación alta > 0,70 (Quevedo *et al.*, 2003).

Para la obtención del análisis de correlación y estadística descriptiva se utilizó un software denominado infostat versión 2022.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERÍSTICAS EVALUADAS SEGÚN EL PESO VIVO

Tabla 1: Características obtenidas según el peso vivo de cada macho

Variable (1)	Variable (2)	n	r	p-valor
Peso vivo	Motilidad	14	0.63	0.0152*
Peso vivo	Vitalidad	14	0.4	0.1556
Peso vivo	Anormalidades	14	-0.63	0.0167*

(*) Indica que existe significativa ($P \leq 0.05$)

La tabla número 1 muestra la relación que existe entre el peso vivo y la motilidad, mostrando un $r = 0.63$ el cual indica que existe una intensidad de relación positiva y un p-valor de 0.0152 la cual indica que en las alpacas machos reproductores Huacaya, el valor del peso vivo del animal, tienen relación con la motilidad de espermatozoides. Mientras un macho tenga un peso vivo mayor existirá mayor motilidad.

Sin embargo, la vitalidad y el peso vivo aún están relacionados positivamente tal como muestra la $r = 0.4$ sin embargo parece no ser significativo esto indica que aparentemente el peso de un macho no está relacionado directamente con la vitalidad espermática.

Las anomalías espermáticas frente al peso vivo muestran una intensidad de relación negativa $r = -0.63$ este dato indica que mientras una alpaca macho aumente de peso disminuiría el porcentaje de espermatozoides con anomalías. Con un p_valor de 0.0167 la cual indica que en las alpacas machos reproductores Huacaya, el valor del peso vivo del animal, tienen relación con las anomalías espermáticas.

4.2. CARACTERÍSTICAS SEGÚN LA LONGITUD TESTICULAR

Tabla 2: Características obtenidas según la longitud del largo testicular de cada macho

Variable (1)	Variable (2)	n	Pearson	p-valor
Longitud del largo testicular	Motilidad	14	0.59	0.0278*
Longitud del largo testicular	Vitalidad	14	0.31	0.2759
Longitud del largo testicular	Anormalidades	14	-0.37	0.1873

(*) Indica que existe significativa ($P \leq 0.05$)

La tabla numero 2 muestra la relación que existe entre la longitud del largo testicular y la motilidad de los espermatozoides evaluados, encontrándose un valor $r = 0.59$, este valor indica que existe una fuerza de relación positiva baja entre estas dos variables y un p -valor $= 0.0278$ el cual indica que en las alpacas machos reproductores Huacaya, el valor de la longitud del largo testicular del animal, tienen relación con la motilidad de espermatozoides; mientras un macho tenga una longitud del largo testicular mayor, existirá mayor motilidad.

Entre la longitud del largo testicular y la vitalidad existe una correlación muy baja y esta relación no es significativa.

La longitud del largo testicular y las anomalías espermáticas mostradas en la tabla numero 2 indica que hay una relación muy baja negativa, con un valor $r = -0.37$ este valor no es estadísticamente significativa. Indica que en las alpacas machos reproductores Huacaya, si el valor de la longitud del largo testicular del animal aumenta, posiblemente disminuya de alguna forma las anomalías espermáticas.

4.3. CARACTERÍSTICAS EVALUADAS SEGÚN EDAD

Tabla 3: Características obtenidas según la edad de cada macho

Variable (1)	Variable (2)	n	Spearman	p-valor
Edad	Motilidad	14	0.1	0.7329
Edad	Vitalidad	14	0.52	0.0594
Edad	Anormalidades	14	0.03	0.9216

(*) Indica que existe significativa ($P \leq 0.05$)

Los resultados obtenidos en la tabla numero 3 indica la baja relación positiva que existe entre la edad y la motilidad espermática obteniéndose un resultado r spearman= 0.1este valor estadísticamente no es significativa.

La relación obtenida entre la edad del animal y la vitalidad es positiva pero baja y estadísticamente no significativa.

