

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



**“Efecto de la suplementación alimenticia en la fertilidad de alpacas machos y hembras por empadre natural”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. MARISOL NIEVES QUISPE MOROCCO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PROMOCIÓN: 2016 - I**

**PUNO – PERÚ**

**2017**

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

“Efecto de la suplementación alimenticia en la fertilidad de alpacas machos y hembras por empadre natural”

PRESENTADA POR LA BACHILLER:  
MARISOL NIEVES QUISPE MOROCCO  
PARA REALIZAR EL INFORME DE INVESTIGACIÓN Y OPTAR EL  
TÍTULO DE:



MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 04 DE MAYO DEL 2017

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE DE JURADO : .....  
Dr. Ceferino Uberto Olarte Daza

PRIMER MIEMBRO : .....  
Ph. D. Bernardo Roque Huanca

SEGUNDO MIEMBRO : .....  
Mg. Sc. Nubia Lilia Catacora Flores

DIRECTOR DE TESIS : .....  
Ph. D. José Luis Bautista Pampa

ASESOR : .....  
MVZ. Juan Guido Medina Suca

ASESOR : .....  
Ph. D. Pedro Walter Bravo Matheus

ÁREA: Reproducción animal

TEMA: Fertilidad en alpacas

## DEDICATORIA

A Dios por brindarme vitalidad sabiduría para lograr mis objetivos. A mis amados padres, Ricardo Quispe Mayta y Lidia N. Morocco Cayo, por darme la vida, valores, principios, por la motivación constante que supieron encaminarme en mi desarrollo personal y profesional.

A mi hermano Henry, a mis queridas y apreciadas Hermanas Nelida, Nancy, Yaquelin, Rosmery, Dina por sus buenos consejos, afecto, amor y apoyo en todo momento y por su fortaleza empeño en constituir un buen ejemplo.

A mis adoradas (os) y engreídas (os) sobrinas (os) Nilver, Nikson, Miguel, Mabel, Jhanet, Cris, por haberme Sacado muchas sonrisas día a día y por haberme brindarme sus cariños.

A mi amor de mi vida, quién estuvo siempre en mi corazón, me supo soportar, entender y compartí los momentos más felices de mi vida. El amor no necesita ser perfecto solo necesita ser verdadero.

Marisol Nieves Quispe Morocco.

## AGRADECIMIENTO

Al divino creador Dios, quien guía cada paso, día a día en el sendero de mi vida.

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado profesional, de la cual orgullosamente llevare en alto su nombre.

Al Ph. D. Jose Luis Bautista Pampa por facilitarme las herramientas, sabiduría, soporte, su paciencia, sugerencia y por haberme dirigido y ayudado tan acertadamente en la ejecución del presente trabajo.

Al Dr. Guido Medina Suca y Ph. D. Walter Bravo Matheus, por asesorarme en el presente trabajo de investigación, por sus orientaciones, su persistencia, su paciencia, generosidad y su motivación han sido fundamentales durante la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación.

A los docentes miembros del jurado: Dr. Uberto Olarte Daza, Ph.D Bernardo Roque Huanca, Mg. Sc. Nubia Lilia Catacora Flores, agradecerles por su paciencia y sugerencia en el desarrollo de la tesis.

En especial a Gyorgy, por haberme apoyado en la ejecución y estuvo a diario pendiente con sus palabras, hechos, para poder realizar este logro tan grande. Gracias al divino creador Dios permitió que te conociera y fuiste mi brazo derecha y lo más maravilloso y noble gracias por tu comprensión y tu confianza fue un éxito y haber logrado.

A mis apreciados amigos, Lidia, Norma, Maria, Rut, Jhonar, Evilio, Huaricallo, Eduardo, Wilson, Roger, Anthony, Clemente, Abad, Yosep, Henry con quienes compartí la vida estudiantil y confiaron en mi capacidad y responsabilidad de asumir retos para concretarlos según lo planeado.

Al centro de Investigación y Producción la Raya de la U.N.A- PUNO, por el apoyo logístico, con materiales, animales y asesoramiento.

A todos los trabajadores centro de Investigación y Producción la Raya de la U.N.A- PUNO, al Sr. Hugo, Sr. Marcos, Sr. Natanuel, Sr. Cirilo, Sr. Esteban y también al personal de Laboratorio: Sr. Martin, Sr. Miguel, por su colaboración y apoyo.

A todos los estudiantes EPA (Escuela de Prácticos Agropecuarias) por su colaboración diaria en el presente trabajo de investigación.

Marisol Nieves Quispe Morocco.

## ÍNDICE GENERAL

|  |    |
|--|----|
| I. INTRODUCCIÓN .....  | 1  |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA .....   | 3  |
| 2.1. MARCO TEÓRICO .....   | 3  |
| 2.1.1.    PROTEÍNA Y ENERGÍA EN LA REPRODUCCIÓN .....  | 3  |
| 2.1.2.    FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA EN EL MACHO .....  | 9  |
| 2.1.3.    FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA .....   | 11 |
| 2.1.4.    MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN .....   | 17 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 18 |
| 3.1.    MEDIO EXPERIMENTAL .....   | 18 |
| 3.1.1.    Ubicación .....  | 18 |
| 3.1.2.    Instalaciones.....   | 18 |
| 3.2.    MATERIALES Y EQUIPOS .....   | 19 |
| 3.2.1.    Materiales para picar forraje .....  | 19 |
| 3.2.2.    Materiales para colección de semen.....  | 19 |
| 3.2.3.    Materiales y equipos para evaluación de semen .....  | 19 |
| 3.2.4.    Materiales y equipos para realizar ecografía.....  | 19 |
| 3.2.5.    Reactivos para evaluación de semen.....  | 19 |
| 3.2.6.    Materiales para muestreo de sangre .....   | 20 |
| 3.2.7.    Materiales y equipos para conservación y análisis nitrógeno ureico en suero<br>sanguíneo ..... | 20 |
| 3.2.8.    Reactivos para determinación Nitrógeno Ureico en Suero Sanguíneo .....                         | 21 |
| 3.3.    METODOLOGÍA.....   | 21 |
| 3.3.1.    Animales .....   | 21 |
| 3.3.2.    Alimentos – Forrajes.....  | 22 |
| 3.3.3.    Acostumbramiento de alpacas con dieta suplementa.....  | 23 |
| 3.3.4.    Suministro de la dieta Suplementada .....  | 23 |
| 3.3.5.    Evaluación de la calidad de semen.....   | 24 |
| 3.3.8.    Diagnóstico de la actividad ovárica (tamaño y número de folículos) .....                       | 27 |
| 3.3.9.    Determinación de la tasa de fertilidad.....  | 28 |
| 3.3.10.    Determinación de nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN) .....                              | 29 |
| 3.4.    VARIABLES DE MEDICIÓN.....   | 31 |
| 3.5.    ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....   | 32 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 35 |
| 4.1.    CALIDAD DE SEMEN .....   | 35 |
| 4.4.1.    Evaluación Macroscópica .....  | 35 |
| 4.4.2.    Evaluación Microscópica.....   | 35 |
| 4.2.    TAMAÑO Y NÚMERO FOLICULAR .....  | 38 |
| 4.3.    FERTILIDAD .....   | 40 |
| 4.4.    NITRÓGENO UREICO EN SUERO SANGUÍNEO (BUN).....   | 41 |
| V. CONCLUSIONES .....  | 43 |
| VI. RECOMENDACIONES.....   | 44 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 45 |
| ANEXOS .....   | 51 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| TABLA 1: DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES .....  | 21 |
| TABLA 2: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FORRAJES .....  | 22 |
| TABLA 3: PORCENTAJE Y CANTIDADES DE FORRAJES-INSUMOS EN LA<br>DIETA SUPLEMENTARIA .....                     | 22 |
| TABLA 4: DISTRIBUCIÓN DE LAS ALPACAS MACHOS Y HEMBRAS PARA<br>EMPADRE NATURAL .....                         | 28 |
| TABLA 5: MOTILIDAD ESPERMÁTICA INDIVIDUAL POR TIPO DE ALIMENTO<br>(%) .....                                 | 35 |
| TABLA 6: CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA POR TIPO DE ALIMENTO<br>(ESP/MM <sup>3</sup> ) .....                     | 36 |
| TABLA 7: VITALIDAD ESPERMÁTICA POR TIPO DE ALIMENTO (%) .....   | 37 |
| TABLA 8: MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA POR TIPO DE ALIMENTO (%) .....  | 38 |
| TABLA 9: TAMAÑO FOLICULAR (MM) EN ALPACAS POR TIPO DE<br>ALIMENTO .....                                     | 38 |
| TABLA 10: NÚMERO DE FOLÍCULOS EN OVARIOS DE LAS ALPACAS POR<br>TIPO DE ALIMENTO .....                       | 39 |
| TABLA 11: FERTILIDAD DE ALPACAS POR EMPADRE CONTROLADO, POR<br>TIPO DE ALIMENTO .....                       | 40 |
| TABLA 12: NIVELES DE NITRÓGENO UREICO EN SUERO SANGUÍNEO EN<br>ALPACAS HEMBRAS Y MACHOS A LOS 45 DÍAS ..... | 42 |