La relación obtenida entre la edad del animal y las anomalías espermáticas aparentemente muestran una relación muy baja y estadísticamente no significativa aun usando el coeficiente de spearman que mide una relación monótona.

Tabla 4: Resumen de medias obtenidas en la evaluación

Variable	Medidas de resumen				
	Media%	D.E.	CV %	Mín %	Máx %
Motilidad	60.07	10.25	17.06	45.96	76.35
Vitalidad	58.15	7.63	13.12	42.11	67.08
Anormalidades	13.99	3.29	23.54	10.2	24



- **Motilidad**

La tabla numero 4 muestra las medias obtenidas en la evaluación espermática donde de 14 machos evaluados la motilidad promedio es de $60.07\% \pm 10.25$, un valor promedio mínimo de 45.96% y un valor máximo de 76.35%.

Por otro lado, la motilidad obtenida se encuentra dentro del rango descrito por (Quispe,1987) quien indica que una buena motilidad tiene el 60%, motilidad regular cuando están entre un 40 a 60% y motilidad baja cuando el porcentaje es menor al 40% en semen colectado de alpacas.

El resultado obtenido en promedio es superior al encontrado por (Ramírez, 2019) 52.50% posiblemente por la frecuencia de colecta ya que este investigador colectaba 2 veces. Sin embargo, la motilidad obtenida es inferior a (Garcia *et al.*, 2017) quien reporto un 69.0% de motilidad posiblemente esto debido a la utilización de dilutores antes de la evaluación.

(Pérez *et al.*, 2016) reporta una media de 65.16% posiblemente por el tipo de colección de semen siendo superior al de este trabajo que se realizó a temperatura ambiente y en tempranas horas de la mañana como se haría en un hato ganadero común.

(Mendoza,2015) en un similar trabajo de investigación con la misma técnica de colección seminal reporto 54% este porcentaje es inferior al encontrado en este estudio.

- **Vitalidad**

La vitalidad obtenida de los espermatozoides evaluados en este trabajo es de $58.15\% \pm 7.63$ con un valor mínimo de 42.11% y un máximo de 67.08%.



(Cavalcanti, 2013) obtuvo 66.50% y 64.5% de espermatozoides vivos en invierno y verano correspondientemente y en promedio al igual que (W. Garcia *et al.*, 2017; Ramírez, 2019; Trujillo Bravo, 2019) estos valores fueron superiores al encontrado en este trabajo de investigación posiblemente por la influencia de efectos naturales (temperatura, rayos solares) durante la colección y por el tipo de colección.

Sin embargo (Zirena, 2014) quien obtuvo 57.52% en condiciones similares colectado mediante aspiración post copula, considerando un tiempo máximo de evaluación de 20 minutos.

- **Anormalidades**

Las anomalías espermáticas encontradas en este estudio en promedio son de $13.99\% \pm 3.29$ con un valor mínimo de 10.2 % y un máximo de 24%.

(Galindo 1995) reportó 18.5% de anomalías espermáticas superiores a los encontrados en este reporte, al igual que (Bravo y col 1997) quien indicó que encontró un 26.3% de anomalías.

Si las anomalías no pasan del 5 al 10%, pueden considerarse como desperdicio fisiológico, pero cuando pasan del 15 al 30% aumenta la infertilidad en correlación con el porcentaje de las anomalías primarias Bonnadona (1986) en este trabajo se encontró un porcentaje promedio aceptable.



V. CONCLUSIONES

- La motilidad y vitalidad del semen de alpacas Huacaya tiene una correlación positiva baja, sin embargo, las anormalidades espermáticas tienen una correlación negativa baja en relación al peso vivo de las alpacas reproductores Huacaya.
- La motilidad vitalidad y anormalidades espermáticas en relación al tamaño testicular muestran una correlación baja y muy baja la que indica que a menor tamaño testicular mayor número de espermatozoides anormales, sin embargo, a mayor longitud testicular existirá mejor motilidad y vitalidad en las muestras de semen de las alpacas reproductores Huacaya.
- La motilidad vitalidad y anormalidades espermáticas de los machos reproductores estudiados tienen una correlación positiva baja en relación a la edad este dato muestra que la edad no estaría íntimamente relacionado frente a las características evaluadas por que los ejemplares estudiados estaban en una adecuada edad reproductiva.