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

|       |   |
|-------|---|
| ANE   | Absorbancia Neta de Estándar              |
| ANM   | Absorbancia Neta de Muestra               |
| BEN   | Balance Energético Negativo               |
| BHB   | $\beta$ - hidroxibutirato                 |
| BUN   | Nitrógeno Ureico Sanguíneo                |
| CL    | Cuerpo Lúteo                              |
| DS    | Dieta Suplementada                        |
| EB    | Energía Bruta                             |
| EM    | Energía Metabolizable                     |
| EN    | Empadre Natural                           |
| FSH   | Hormona Folículo Estimulante              |
| GnRH  | Hormona Liberadora de Gonadotropina       |
| IGF-1 | Factor de Crecimiento Insulinico Tipo - 1 |
| LH    | Hormona Luteinizante                      |
| NEFA  | Ácidos Grasos no Esterificados            |
| P4    | Progesterona                              |
| PMg   | Proteína Metabolizable de Ganancia        |
| PMm   | Proteína Metabolizable de Mantenimiento   |
| PMt   | Proteína Metabolizable total              |
| PN    | Pasto Natural                             |
| PT    | Proteína Total                            |

## RESUMEN

El trabajo se realizó en Centro de Investigación y Producción “La Raya”. El objetivo fue evaluar el efecto de la dieta suplementada (DS) en la fertilidad de alpacas machos y hembras por empadre natural (EN) a los 21 días, la calidad de semen, la actividad ovárica (tamaño y número de folículos) y la concentración de nitrógeno ureico en suero sanguíneo, se utilizó 4 machos y 60 hembras al pastoreo en pasto natural (PN), 4 machos y 60 hembras alimentadas con dieta suplementada (DS) (heno de avena y alfa alfa) durante 45 días, el EN se realizó pos suplementación y diagnóstico de preñez fue con ecografía a 21 días. La fertilidad fue analizada por  $X^2$ , el tamaño y número de folículos a través de factorial 2x2 bajo D.C.A, “t” (student) y la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). La vitalidad, concentración y morfología espermática en alpacas machos por efecto del tipo de alimentación PN y DS no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ). El tamaño folicular para alpacas con DS y PN fueron similares ( $P > 0.05$ ) y el número de folículos para alpacas con DS fue  $1.17 \pm 0.19$  y para PN  $1.05 \pm 0.13$  folículos ( $P \leq 0.05$ ). La fertilidad fue 80% para machos y hembras con DS, machos en PN y hembras DS fertilizaron 76.70%, alpacas de ambos alimentados en PN fertilizaron 50.0% y en machos con DS y hembras en PN fue 53.3 % de fertilidad ( $P \leq 0.05$ ). Los niveles de nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN) por tipo de alimento y sexo para machos de PN fue 32.7mg/dL, y machos con DS fue de 27.2mg/dL. En hembras PN fue 23.1mg/dL y hembras con DS fue 31.9mg/dL/alpaca ( $P \leq 0.05$ ). La dieta suplementada tiene efecto en la fertilidad reproductiva en alpacas hembras.

**Palabras claves:** Alpaca, fertilidad, folículos, nitrógeno ureico sanguíneo, suplemento alimenticia.

**ABSTRACT**

The work was carried out at the Research and Production Center "La Raya". The objective was to evaluate the effect of supplemented diet (SD) on the fertility of male and female alpacas by natural weeding (NE) at 21 days, semen quality, ovarian activity (size and number of follicles) Of ureic nitrogen in blood serum, 4 males and 60 females were grazed on natural pasture (NP), 4 males and 60 females fed with supplemented diet (SD) (oat hay and alpha alpha) for 45 days, NE Performed post supplementation and pregnancy diagnosis was with ultrasound at 21 days. Fertility was analyzed by  $X^2$ , size and number of follicles through factorial 2x2 under D.C.A, "t" (student) and Tukey's test ( $\alpha = 0.05$ ). The vitality, concentration and sperm morphology in male alpacas due to NP and SD feeding did not differ ( $P > 0.05$ ). The follicular size for alpacas with SD and NP were similar ( $P > 0.05$ ) and the number of follicles for alpacas with SD was  $1.17 \pm 0.19$  and for PN  $1.05 \pm 0.13$  follicles ( $P \leq 0.05$ ). The fertility was 80% for males and females with SD, males in NP and SD females fertilized 76.70%, both fed in NP fertilized 50.0% and in males with DS and females in NP were 53.3% fertile ( $P \leq 0.05$ ). Blood serum urea nitrogen (BUN) levels by food type and sex for NP males were 32.7 mg / dL, and males with SD were 27.2 mg / dL. In NP females it was 23.1mg / dL and females with SD were 31.9mg / dL / alpaca ( $P \leq 0.05$ ). The supplemented diet has an effect on reproductive fertility in female alpacas.

**Key words:** Alpaca, fertility, follicles, blood urea nitrogen, dietary supplement.

## I. INTRODUCCIÓN

El Perú se cuenta con 4.898.766,000 Alpacas teniendo el mayor porcentaje de alpacas en la región Puno con 2.711.726,00 (INEI, 2012). Las alpacas machos presentan menor producción de volumen de semen, baja concentración de espermatozoides/ mL y menor tamaño testicular. A estos problemas se adiciona, que durante el empadre existe un déficit de consumo de nutrientes como son proteína, energía principalmente y otros nutrientes esenciales necesarios en la etapa de reproducción. El conocimiento insuficiente, en la fisiología reproductiva de la alpaca hace que exista 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 (Bustinza, 2001). Los camélidos son considerados como especies de baja tasa de fertilidad con relación a otros mamíferos domésticos, debido a que solo el 50% de los servicios entre machos y hembras fértiles termina en gestación en nuestro país (Fernandez Baca et al., 1970 a), las causas de esta baja fertilidad son diversas, tales como la alta tasa de mortalidad embrionaria, la debilidad de los tejidos fetales maternos, manifestándose con una 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, 1988) y también 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 (Roche 2006).

El rol de la nutrición en la reproducción sugiere la posibilidad de lograr un mejor resultado, si se aplica estrategias nutricionales en los sistemas de crianza tradicional en

las alpacas, esto puede mejorar los requerimientos de nutrientes en las condiciones ambientales adversas y la poca disponibilidad de alimentos, por lo cual el trabajo de investigación se determinó el efecto de la suplementación alimenticia en la fertilidad de las alpacas machos y hembras por empadre natural, con el fin de lograr el incremento en la fertilidad reproductivo en condiciones reales de crianza, por tal razón el proyecto planteó los siguientes objetivos:

Evaluar la calidad de semen de alpacas machos (características macro y microscópicas), determinar la actividad ovárica (tamaño y número de folículos) de las alpacas hembras, determinar la fertilidad de las alpacas hembras por empadre natural a los 21 días y determinar el nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN), por efecto de la suplementación alimenticia.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. Proteína y energía en la reproducción

##### 2.1.1.1. Proteínas

Las investigaciones sugieren que los camélidos poseen un bajo requerimiento de proteína; sin embargo, una cuidadosa evaluación de las necesidades de energía y proteínas muestra un mayor requerimiento sobre una base calórica (Van Saun, 2006). Los camélidos tienen la más alta concentración de nitrógeno de ureico en sangre (BUN) en comparación con otros rumiantes (Simons *et al.*, 1993). En los rumiantes, la concentración de BUN refleja el nivel de proteína de la dieta. Las dietas bajas en proteínas resultan baja en BUN. Concentraciones más altas de BUN en camélidos reflejan una sobrealimentación con proteína en relación con los requerimientos (Van Saun 2006). El metabolismo de la urea en llama tiene una menor tasa de recambio de la urea, y menor excreción de la urea de riñón en comparación con otros rumiantes (Hinderer y Engelhardt, 1975). Se ha planteado una hipótesis de que los camélidos metabolizan aminoácidos para apoyar su estado de glucosa en la sangre, lo que explica que las concentraciones de BUN más altas, y sugieren un requerimiento de proteína más alta (Van Saun 2006). En la reproducción de ganado lechero, las concentraciones de BUN elevadas se ha asociado negativamente con las tasas de concepción reducidas y aumento de la muerte embrionaria temprana (Butler, 2000). Las teorías actuales sugieren un efecto negativo de amoníaco en el desarrollo embrionario (Sinclair *et al.*, 2000). O una alteración del ambiente uterino mediante la escisión de la urea (Elrod y Butler, 1993). Estas observaciones pueden ayudar a explicar la mayor

prevalencia de muerte embrionaria temprana y repetir la reproducción de camélidos. La concentración de BUN superior también puede exacerbar balance energético negativo (BEN o NEB), ya que se requiere energía para generar urea para excretar el exceso de nitrógeno (Roche, 2006).

#### **2.1.1.2. Requerimiento proteico en alpacas**

Las alpacas requieren proteínas para el recambio y renovación de biomoléculas proteicas como enzimas, hormonas anticuerpos del sistema inmune y otros como receptores y para la renovación constante de estructuras y tejidos durante el crecimiento y desarrollo de animales.