VI. RECOMENDACIONES

- Establecidas las conclusiones se recomienda seleccionar animales con peso vivo ≥ 71 kg. y acompañar esta selección con una evaluación de condición corporal de machos que vaya entre 3.7 a 4.2.
- De acuerdo a las conclusiones se recomienda seleccionar machos con un diámetro testicular que vaya entre los 3.93 cm a 4.25 cm de largo para una campaña de empadre o para trabajar biotecnologías reproductivas como la I.A.
- Se recomienda seleccionar machos mayores a 4 años de edad para una campaña de empadre en un hato ganadero.
- Se recomienda realizar trabajos similares considerando estado sanitario, estado fisiológico.
- Se recomienda realizar trabajos similares considerando diferentes tipos de alimentación.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Achatar R. (1989) Concentración de Algunos Componentes Químicos del Plasma Seminal de la Alpaca. Tesis Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional del Altiplano - Puno - Perú.
- Boeta, M., Balcazar, A., Cerbon, J. Luis, Medrano, J., Hernandez, J., Paramo, R., Porras, L., Salgado, B., Valencia, J., & Zarco, L. (2018). *Fisiología Reproductiva De Animales Domesticos* (R. García (Ed.); Primera). Universidad Nacional Autonoma De Mexico.
- Bravo, P. W., Moscoso, R., Alarcon, V., & Ordonez, C. (2002). *Archives Of Andrology Ejaculatory Process And Related Semen Characteristics*. 5016, 9. <https://doi.org/10.1080/014850102753385224>
- Bravo, W., Alarcon, V., & Garcia, W. (2012). *Inseminación Artificial De Alpacas Con Semen Colectado Por Aspiración Vaginal Y Vagina Artificial*. 23(1), 7.
- Cuno, R., Yucra, Y., & Alvela. (2003). *Bases Para Las Biotecnologias Reproductivas*.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., Wensing, C. J. G., & Guardiola, S. A. (2012). *Anatomía veterinaria*. 833. http://books.google.com/books?id=_mydMwEACAAJ&pgis=1
- Fumuso, F. G., Giménez, M. L., Neild, D. M., Giuliano, S. M., Chaves, M. G., Carretero, M. I., Peruana, A., & Animal, R. (2014). Comparison of washing methods and smear conservation periods for llama sperm acrosome assessment using the Coomassie Blue stain. *Spermova*, 4(1), 50–53.
- Garcia, W., Alarcon, V., & Bravo, W. (2017). Inseminación Artificial de Alpacas con Semen Refrigerado y con Inclusión de Dos Tipos de Yema de Huevo. 28(2), 8.
- Giuliano, S. M., & Ferrari, M. R. (2015). *Morphometric Analysis Of Head And Nuclei Of Llama Spermatozoa*. 5(1), 110–114.
- Hafez, E. S. E., Jainudeen, M. R., & Wahid, H. (2002). Reproduccion E Inseminacion Artificial En Animales. In *Mc Graw Hill: Vol. SEPTIMA*.
- Huanca, W., Cordero, A., & Adams, G. P. (2007). Biotecnologias reproductivas en camélidos sudamericanos: avances y perspectivas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*, 15(1), 195–201. <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/53086>
- Muiño, R., Fernández, M., Areán, H., Viana, J. L., López, M., Fernández, A., & Peña, A. I. (2005). Nuevas tecnologías aplicadas al procesado y evaluación del semen bovino en centros de inseminación artificial. *ITEA Informacion Tecnica Economica Agraria*, 101(3), 175–191.
- Pacheco, J. (2008). Métodos de de semen en camélidos sudamericanos - Methods of semen collection in south american camelids. *Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(4), 1–15. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040806.pdf>