El requerimiento total de Proteína Metabolizable (PMt) es la sumatoria de proteína metabolizable de mantenimiento (PMm) y proteína metabolizable de ganancia (PMg) los Resultados de los requerimiento de PMm fueron: 36.89 g/d y  $2.29 \text{ g/kgW}^{0.75}$ , PMg: 10.65 g/d y  $0.23 \text{ g/gGW}$  y el PMt: 47.54 g/d y  $2.92 \text{ g/kgW}^{0.75}$  (Bautista, 2015).

#### **2.1.1.3. Energía**

El estado de la Energía ha sido la entidad nutricional más intensamente estudiado en relación con el desempeño reproductivo. Un amplio sistema de alimentación pastoril basada en forrajes nativos es alimentación tradicional (Sumar, 2007). No son alimentados con suplementos y heno conservados, debido a los costos, disponibilidad, o prácticas tradicionales (San Martín y Bryant, 1989). Los ecosistemas de pastizales andinos disponibles, es decir, altiplano, pajonales y bofedales, se utilizan tradicionalmente para el pastoreo. Las planicies alto andinas (puna) se encuentran en altitudes superiores a 4.000 m y se caracterizan por temperaturas frías, intensa radiación solar y precipitaciones estacionales intermitente (Sumar, 2007). La estacional y

calidad del forraje, y por lo tanto el estado de la energía animal, están determinadas por este patrón de precipitación. Crecimiento de las plantas es rápida y de alta calidad durante la estación húmeda, pero este período sólo 3-4 meses de duración. La disponibilidad de forraje es muy limitado durante la estación seca; el forraje es muy maduro y de baja calidad (San Martín y Bryant, 1989). En consecuencia, problemas de equilibrio energético van todo el espectro de la malnutrición potencial para la obesidad, con una tendencia hacia una mayor incidencia de la obesidad (Van Saun, 2006).

#### **2.1.1.4. Requerimiento energético**

El pastoreo implica un mayor gasto energético para los animales, por consiguiente, requiere de suplementación con alguna fuente de energía para lograr su potencial genético para la producción de leche y reducir la movilización de las reservas corporales al inicio de la lactación (Fulkerson et al., 2008). La nutrición se vincula con la reproducción, principalmente a través del balance de energía (Boland et al., 2001). Aparte del efecto de los nutrientes específicos que actúan independientemente del tal balance de energía (Lucy, 2003).

Por lo tanto el requerimiento energético de la alpaca, 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. (Skidmore, 2011). Después del parto, ocurre un rápido incremento de los requerimientos energéticos para atender las funciones productivas, resultado un balance energético negativo, el cual está asociado con la longitud del período anovulatorio posparto a través de la atenuación de la frecuencia del pulso LH y los bajos niveles de glucosa sanguínea, insulina y IGF-I que colectivamente

limitan la producción de estrógenos por el folículo dominante (Butler, 2003).

La concentración intrafolicular de glucosa disminuye alrededor del parto (Leroy et al., 2004).

Los estudios han mostrado que el alto mérito genético, el balance energético negativo, la movilización de la grasa corporal y el bajo nivel de insulina plasmática están asociados con la pérdida de la primera ovulación posparto y las reducidas tasas de gestación (Garnsworthy et al., 2008).

Asumiendo la subalimentación como equivalente al ayuno o restricción de alimento, un estudio comparativo investigó los cambios bioquímicos durante el ayuno o la restricción de alimento en el camello, llama, ovino y vacuno. A pesar del ayuno, los camélidos mantuvieron bajos niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) y altos niveles de glucosa, aun un aumento de ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Leroy et al., 2006). En cambio, el ovino y el vacuno mostraron menos glucosa, un aumento de BHB y aumento mucho más alto de NEFA que los camélidos. La llama mostró ligero aumento de BHB pero NEFA fue menor que las otras tres especies. Los resultados indican que los camélidos tienen una capacidad única para controlar la actividad lipolítica y gluconeogénica para prevenir o posponer el estado de cetosis (Wensvoort et al., 2001). Los camélidos tienen mayores niveles de glucosa sanguínea con relación al ovino o vacuno, con variaciones de 136 mg/dL en la época seca y 183 mg/dL en la época de lluvias (Siguas et al., 2007).

Como se puede apreciar, la nutrición y el metabolismo juegan roles importante en la reproducción, donde el balance energético negativo compromete las funciones inmunológicas y reproductivas. Las bajas concentraciones de glucosa e insulina circulante se asocian con las altas concentraciones de ácidos

grasos no esterificados y cuerpos cetónicos. El balance energético negativo 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).

El balance de energía se mide normalmente como el ingreso de energía en el alimento consumido, menos el gasto de energía en el mantenimiento, la producción de leche, la actividad, el crecimiento y la gestación (Thorup et al., 2012). Para mantener constante las reservas de energía corporal, en los mamíferos, ocurre una serie de eventos homeostáticos que conducen a mantener el balance de energía son activos cuando ocurre un estado de carencia o abundancia de energía.

Esta íntima asociación se debe a que los procesos reproductivos son energéticamente costosos y el cerebro debe moderar la fertilidad de los individuos para que coincida con la disponibilidad nutricional (Scaramuzzi et al., 2006). La función reproductiva en los mamíferos 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 (Schneider, 2004), sobre todo en las hembras cuya gestación y lactación se vinculan a considerables gastos energéticos, necesarios para el sostenimiento del embrión y la cría.

Podemos solucionar estos déficit ofreciendo a los animales fuentes de carbohidratos no fibrosos para promover la fermentación propiónica y la gluconeogénesis, a fin de abastecer las demandas de glucosa y minimizar la movilización de NEFA durante el período de transición, en aplicación del manejo nutricional de uso en la alimentación de vacas lecheras en transición (Overton y Waldron, 2004).

**Cuadro 1: Requerimientos energéticos de alpacas en vida reproductiva.**

| Requerimiento   | Modelo de Predicción del requerimiento   |
|-----------------|--|
| Mantenimiento*  | EM, Kcal/d = 1.00 x 75.2<br>Kcal/W <sub>Kg</sub> <sup>0.75</sup>   |
| Ajuste por AF** | EM, Kcal/d = 0.25 x 75.2<br>Kcal/W <sub>Kg</sub> <sup>0.75</sup><br>PC, g/d = 3.5 g PC/W <sub>Kg</sub> <sup>0.75</sup>           |
| Gestación***    | EM, Kcal/d = 0.30 x 75.2<br>Kcal/W <sub>Kg</sub> <sup>0.75</sup><br>PC, g/d = 0.30 x 3.5 g<br>PC/W <sub>Kg</sub> <sup>0.75</sup> |
| Totales         | Energía Metabolizable<br>Proteína Cruda  |

\*Mantenimiento en condición termoneutral (Roque 2009).

\*\* Ajuste por actividad física (AF): 25% del mantenimiento (Van Saun, 2006).

\*\*\* Requerimiento de gestación: 30% adicional al mantenimiento (NRC, 1989).

#### 2.1.1.5. Implicancias del BEN en la reproducción

El BEN es una condición que afecta el rendimiento reproductivo a través de ciertos mecanismos biológicos, tales como las modificaciones de las hormonas metabólicas reguladas por el eje hipotálamo-hipofisiario (LH, FSH, GH, insulina, leptina, IGF-1, estrógeno y progesterona), la interacción entre los metabolitos y la actividad ovárica (glucosa, NEFA, BHB), la relación entre la funcionalidad uterina y la respuesta inmune durante el período de la gestación y transición, siendo el ovocito la estructura que más sufre debido a los cambios en los requerimientos energéticos del cuerpo (Butler et al., 2006).

Varios estudios han demostrado que el alto valor genético, balance energético negativo, la movilización de la grasa corporal y baja plasma insulina están asociados con retraso a la primera ovulación pos parto y una reducción de las tasas de preñes (Butler, 2003; Butler, 2005).

### **2.1.1.6. Nutrición y el ciclo de la fertilidad**

El comportamiento reproductivo es compleja como la anatómica, desarrollo, fisiológicos. La reproducción tiene una prioridad menor en comparación con estado fisiológico de mantenimiento, la lactancia y el crecimiento cuando los recursos alimenticios disponibles son limitantes. Deficiencias o excesos nutricionales pueden impedir el desarrollo anatómico (pubertad, el crecimiento embrionario o fetal), directamente afectar la función reproductiva (foliculogénesis, la ovulación, CL función). (Bauman y Currie, 1980).

Las infecciones uterinas son el problema más comúnmente diagnosticado y probablemente contribuyen a la observada repetición de reproducción y las pérdidas tempranas del preñez (Tibary et al., 2001). Muerte embrionaria temprana también es común en camélidos, con una prevalencia del 50% (hasta el 30 d) a 58,7% (a través de 45 d), aunque los datos de prevalencia más recientes fueron más bajos (35% a través de 45 d) (Tibary, 2007), aunque hay informes de pérdidas de hasta el 25% (Knight *et al.*, 1995).

### **2.1.2. Fisiología reproductiva en el macho**

#### **2.1.2.1. Espermatogénesis**

Es el proceso por el cual se forman los espermatozoides en los túbulos seminíferos del testículo (Sorensen, 1982). 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 2002). La duración de la espermatogénesis; un ciclo completo de espermatogénesis es determinado por

el tiempo de los estadios llamados “ciclos del epitelio seminífero”, el tiempo necesario para completar un ciclo del epitelio seminífero varía según las diferentes especies domesticas: cerca de 9 días en el verraco, 10 días en el carnero, 12 días en el garañón y 14 días en el toro. Según la especie, se requieren de cuatro a cinco ciclos del epitelio seminífero antes de la espermatogonia tipo A del primer ciclo haya completado la metamorfosis de la espermiogénesis, aunque hay diferencias de velocidad de espermatogénesis el proceso es uniforme en cada especie (Galina et al., 1995; Hafez 2002). La duración de la espermatogénesis se ha estimado en 54 a 63 días en los toros, 64 a 74 días en el hombre, 40 a 49 días en los carneros y 38 a 44 días en el ratón (Salisbury et al., 1982).

#### **2.1.2.2. Empadre**

Es una faena ganadera que se realiza en los primeros meses del año, y consiste en el apareamiento del macho con la hembra, en tiempo de 20 a 30 minutos duración de la cópula en alpacas es variable (Solis, 2006); El empadre consiste en la utilización de los mejores reproductores machos para el apareamiento y de esta forma garantizar la preñez, obteniendo un mayor número de crías que permita mejorar el rebaño (Quispe, 2001).

La duración de la cópula es variable, así en el empadre libre se registró  $8,1 \pm 5,4$  minutos y en el empadre controlado  $17,5 \pm 12,1$  minutos (Novoa, 1991); a veces se prolonga por más de 50 minutos (Fernández Baca, 1971); la duración de la cópula está influenciado por diversos factores: números de machos presentes de manera simultánea, jerarquía del macho dentro del rebaño, edad de las hembras, hora del día, estación del año, etc. (Vaughan, 2001).

### **2.1.2.3. Fertilidad**

La estimación de la fertilidad se hace en base a los animales empadradas y los animales fecundados, datos que se pueden expresar porcentualmente. La fertilidad de un hato se evalúa en términos de porcentaje de hembras preñadas y el tamaño de las camadas. Estos parámetros aumentan durante algunos años después de la pubertad (Hafez, 2005).

### **2.1.3. Fisiología reproductiva de la hembra**

#### **2.1.3.1. 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); una 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, (Fernández Baca, 1993).

La receptividad sexual no siempre está asociada con la presencia de un folículo dominante (Sumar, 1993). Los camélidos domésticos son especies de ovulación inducida por la cópula, su estímulo proporciona el impulso nervioso necesario para desencadenar la secreción hipofisiaria de la hormona luteinizante (LH), responsable de causar la ruptura folicular y la consiguiente liberación del óvulo (Fernández Baca, 1971).

El intervalo entre la cópula y la ovulación es aproximadamente de 28 horas (valores de 24 a 48 horas), en la alpaca (Adams et al., 2001). Algunos estímulos físicos, auditivos, olfatorios o visuales pueden inducir la ovulación,

pero su efectividad es inferior a los estímulos coitales. En estas circunstancias se habla de ovulaciones espontáneas, siendo su presentación inferior al 5 - 10% y observándose preferentemente durante el postparto (Bravo et al., 1989). La ovulación puede ser inducida artificialmente entre las 24 a 30 horas post inyección de gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y de LH, (Novoa, 1991; y Sumar, 1997). La conducta de periodos largos de receptividad sexual y muy cortos de anestro, reflejaría las ondas de crecimiento, maduración y atresia de los folículos en el ovario, (Bravo y Sumar, 1989).

Producida la ovulación, se da inicio a la organización estructural y funcional del cuerpo lúteo (CL) por acción de la LH; las células tecales se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas, además se produce la hipertrofia y luteinización de las células de la granulosa dando lugar a las células luteales grandes; ambas células luteales son responsables de secretar progesterona (P4), (Hafez, 2002).

El cuerpo lúteo se desarrolla en el ovario a los 5 días después de la cópula (2 a 4 días después de la ovulación), localizándose en el punto de ovulación (Sumar y Bravo, 1991). En alpacas el cuerpo lúteo alcanza su máximo diámetro (14 mm) en los días 8 – 9 post cópula o post inyección de hCG, declinando marcadamente en ausencia de preñez para el día 12; la regresión completa se observa el día 18; así mismo, la concentración de progesterona es elevada en el día 8 ( $4,41 \pm 0,36$  ng/ml), declinando hacia el día 18 ( $0,23 \pm 0,04$  ng/ml); en alpacas preñadas ocurre un comportamiento similar hasta el día 8, pero se produce una declinación alrededor del día 13 y posteriormente los valores se recuperan entre el día 18 y 23 (Fernández Baca et al., 1970); después

de la cópula, los espermatozoides permanecen en los cuernos uterinos las primeras 12 horas, luego más del 90% avanzan hacia los oviductos, específicamente a la unión úterotubal, sitio de la fertilización, siendo la concentración máxima a las 18 horas. El desarrollo embrionario en la alpaca es similar al de otras especies. El estadio de mórula de 4 a 6 blastómeros se observa en el oviducto alrededor del día 4 post cópula, como mórula compacta de gran número de blastómeros por el día 7 y en el útero como estadio de blastocisto en el día 10 (Bravo et al., 1996a).

#### **2.1.3.2. Folículo ovárico**

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. Varios folículos comienzan a crecer simultáneamente hasta que uno de ellos se diferencia en dominante y otros se atresian (Gigle et al., 2006).

#### **2.1.3.3. Dinámica folicular**

En los camélidos, la hembra al no ser expuesta al macho desarrolla ondas foliculares sucesivas en tres fases de desarrollo, para lo cual un grupo de folículos son reclutados, de ellos es seleccionado uno e inicia su crecimiento, diferenciándose y alcanzando el tamaño ovulatorio (igual o mayor a 7 mm de

diámetro); mientras que los demás regresionan (Bravo *et al.*, 1990; Fernández Baca, 1993; Brown, 2000).

La formación y el crecimiento folicular en el ovario se producen en ondas que se han llamado ondas foliculares que tienden a sobreponerse uno sobre otro. El intervalo entre las ondas foliculares, en promedio es de 11 días, con alternancia en los ovarios es más del 80% de veces. La onda folicular se divide en tres etapas: crecimiento, se define como el periodo desde la última vez que el diámetro de folículo más grande era mayor a 3 mm hasta que el folículo dominante alcance su máximo diámetro. La fase estática, se define como el periodo de mantenimiento del diámetro máximo con un mínimo de cambios en el tamaño del folículo durante al menos 2 días. La fase de regresión; se inicia con la disminución de las dimensiones hasta que el diámetro del folículo disminuya a 3 mm. Un ovario normal siempre posee 2 ó 3 folículos pequeños de 3 mm de diámetro; tamaño mínimo que puede ser detectado por ultrasonografía (Bravo *et al.*, 1990).

Los folículos pueden crecer hasta 6 mm sin demostrar dominancia. Pero después de éste tamaño uno se vuelve dominante sobre los otros. La dominancia se mantiene sobre los otros folículos del ovario que lo contiene así como a los del ovario del lado opuesto. Debido a que las ondas tienden a sobreponerse, el nuevo folículo dominante inicia su desarrollo 2 a 3 días antes de la regresión del folículo dominante presente (Bustinza, 2001).

#### **2.1.3.4. Fases del desarrollo de la dinámica folicular**

##### **a) Reclutamiento folicular**

El reclutamiento es un proceso por el que, bajo la responsabilidad de factores intraovaricos (factores de crecimiento ligado a la insulina y sus proteínas de

enlace IGFBP) estimulados por FSH, un conjunto de folículos antrales tempranos (2 - 3 mm de diámetro) comienzan a crecer en un medio con suficiente soporte gonadotrófico que les permite progresar a la ovulación (Fernández, 2003).

En alpacas hembras fértiles durante cada onda folicular, la aparición sincrónica de un grupo de folículos antrales, que crecen de 4 a 5 mm de diámetro. De éstos, un folículo es seleccionado para convertirse en folículo dominante, los demás sufren atresia y regresionan (Aba, 2014).

#### **b) Selección folicular**

La selección de un folículo dominante se refiere al mecanismo que determina cual folículo de la cohorte o grupo es seleccionado para continuar creciendo y convertirse en dominante evadiendo la atresia. Es posible que la LH esté involucrado en el proceso de selección ya que los sucesos de desviación de tamaño y aumento de LH ocurren simultáneamente. Además el folículo dominante expresa más receptores para la LH que los subordinados (Gigli et al., 2006).

#### **c) Divergencia y dominancia**

El mecanismo de control del crecimiento y el reclutamiento de los folículos en camélidos sudamericanos aún no se ha estudiado. El ganado vacuno, la oleada secundaria de FSH después de la ovulación puede jugar un papel en la iniciación del reclutamiento folicular en el siguiente ciclo y existe una relación entre FSH y la aparición de las ondas foliculares. A partir de entonces, los estrógenos y la inhibina secretadas por el folículo en crecimiento inhiben aún más la secreción de FSH central, que se convierte en inadecuado para el

crecimiento de los folículos subordinados, pero estimula el crecimiento y la diferenciación celular dentro del mismo folículo (Bravo et al., 1990)

#### **d) Ovulación**

Las alpacas presentan ovulación inducida por la monta del macho y un factor de inducción de ovulación en el plasma seminal del macho (England et al., 1969). La ruptura folicular (ovulación), 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 (35 kg de peso) 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).