- Pari, P. (1993). Algunas características Físicas de la Fibra de llama Q'ara y Ch'acu de Quimsachata Puno,. *Tesis Médico Veterinario y Zootecnista, UNA Puno, Perú*, 55.
- Ptaszynska, M., & Molina, J. J. (2007). Compendium de reproducción animal de Intervet (9o. Edición). *Intervet*, 439.
http://www.sinervia.com/pdf/resources/32/651_compendio_reproduccion_animal_intervet.pdf
- Ramírez, A. A. (2019). Evaluación de tres tratamientos de semen sobre la filancia, motilidad y vitalidad espermática en alpacas (Vicugna pacos) a 2736 m.s.n.m. - Ayacucho 2017. *Repositorio De Tesis Digital - Unsch*.
- Restrepo, G., & Ocampo, D. (2013). *Evaluación De La Movilidad Del Semen Criopreservado De Caballos Criollo Colombiano Por Un Sistema Analizador De Clase Assessment Of Cryopreserved Sperm Motility From Colombian Creole Stallions By Sperm Class Analyzer*. 445–450.
- Rubio, V. (2019). *Universidad Nacional Mayor de San Marcos “ Efecto de la adición de maca (Lepidium meyenii) en la dieta , sobre las características seminales del semen de alpacas ” Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario*.
- Serna, M., Cortes, H., Perdomo, C., & Grajales, H. (2018). *Evaluación de los parámetros de calidad seminal y cinemática espermática en tres razas ovinas de lana en condiciones de trópico alto colombiano*. 49–61.
- Torres, E. (2018). Efecto de la adición de plasma seminal antes y después de la congelación de espermatozoides colectados del conducto deferente de alpacas sobre algunas características espermáticas. *Universidad Nacional Del Altiplano - Puno*, 113.
- Trujillo Bravo, J. (2019). *Estudio Histológico del Espermatozoide de Alpacas y su correlación con las características microscópicas de calidad Seminal en el fundo Ucrucancha – Cerro de Pasco 2019*. 1–105.
http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/1490/1/T026_04080784_T.pdf

ANEXOS

Anexo 01: Registro de datos de los machos durante el empadre y a la espera de que termine la copula para recuperar la muestra biológica (semen post cópula)



Figura 4: Registro de datos de los machos durante el empadre.

Anexo 02: Espermatozoides vivos (v) espermatozoides muertos (m)