También se sabe que algunas alpacas pueden ovular sin el estímulo coital, cuando han estado inicialmente aisladas del macho y que al ser expuestas a un macho sin permitir la intromisión del pene, se observó hasta un 5% de ovulaciones llamadas espontaneas (Sumar, 1983).

(Ratto et al., 2005) al realizar la comparación de métodos de inducción de ovulación con macho y el uso de 5 mg de LH, 50 ug de GnRH en llamas, encontró 80%, 91% y 80% de ovulación en cada grupo respectivamente dicho autor indica que no existe diferencia entre los diferentes métodos de inducción de ovulación, así mismo no hubo diferencia en el diámetro máximo de los cuerpos lúteos posteriores a la inducción de ovulación.

## 2.1.4. Método de diagnóstico de gestación

### 2.1.4.1. Ultrasonido o ecografía

La introducción de tecnologías modernas en reproducción animal, como la ultrasonografía, ha permitido mejorar sustancialmente los índices de eficiencia reproductiva en diversas especies domésticas. Los principales avances introducidos por la ultrasonografía, que han tenido impacto sobre la eficiencia reproductiva, son: reconocimiento de la calidad estructural y funcional de las gónadas y tracto reproductivo en muchas especies domésticas con 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 CL, la preñez temprana y mortalidad embrionaria, entre otros (Bourke et al., 1992)

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).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

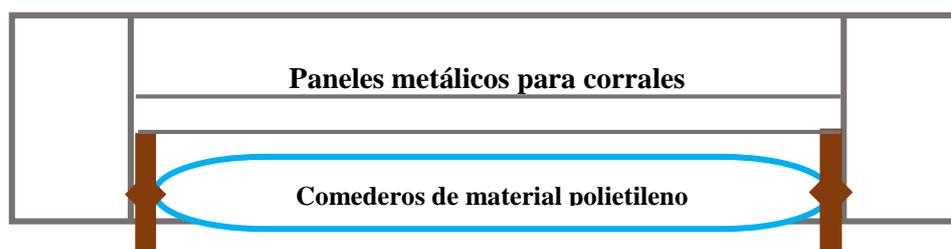
#### 3.1. Medio Experimental

##### 3.1.1. Ubicación

El trabajo de investigación fue realizado en el Centro de Investigación y Producción (C.I.P.) “La Raya”, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado en la jurisdicción del distrito de Santa Rosa, provincia de Melgar, Región Puno, localizado en las Coordenadas geográficas de 14°30’33” de Latitud Sur, y a 70°57’12” Longitud Oeste, a una altura entre 4136 a 5470 m.s.n.m. Las muestras de semen fueron evaluados en el laboratorio de reproducción de centro experimental la Raya de la Universidad Nacional San Antonio Abad de Cusco (UNSAAC). El análisis de la concentración de proteína y energía bruta de insumos alimenticios para la suplementación, y análisis de las muestras de suero sanguíneo, se realizó en el Laboratorio de Nutrición y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

##### 3.1.2. Instalaciones

En el Centro de Investigación y Producción “La Raya” cuenta con corrales acondicionados de paneles metálicos, implementados con comederos lineales hechos con material polietileno, sogas y palos y bebederos (lavadores) para la alimentación de los animales en tratamiento.



### **3.2. Materiales y Equipos**

#### **3.2.1. Materiales para picar forraje**

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

#### **3.2.2. Materiales para colección de semen**

- Especula vaginal
- Tubos para colectores de semen de (15 ml)

#### **3.2.3. Materiales y equipos para evaluación de semen**

- Laminas porta y cubre objetos
- Micro pipetas
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Cámara de Neubauer
- Tips
- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Contador de hematocrito
- Microscopio
- Baño maria

#### **3.2.4. Materiales y equipos para realizar ecografía**

- Gel
- Ecógrafo ALOKA SSD 500 con un transductor transrectal de 5 MHz)

#### **3.2.5. Reactivos para evaluación de semen**

- Colorante Eosina-Nigrosina

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

### **3.2.6. Materiales para muestreo de sangre**

- Equipo vacutainer ( tubos y agujas)
- Alcohol yodado
- Agujas descartables hipodérmicas N° 18 x 1”1/2
- Caja de tecnopor con hielo
- Gradilla

### **3.2.7. Materiales y equipos para conservación y análisis nitrógeno ureico en suero sanguíneo**

- Centrífuga
- Viales de plástico
- Tubos de prueba
- Pipetas de 0.5, 1.5 y 10 ml.
- Congeladora
- Jeringas de 1 ml
- Espectrofotómetro
- Baño María
- Homogeneizador
- Gradillas
- Pipetas automáticas
- Tubos de prueba de 5 y 10 mL.

### 3.2.8. Reactivos para determinación Nitrógeno Ureico en Suero Sanguíneo

- Reactivo 1: ácido salicílico y nitroprusiato.
- Reactivo 2: Concentrado de hipoclorito de sodio y hidróxido de sodio (NaOH).
- Stándar: Solución de urea 66  $\mu\text{L}/\text{dL}$ .
- Agua destilada.

## 3.3. METODOLOGÍA

### 3.3.1. Animales

Se seleccionaron 8 alpacas machos (reproductores) y 120 alpacas hembras con crías recién nacidas, luego fueron distribuidos en dos grupos de tratamientos: pasto natural (PN) y dieta suplementada (DS)+ pasto natural como se muestra en la tabla 3.

**Tabla 1: Distribución de los animales experimentales**

| Animales | Pasto natural (T1) | Pasto natural + Dieta suplementada (T2) | TOTAL |
|----------|--------------------|---|-------|
| Machos   | 4                  | 4                                       | 8     |
| Hembras  | 60                 | 60                                      | 120   |
| Total    | 64                 | 64                                      | 128   |

T1=(n=64) alpacas al pastoreo en pasto natural.

T2=(n=64) alpacas al pastoreo + dieta suplementada.

Luego de la distribución de los animales en los grupos, para una mejor identificación y diferenciación se procedió a identificar a las alpacas machos y hembras con la finalidad de facilitar el manejo de las diferentes actividades durante la alimentación y reproducción de alpacas.

### 3.3.2. Alimentos – Forrajes

La dieta suplementada fue elaborada en base a forrajes como heno de avena (*Avena sativa*) y heno de alfalfa (*Medicago sativa*), procesados mecánicamente con un molino/picador forrajero Trapp TRF-800 a 12mm Ø de tamaño de partícula.

Pasto natural, el C.I.P. la Raya cuenta con pastos naturales con predominancia de gramíneas como Ichu (*Stipa ichu*) y chilligua (*Festuca dolichophylla*).

Los análisis químicos del alimento, fueron a través de los métodos oficiales de la AOAC (2005), obteniéndose los datos según Tabla 2. El procedimiento de la EM y EB (anexo 1).

**Tabla 2: Composición química de forrajes**

| Forrajes-<br>Insumos   | Materia<br>seca % | Proteína<br>total % | Energía bruta<br>Kcal/kg | Energía<br>metabolizable<br>Kcal/kg |
|------------------------|-------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| Alfalfa heno           | 95                | 19.0                | 4271                     | 2334                                |
| Avena heno             | 96                | 6.9                 | 4110                     | 2246                                |
| Minerales<br>vitaminas | 98                | -                   | -                        | -                                   |

El cálculo de la dieta suplementada tanto para alpacas hembras y machos fue realizado en base a las dietas planteadas y composición química de los forrajes – insumos (Tabla 2).

**Tabla 3: Porcentaje y cantidades de forrajes-insumos en la dieta suplementaria**

| Forrajes – Insumos  | Mezcla % | PC%   | EM kcal/kg |
|---------------------|----------|-------|------------|
| Alfalfa heno        | 59       | 11.21 | 1377.1     |
| Avena heno          | 40       | 2.78  | 898.4      |
| Minerales-vitaminas | 1        | -     | -          |
| Total               | 100      | 13.99 | 2275.5     |

En la preparación de la dieta suplementada, primeramente se realizó el pesado de las cantidades de los forrajes - insumos calculados según la Tabla 3, los mismos fueron mezclados manualmente (pala) y luego almacenados.

### **3.3.3. Acostumbramiento de alpacas con dieta suplementada**

El periodo de acostumbramiento fue en dos semanas (10 días), donde se proporcionaron a las alpacas mezclas de forrajes henos de alfalfa y avena.

Inicialmente tanto las alpacas hembras y machos consumieron mínimo debido al estrés al nuevo ambiente, a los corrales, comederos, al personal.

A los 2 o 3 días los animales de poco a poco se han acostumbrado a consumir nuevo alimento suplementada y al cabo de dos semanas las alpacas en general se acercaban directamente a los corrales de suministro del suplemento sin necesidad de arrear.

### **3.3.4. Suministro de la dieta Suplementada**

Los animales del grupo control (T1) de 4 machos y 60 hembras fueron pastoreados en pastos naturales y los animales del grupo suplementadas fue (T2) de 4 machos y 60 hembras, a los cuales se suministró dieta suplementada y luego fueron pastoreados en pastos naturales.

La dieta suplementada inicialmente fue suministrada en la cantidad de 3 Kg (7 días) por corral para 15 alpacas, lo que es equivalente a 200 g/alpaca, desde las 6.00 a 9.00 horas del día, con la separación previa de las crías en la puerta de los corrales.

La dieta suplementada se incrementó hasta cinco 5 Kg por corral es decir 0.333 Kg/alpaca que esto se mantuvo hasta el final del estudio. El peso de la dieta residual (no consumida o rechazada) fue registrado cada día, para

determinar la cantidad de consumo de la dieta suplementaria en grupo o individual. La dieta suplementada para machos fue suministrada en forma individual en la cantidad de 300 g/alpaca durante los primeros días (7 días) y luego se incrementó a 500 g/alpaca que esto se mantuvo hasta el final del estudio, también desde 6.00 a 9.00 horas del día, de manera similar.

Tanto para machos y hembras la dieta suplementada fue suministrada hasta los 45 días, luego se procedió con empadre natural. Las alpacas después del consumo de la dieta suplementada, a partir de las 9.00 horas fueron llevadas al campo para pastoreo en pastizales naturales (Bautista y col., 1997) hasta las 17 horas, y luego retornaron a sus respectivos corrales dormideros.

### **3.3.5. Evaluación de la calidad de semen**

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

### **3.3.6. Colección de semen por aspiración vaginal pos cópula:**

Neely y Bravo (1998).

- Para la colección de semen es necesario que el macho realice la monta hasta su culminación.
- Culminando la monta inmediatamente fue introducido via vaginal un especulo debiendo alcanzar hasta la cérvix, simultáneamente fue levantada la parte anterior (tren anterior) del animal a una altura de tal manera pueda bajar por gravedad el semen hacia el tubo de 15 mL previamente calentado a temperatura adecuada de 25 °C.

- Luego es llevado hacia el microscopio para su evaluación de la calidad de semen.

### 3.3.7. Evaluación microscópica

#### a) Motilidad individual

La determinación de la motilidad individual se realizó inmediatamente 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 hasta un número de 100 espermatozoides.
- Una vez concluida la lectura, se determinó el porcentaje de motilidad individual a través de la formula siguiente:

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

MI = % motilidad individual.

n = Numero de espermatozoides móviles.

N = Número total de espermatozoides.

#### b) Concentración

La concentración espermática fue evaluada de la siguiente manera:

- Con utilización de micro pipeta automática, se aspiró 990µl 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 y posteriormente se homogenizo y se aspiró 10µl 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, contándose 5 de los 25 cuadrantes. Se aplicando la siguiente formula:

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

C = Concentración

CI = Total de la cámara 1

CII = Total de la cámara 2

#### a) Vitalidad

La vitalidad espermática se realizó por la técnica 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 10 segundos.
- Pasado ese tiempo se realizó el frotis utilizando un portaobjetos limpio, colocando a 45 ° y se arrastró hacia adelante.
- Luego del secado se procedió a realizar la lectura de la lámina contando 100 espermatozoides y se determinó el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos a través de la siguiente formula:

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

% V = % de espermatozoides vivos

n = Número de espermatozoides vivos

N = Número total de espermatozoides

**b) Anormalidades**

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

- Se utilizó la lámina que fue lecturado en la motilidad (se realizó el frotis).
- La lámina fue colocada en el fijador 1, durante 1 minuto.
- Seguidamente fue colocada en la coloración Eosina, durante 1 minuto.
- Luego es colocada en la coloración Nigrosina, durante 1 minuto.
- Finalmente se dejó secar durante 5 a 10 minutos y se realizó el conteo de los espermatozoides con anormalidades y se aplicó la siguiente formula:

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

X = % de anormalidades

n = Número de espermatozoides anormales

N = Número total de espermatozoides

**3.3.8. Diagnóstico de la actividad ovárica (tamaño y número de folículos)**

Después del descanso pos parto de 15 días se inició con la evaluación por ecografía para ver la actividad ovárica tamaño y número de folículos. El tamaño y número de folículos fueron evaluados una vez por semana desde el inicio con la dieta suplementa hasta los 45 días, luego se inició con el empadre:

- Se registró la identificación de las animales previo al proceso de la ecografía.
- Se colocó Gel en el recto de la alpaca mediante una jeringa de 10 mL

- Se introdujo el transductor lineal rígido por el recto de la alpaca
- Ambos ovarios de cada alpaca fueron explorados ultrasonográficamente para la medida del tamaño y número folicular.
- Las imágenes fueron tomadas con una cámara fotográfica.

### 3.3.9. Determinación de la tasa de fertilidad

#### 3.3.9.1. Manejo del empadre

Después de las 45 días de alimentación de alpacas con dieta suplementaria y alpacas al pastoreo en pastos naturales; de acuerdo a la planificación en el proyecto, se ha sometido al empadre natural, los machos copularon a las hembras inter diario, el servicio de los machos fue 2 hembras por cada macho, registrando el tiempo de copula y con su respectiva identificación de macho y hembra, hasta el final del empadre natural.

**Tabla 4: Distribución de las alpacas machos y hembras para empadre natural**

| 2 machos<br>pasto natural | 2 machos dieta<br>suplementada * | 2 machos dieta<br>suplementada * | 2 machos<br>pasto natural    |
|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Hembra<br>pasto natural   | Hembra dieta<br>suplementada     | Hembra pasto<br>natural          | Hembra dieta<br>suplementada |
| 30                        | 30                               | 30                               | 30                           |

\* Dieta Suplementada: heno de avena + heno de alfa alfa

#### 3.3.9.2. A los 21 días pos empadre

La fertilidad se evaluó en los animales con dieta suplementaria y pasto natural, a los 21 días post- empadre natural, las alpacas hembras fueron llevadas a un corral. Se evaluó a todas las hembras empadradas por ecografía (transductor lineal de 5 MHz). A la ecografía se determinó la presencia de vesícula embrionaria lo cual confirmó la fertilidad de la hembra y a las

hembras que no se observó la presencia de vesícula embrionaria se consideró vacías.

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

$$TF = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de alpacas fertilizadas}}{\text{N}^{\circ} \text{ de alpacas servidas}} \times 100\%$$

### **3.3.10. Determinación de nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN)**

#### **3.3.10.1. Muestreo de sangre**

El muestreo de sangre se realizó antes y después de los 45 días de la dieta suplementada, estando los animales en ayunas por diferentes grupos experimentales, con utilización vacutainer, previa desinfección a nivel de la vena yugular, luego por venipunción yugular se recogió la muestra en tubos vacutainer en la cantidad suficiente de 5 ml las mismas debidamente identificadas fueron acondicionadas y colocados en una caja de tecnopor con hielo para su envío al laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

#### **3.3.10.2. Obtención de suero sanguíneo**

Las muestras obtenidas de diferentes grupos de animales, fueron centrifugadas a 3000 r.p.m., por un tiempo de 15 min. El suero obtenido se depositaron en viales de plástico debidamente identificados y fueron conservados a -20 °C, siendo enviados posteriormente hasta el momento de su análisis al laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

### **3.3.10.3. Análisis de muestra de sangre**

#### **a) Urea en suero sanguíneo**

Se determinó la concentración de Urea en las muestras de suero sanguíneo, mediante el método enzimático.

#### **b) Método enzimático específico para la determinación cuantitativa de urea en suero sanguíneo**

La ureasa descompone específicamente a la urea produciendo dióxido de carbono y amoníaco, esta reacción con salicilato e hipoclorito en medio alcalino formándose un complejo de color verde que se determina espectrometricamente.

#### **c) Uso de Reactivos 1 y 2**

Según las instrucciones del protocolo indicado (Wiener lab., 2000).

- Reactivo 1: Disolver el contenido del frasco con agua destilada de acuerdo con las indicaciones del rotulo. Mezclar por inversión hasta la disolución completa.
- Reactivo 2: Diluir el contenido del frasco con agua destilada de acuerdo con las indicaciones del rótulo y mezclar por inversión.
- Estándar: Listo para usar.
- Muestra: Suero sanguíneo.

#### **d) Condiciones de reacción**

- Longitud de onda: 540 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 min.
- Volumen de reacción: 12 mL.

- Volumen de estándar: 20 µL.
- Volumen de muestra: 20 µL.

**e) Procedimiento**

En tres cubos de espectrofotométrica marcados B (Blanco), S (Stándar) y M (Muestra), coloco una o dos gotas de agua y agregar:

|   | Blanco (B) | Estándar (S) | Muestra (M) |
|---|------------|--------------|-------------|
| Estándar  | -          | 20 µL        | -           |
| Suero   | -          | -            | 20 µL       |
| Ureasa  | 1 gota     | 1 gota       | 1 gota      |
| Mezclar por agitación suave e incubar 5 minutos a 37°C luego agregar:   |            |              |             |
| Reactivo 1  | 1 MI       | 1 mL         | 1 MI        |
| Reactivo 2  | 1 mL       | 1 mL         | 1 mL        |
| Mezclar por agitación suave e incubar 5 minutos a 37°C luego agregar:   |            |              |             |
| Agua destilada  | 10 mL      | 10 mL        | 10 mL       |
| Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 10 minutos leer en espectrofotómetro a 540 nm, llevando a cero con el blanco |            |              |             |

(Wiener lab., 2000).