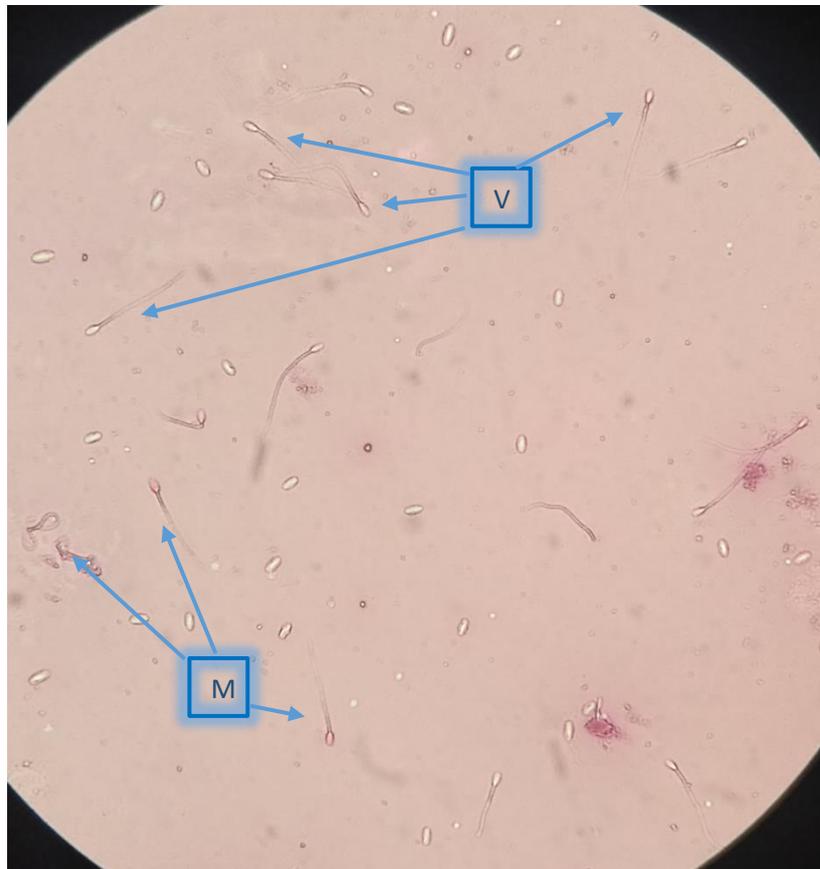


Figura 5: Espermatozoides vivos (v) espermatozoides muertos (m).

Anexo 03: Espermatozoides con presencia de eritrocitos y células metríticas durante la evaluación de motilidad

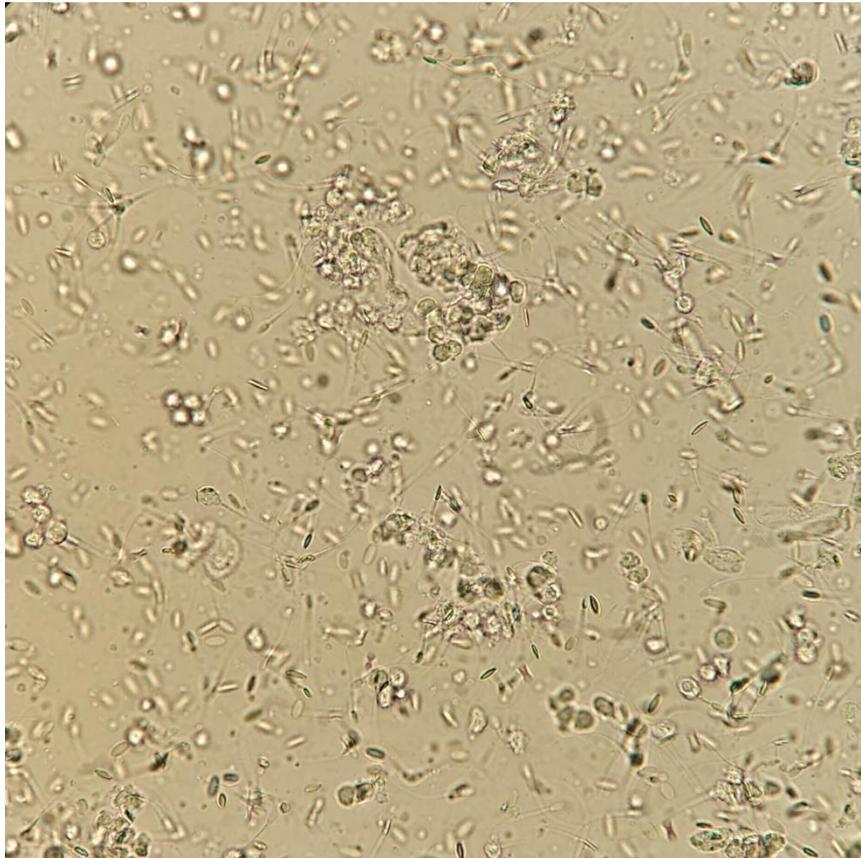


Figura 6: Presencia de eritrocitos, aglutinación de espermatozoides y artefacto.

Anexo 04: Espermatozoides con 2 cabezas y un eritrocito muerto.



Figura 7: Espermatozoide con doble cabeza y un espermatozoide.

Anexo 05: Buena concentración de espermatozoides con presencia eritrocítica y artefactos.