Medir la absorbancia de blanco (reactivos).

Medir la absorbancia neto de estándar (ANE):

$$\text{ANE} = \text{Absorbancia de estándar} - \text{absorbancia de blanco.}$$

Medir la Absorbancia neto de muestras de suero sanguíneo (ANM):

$$\text{ANM} = \text{Absorbancia muestras} - \text{absorbancia de blanco.}$$

**Cálculo de Factores:**

$$\text{Factor BUN} = (30 \text{ mg/dL})/\text{ANE}$$

**Cálculo de concentración:**

$$\text{Nitrogeno Ureico (BUN) mg/dL} = \text{Factor BUN} * \text{ANM}$$

**3.4. Variables de medición**

- Características seminales (motilidad, concentración espermática, vitalidad espermática, y anormalidades espermáticas).

- Actividad ovárica (tamaño y número de folículos).
- Fertilidad a los 21 días después del empadre controlado.
- Concentración de nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN) mg/100 mL en suero sanguíneo de alpacas machos y hembras.

### 3.5. Análisis estadístico

#### 3.5.1. Calidad de semen

##### a) Motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología espermática

Los datos porcentuales fueron transformado primero en valores angulares y fue analizado mediante la prueba estadística de “t” (student):

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{Sc \sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}} \rightarrow t_{\alpha, n - 2gl}$$

Donde:

$t$  : Valor de la prueba t

$\bar{X}_1$  : Promedio del grupo N° 1

$\bar{X}_2$  : Promedio del grupo N° 2

$n_1$  : Número de muestra del grupo N° 1

$n_2$  : Número de muestra del grupo N° 2

$Sc$  : Varianza común

$t_{\alpha, n - 2gl}$  : Valor tabular de t con n-2 grados de libertad

### 3.5.2. Actividad ovárica

El tamaño y número folicular fue determinado bajo un arreglo factorial de 2 x 2, conducido bajo Diseño Completamente al Azar utilizando el programa estadístico SAS, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$X_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ijk}$$

$i$  = 2 tipos de alimentos (pasto natural y dieta suplementada)

$j$  = 2 lados de ovario (derecho e izquierdo)

$k$  = 1, 2, 3 ... 30 repeticiones

Dónde:

$X_{ij}$  = Variable respuesta (Tamaño folicular y número folicular)

$\mu$  = Promedio general del experimento

$A_i$  = Efecto de las dietas (Pasto natural y dieta suplementada)

$B_j$  = Efecto de los lados de ovario (derecho e izquierdo)

$AB_{ij}$  = Efecto de interacción tipo de alimentación y lado de ovario.

$E_{ijk}$  = Efecto del error experimental

Para contrastar las diferencias estadísticas entre promedios se utilizaron la

Prueba de significancia de Tukey a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

### 3.5.3. Fertilidad en alpacas hembras

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

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

Dónde:

$X^2_c = J_i$  – Cuadrado calculado.

$O_i$  = Valores observados de la  $i$ -ésima clase

$E_i$  = Valores esperados en la  $i$ -ésima clase

$\Sigma\Sigma$  = Sumatoria

#### 3.5.4. Nitrógeno en suero sanguíneo (BUN)

La variable nitrógeno ureico fue analizado mediante el arreglo factorial de  $2 \times 2$ , conducido bajo Diseño completamente al Azar utilizando el programa estadístico SAS, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$X_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ijk}$$

$i = 2$  tipos de alimentos (pasto natural y dieta suplementada)

$j = 2$  sexo (machos y hembras)

$k = 1, 2, 3 \dots 30$  repeticiones

Dónde:

$X_{ij}$  = variable respuesta

$\mu$  = Promedio general del experimento

$A_i$  = Efecto de las dietas (pasto natural y dieta suplementada)

$B_j$  = Efecto sexo (macho y hembra)

$AB_{ij}$  = Efecto de interacción tipo de alimento y sexo.

$E_{ijk}$  = Efecto del error experimental

Para contrastar las diferencias estadísticas entre promedios se utilizarón la Prueba de Significancia de Tukey a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Calidad de Semen

#### 4.4.1. Evaluación Macroscópica

##### a) Volumen

El volumen no fue evaluado, por que esta técnica por Aspiración vaginal pos coital no es recomendable para la determinación del volumen ya que el semen es incompleto, diluido con las secreciones del tracto genital femenino según (Bravo, 2002; Neelly y Bravo, 1995).

#### 4.4.2. Evaluación Microscópica

##### a) Motilidad Espermática

La tabla 5 muestra la motilidad espermática individual por efecto dieta, al inicio del experimento en alpacas alimentados con pasto natural fue de 50% y los de dieta suplementada 70% y al final de trabajo experimental, tanto (45 días) en animales alimentados en pasto natural y con dieta suplementada fueron 70%, no se encontró diferencia estadística ( $P>0.05$ ). Por lo tanto la suplementación no tuvo influencia en la variación de los valores de motilidad espermática.

**Tabla 5: Motilidad espermática individual por tipo de alimento (%)**

| Tipo de Alimentación               | n | Inicio | A los 45 días<br>pos alimentación |
|------------------------------------|---|--------|-----------------------------------|
| Pasto natural                      | 3 | 50.0   | 70.0                              |
| Pasto natural + Dieta suplementada | 3 | 70.0   | 70.0                              |

Los resultados encontrados en el estudio son superiores a los de Bravo y Alarcón, (2015) quienes realizaron estudios con suplementación vitamínica lo cual obtuvieron una motilidad de 50% en machos suplementados con preñatec, 33% en machos

suplementados con catosal y 24.4% en machos control. Los mismos fueron 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. Estas diferencias se deberían al tipo de la dieta suplementada que recibieron durante el estudio.

### b) Concentración Espermática

La tabla 6 muestra la concentración espermática en alpacas por efecto de tipo de alimento, al inicio del experimento en alpacas alimentadas con pasto natural fue de 13'333,333 esp/mm<sup>3</sup> y los de dieta suplementada 4'000,000 esp/mm<sup>3</sup> y al final de trabajo (45 días) en animales alimentados con pasto natural fue 11'000,000 esp/mm<sup>3</sup> y los de dieta suplementada 10'666,666 esp/mm<sup>3</sup> respectivamente, los resultados de concentración espermática fueron similares ( $P>0.05$ ).

**Tabla 6: Concentración espermática por tipo de alimento (esp/mm<sup>3</sup>)**

| Tipo de Alimentación               | N | Inicio     | A los 45 días<br>pos alimentación |
|------------------------------------|---|------------|-----------------------------------|
| Pasto natural                      | 3 | 13'333,333 | 11'000,000                        |
| Pasto natural + Dieta suplementada | 3 | 4'000,000  | 10'666,666                        |

Los resultados encontrados en el estudio son inferiores a los de Bravo y Alarcón, (2015) quien realizó estudios con suplementación vitamínica donde se obtuvieron una concentración de 192 millones de espermatozoides en machos suplementadas con preñatec, 82 millones machos suplementados con catosal y 60 millones en machos control antes del empadre. Estas diferencias se deberían al tipo de suplemento que recibieron durante el estudio, la manipulación durante la colección del semen.

### c) Vitalidad espermática

La tabla 7 muestra que la variable de vitalidad espermática por efecto de tipo de alimento, al inicio del experimento las alpacas alimentados con pasto natural fue de 91.7% y los de dieta suplementada 90.6% y a los 45 días de alimentación en pasto natural y dieta suplementada fueron 90% y 94.4% respectivamente, estos resultados no mostraron diferencias ( $P>0.05$ ).

**Tabla 7: Vitalidad Espermática por tipo de alimento (%)**

| Tipo de Alimentación               | n | Inicio | A los 45 días<br>pos alimentación |
|------------------------------------|---|--------|-----------------------------------|
| Pasto natural                      | 3 | 91.7   | 90.0                              |
| Pasto natural + Dieta suplementada | 3 | 90.6   | 94.3                              |

Los resultados encontrados en el estudio son similares al estudio realizado por Bravo y Alarcón, (2015) con suplemento vitamínica donde obtuvieron una vitalidad de 86% para los machos suplementados con preñatec, 80% para los machos suplementados con catosal y 88.8% machos de control antes del empadre. La suplementación alimenticia no tuvo influencia en la variación de la vitalidad espermática durante los 45 días de suplementación, debido que el trabajo se realizó en la época de lluvia con abundancia de forrajes de baja calidad en pasto natural.

### d) Morfología espermática

La morfología espermática observada fue referida a espermatozoides normales, la anormalidades de espermatozoides se presentan con cabeza anormal, con defecto en la cola y con gota citoplasmática en alpacas por efecto del tipo de alimento, al inicio del experimento los espermatozoides normales en alpacas alimentadas con pasto natural fue 70% y los de dieta suplementada 77% y a los 45 días de alimentación en

pasto natural y dieta suplementada fue 81% y 86% respectivamente, no se encontraron diferencia en ambos grupos ( $P>0.05$ ).