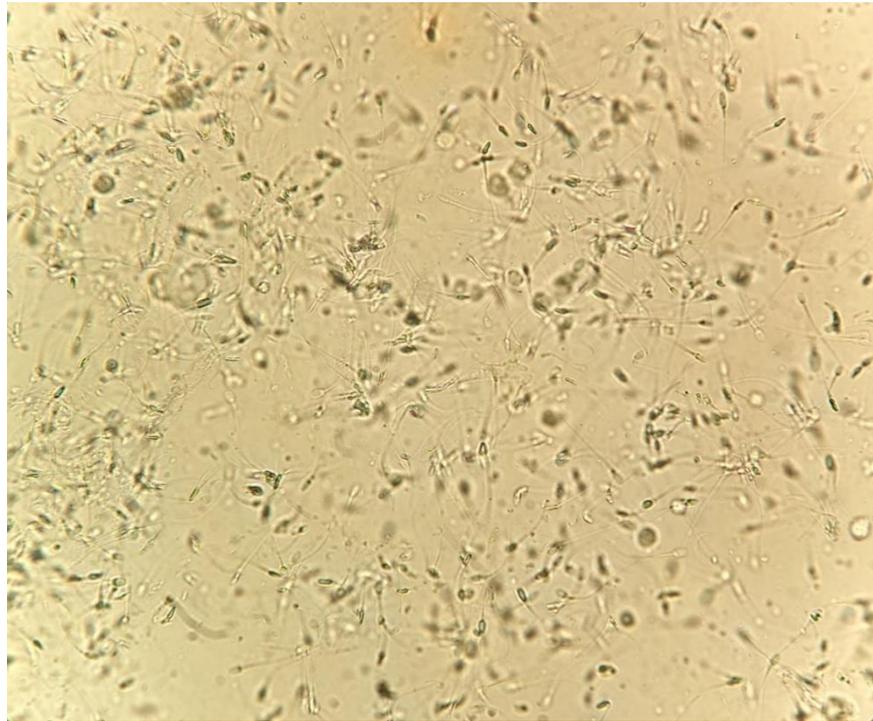


Figura 8: Concentración de espermatozoides

Anexo 06: Alpacas Huacaya (n°3-10) machos de 3 años con menor estatura, peso vivo y menor longitud testicular, pero de buena calidad fenotípica.



Figura 9: Alpaca macho de 3 años con características espermáticas bajas.



Figura 10: Alpaca macho con características poco deseables en un hato.

Anexo 07: alpaca Huacaya machos de 7 años con mayor peso vivo mayor longitud testicular.



Figura 11: Alpaca macho de 7 años con excelentes características espermáticas.

ANEXO A: variables independientes de los machos Huacaya (edad, peso vivo y longitud testicular).

N° MACHO	MACHO		CONDICION CORPORAL	PESO VIVO	TESTICULO DERECHO		TESTICULO IZQUIERDO	
	AÑOS	N° ARETE			LARGO mm	LARGO mm	LARGO mm	LARGO mm
1	7	13H015X	4	76.2	53.9	55.2		
2	5	15H153E	5	83.4	57.8	58.2		
3	3	17H527F	3	58.4	43.9	44.6		
4	6	14H399E	4	77.4	47.3	47.5		
5	6	14H754F	4	70.6	45.5	48.3		
6	3	17H395E	4	71.8	47.8	48.5		
7	9	11H286E	4	71.2	41.4	44		
8	6	14H274F	4	74.4	49.9	50		
9	3	17H646F	4	65.8	49.9	48.4		
10	4	16H143E	3	71.8	42.6	51.7		
11	5	15H025D	4	78	51.3	51.4		
12	5	15H562F	4	69.2	49.5	52.5		
13	10	10H022E	4	64.6	53.8	48.8		
14	7	13H008X	4	67	46.9	49		
\bar{x}			3.93	71.41	48.68	49.86		
DS			0.47	6.37	4.61	3.79		
CV			12.08	8.92	9.46	7.60		

Fuente: elaboración propia

ANEXO B: Datos del macho n°3 donde muestra menor motilidad, vitalidad y mayor porcentaje de anomalías esperáticas.

FECHA	MACHO N°	MOTILIDAD %	VIVOS %	MUERTOS %	ANORMALIDADES %
26/02/2020	3	42.2	39.3	60.7	34.72
27/02/2020	3	38.6	46.5	53.5	16.94
28/02/2020	3	43.25	56.62	43.38	28.83
5/03/2020	3	30.23	33.51	66.49	21.05
17/03/2020	3	52.8	28.37	71.63	15.72
18/03/2020	3	34.5	38.1	61.9	24.6
19/03/2020	3	23.42	46.8	53.2	14.35
\bar{x}		45.96	42.11	57.89	24.00
DS		9.57	9.43	9.43	7.52

Fuente: elaboración propia

ANEXO C: Datos del macho n°2 donde muestra mayor motilidad, vitalidad y menor porcentaje de anomalías espermáticas.

FECHA	MACHO N°	MOTILIDAD %	VIVOS %	MUERTOS %	ANORMALIDADES
26/02/2020	2	75.53	65.76	34.24	12.12
27/02/2020	2	96.34	81.72	18.28	8.18
28/02/2020	2	83.86	76.46	23.54	10.43
5/03/2020	2	34.46	38.42	61.58	8.17
17/03/2020	2	89.79	83.16	16.84	9.67
18/03/2020	2	78.14	49.17	50.83	12.36
19/03/2020	2	72.8	46.82	53.18	9.92
X̄		76.35	65.78	34.22	10.16
DS		21.89	18.41	18.41	1.84

FUENTE: elaboración propia

ANEXO D: Datos relacionados entre la edad del macho y la motilidad, vitalidad y anomalías espermáticas

N° MACHO	EDAD AÑOS	MOTILIDAD %	VITALIDAD %	ANORMALIDADES %
3	3	45.96	42.11	24.0
6	3	62.28	63.77	13.2
9	3	54.14	47.81	11.8
10	4	51.51	48.23	17.5
2	5	76.35	65.78	10.2
11	5	60.89	56.87	12.8
12	5	63.36	59.99	13.4
4	6	56.39	52.04	12.8
5	6	50.21	61.03	13.8
8	6	75.07	62.05	13.7
1	7	75.62	61.26	12.9
14	7	66.50	67.08	12.0
7	9	49.94	62.37	14.1
13	10	52.72	63.75	13.6
X	5.64	60.07	58.15	13.98
DS	2.13	10.24	7.63	3.30

Fuente: elaboración propia

ANEXO E: Datos relacionados entre la longitud testicular del macho y la motilidad, vitalidad y anomalías espermáticas.

Nº MACHO	LONGITUD TESTICULAR cm.	MOTILIDAD %	VITALIDAD %	ANORMALIDADES %
7	3.22	49.94	62.37	14.1
3	3.44	45.96	42.11	24.0
9	3.65	54.14	47.81	11.8
6	3.68	62.28	63.77	13.2
4	3.71	56.39	52.04	12.8
5	3.76	50.21	61.03	13.8
14	3.84	66.50	67.08	12.0
8	3.93	75.07	62.05	13.7
11	3.99	60.89	56.87	12.8
12	3.99	63.36	59.99	13.4
10	4.11	51.51	48.23	17.5
13	4.17	52.72	63.75	13.6
1	4.18	75.62	61.26	12.9
2	4.25	76.35	65.78	10.2
X	3.85	60.07	58.15	13.98
DS	0.30	10.24	7.63	3.30

Fuente: elaboración propia

ANEXO F: Datos relacionados entre el peso vivo del macho y la motilidad, vitalidad y anomalías espermáticas.

N° MACHO	PESO VIVO KG.	MOTILIDAD %	VITALIDAD %	ANORMALIDADES %
3	58.4	45.96	42.11	24.0
13	64.6	52.72	63.75	13.6
9	65.8	54.14	47.81	11.8
14	67	66.50	67.08	12.0
12	69.2	63.36	59.99	13.4
5	70.6	50.21	61.03	13.8
7	71.2	49.94	62.37	14.1
6	71.8	62.28	63.77	13.2
10	71.8	51.51	48.23	17.5
8	74.4	75.07	62.05	13.7
1	76.2	75.62	61.26	12.9
4	77.4	56.39	52.04	12.8
11	78	60.89	56.87	12.8
2	83.4	76.35	65.78	10.2
X	71.41	60.07	58.15	13.98
DS	6.37	10.24	7.63	3.30

Fuente: elaboración propia