**Tabla 8: Morfología espermática por tipo de alimento (%)**

| Tipo de alimentación               | Variables | Inicio | A los 45 días<br>pos alimentación |
|------------------------------------|-----------|--------|-----------------------------------|
| Pasto natural                      | Normales  | 70     | 77                                |
| Pasto natural + Dieta suplementada | Normales  | 73     | 84                                |

Los resultados encontrados en el estudio fueron similares al trabajo realizado por Bravo y Alarcón (2015), quienes realizaron con suplementación vitamínica y obtuvieron 72 % para espermatozoides normales para machos suplementados con preñatec, 70.2 % para machos suplementados con catosal y 69.1% machos de control antes del empadre. Estas similitudes se deberían a que el método de colección de semen y la evaluación empleada fueron los mismos, además las anomalías espermáticas también se deben a las variedades genéticas y ambientales.

## 4.2. Tamaño y Número Folicular

### a) Tamaño folicular

Entre las alpacas con dieta suplementada y pasto natural no se encontró diferencia ( $P>0.05$ ) tal como muestra la (Tabla 9).

**Tabla 9: Tamaño folicular (mm) en alpacas por tipo de alimento**

| Tipo de alimentación               | n  | $\bar{X}$          | $\pm$ | DS   |
|------------------------------------|----|--------------------|-------|------|
| Pasto natural + Dieta suplementada | 60 | 6.095 <sup>a</sup> | $\pm$ | 1.11 |
| Pasto natural                      | 60 | 5.650 <sup>a</sup> | $\pm$ | 1.85 |

Los resultados encontrados en el estudio fueron inferiores al reporte de Machaca, (2015), quien evaluó mediante ecógrafo y registra el tamaño máximo del folículo

dominante de  $7.3 \pm 0.67$  y  $7.1 \pm 0.4$  mm en animales con y sin suplementación, respectivamente. Sin embargo Hanco, (2014) encontró mayor de diámetro de folículo dominante de  $10.3 \pm 1.6$  mm en alpacas alimentados con pasto natural y suplementados con heno de avena y alfalfa durante 60 días. En otro estudio realizado en alpacas con suplementación energética registro  $9.14 \pm 1.95$  mm de diámetro que superó en tamaño folicular ( $P=0.0123$ ) a las alpacas sin suplementación con  $8.14 \pm 1.59$  mm de diámetro Llacsá, (2012). Las causas de esta diferencia se deberían a diversos factores tales como el tiempo de suplementación, el tipo de alimento, factores ambientales y la metodología empleada.

#### b) Número de folículos

Las alpacas con dieta suplementada mostraron mayor número de  $1.17 \pm 0.19$  folículos comparado a las alpacas alimentadas a base de pastos naturales que lograron desarrollar  $1.05 \pm 0.13$  folículos, los mismos mostraron diferencia estadística a favor de los suplementados ( $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 10: Número de folículos en ovarios de las alpacas por tipo de alimento**

| Tipo de alimentación               | n  | $\bar{X}$         | $\pm$ | DS   |
|------------------------------------|----|-------------------|-------|------|
| Pasto natural + Dieta suplementada | 60 | 1.17 <sup>a</sup> | $\pm$ | 0.19 |
| Pasto natural                      | 60 | 1.05 <sup>b</sup> | $\pm$ | 0.13 |

Estos resultados encontrados en esta investigación son inferiores al reporte de Llacsá (2012), donde en alpacas con suplementación energética mostraron de  $1.52 \pm 0.43$  folículos y en alpacas sin suplemento energético se encontraron  $1.31 \pm 0.29$  folículos dominantes ( $P=0.021$ ). Las causas de esta diferencia podría ser a diversos factores tales como el tiempo de alimentación, a las necesidades de requerimientos nutritivos de las alpacas, factores ambientales y genéticas.

### 4.3. Fertilidad

La fertilidad de las alpacas se muestran en la tabla 11, donde los grupos machos y hembras ambos con dieta suplementada lograron 80 % de fertilidad, el grupo de machos en pasto natural y hembras suplementadas reflejaron 76.70 %, estos fueron superiores al grupo de reproductores alimentados a base de pastos naturales que solamente fertilizaron 50.0 % y el grupo de machos suplementados y hembras a base de pastos naturales mostraron fertilidad de 53.3 %; estos a la prueba de Ji cuadrada evidenciaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 11: Fertilidad de alpacas por empadre controlado, por tipo de alimento**

| Alimentación   | Hembras empadradas | Fertilidad %                           |
|--|--------------------|--|
| Machos y hembras alimentados en pastos naturales                           | 30                 | 50.0                                   |
| Machos en pastos naturales y hembras en Pasto natural + Dieta suplementada | 30                 | 76.7                                   |
| Machos en Pasto natural + Dieta suplementada y hembras en pastos naturales | 30                 | 53.3                                   |
| Machos y hembras ambos en Pasto natural + Dieta suplementada               | 30                 | 80.0                                   |
| $X^2_c = 10.41$  |                    | $X^2_{1,0.05,3} = 7.81$ ( $P < 0.05$ ) |

Los resultados obtenidos en el estudio de grupo de machos y hembras con dieta suplementada fueron superiores a los resultados encontrados por Bravo y Alarcón, (2015) con suplementación vitamínica donde encontró una fertilidad de 50% en machos y hembras suplementadas con catosal, al igual que Machaca (2015) utilizando concentrado de vaca y animales sin crías mostraron resultados de 51.9% fertilidad con suplemento, esta diferencia se debería a la utilización de diferente tipo de alimento utilizado en ambos trabajos de investigación.

Los resultados obtenidos en el estudio de grupo de machos pastoreadas en pasto natural y hembras con dieta suplementada son similares al reporte Llacsá (2012), donde encontró en alpacas con suplemento alimenticio una tasa de fertilidad de 80 %. Esto se debería que la energía y la proteína son importante para la fertilidad en las alpacas y también se debería a que fueron utilizados animales con crías en ambas investigaciones. Sin embargo fueron inferiores a los resultados obtenidos por Rojas, (2015) quién encontró en alpacas hembras 83.33 % de fertilidad con suplementación energética.

Los resultados obtenidos en el grupo de machos y hembras en pasto natural son similares a los resultados obtenidos por Llacsá, (2012) quien encontró 53.33% en alpacas hembras pastoreadas en pasto natural. Sin embargo son inferiores a los resultados encontrados por Bravo y Alarcon, (2015) donde encontró 76% de fertilidad en alpacas machos y hembras pastoreadas en pasto natural. Esta diferencia se debería al lugar de estudio y también al número de animales utilizados.

#### **4.4. Nitrógeno Ureico en Suero Sanguíneo (BUN)**

En la tabla 14, se observa el BUN por efecto sexo y tipo de alimento donde los machos alimentados sobre pasto natural los niveles de BUN fueron de 32.67mg/dl/alpaca, siendo diferente a los resultados de machos suplementadas que mostraron 27.22 mg/dL/alpaca. A si mismo las hembras alimentadas con pasto natural mostraron 23.11mg/dL/alpaca, y las alpacas hembras suplementadas mostraron un 31.93mg/dL/ alpaca, sientos estos resultados superiores a las hembras alimentadas de pasto natural ( $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 12: Niveles de nitrógeno ureico en suero sanguíneo en alpacas hembras y machos a los 45 días**

| Factores | n  | Pasto natural +<br>Dieta suplementada | Pasto natural |
|----------|----|---------------------------------------|---------------|
| Machos   | 9  | 27.22                                 | 32.67         |
| Hembras  | 28 | 31.93                                 | 23.11         |

Los resultados obtenidos (tabla 14) en el estudio (machos y hembras) se encuentran dentro los resultados obtenidos por Siguan et al., (2007) indican que la estación seca conduce a la obtención de bajos niveles de Nitrógeno Ureico Sérico (de 3.5-30.9 y promedio  $18.3 \pm 58$  mg/dL) originados por la reducida disponibilidad y baja de ingestión de proteína. La estación húmeda muestra niveles de BUN elevados (de 15.0 a 42.1 y promedio  $29.0 \pm 6.4$  mg/dL) atribuible a la alta solubilidad de los componentes proteicos y a la mayor disponibilidad de proteína en la dieta.

Los resultados obtenidos en el estudio para hembras (pasto natural y con dieta suplementada) son superiores a los valores obtenidos por Rodrigo (2016) donde los niveles de Nitrógeno Ureico Sanguíneo para alpacas madres fue de  $9.33 \pm 0.38$  mg/dL, con una variación desde 8.50 a 10.16mg/dL. La diferencia entre dieta suplementada y pasto natural sería influenciada por el tipo de alimento.

En un estudio realizado por Sánchez, (2007) demuestra que no son influenciados por el factor sexo, los resultados obtenidos de BUN para hembras en promedio fue de 8.87mg/dL y en machos un promedio de 8.79mg/Dl.

## V. CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo de investigación son las siguientes:

1. Las alpacas machos con dieta suplementada no incrementaron la vitalidad espermática, concentración espermática, morfología espermática, de igual forma los machos en pasto natural mantuvieron similares resultados entre ambos grupos ( $P>0.05$ ).
2. El tamaño folicular para alpacas con dieta suplementada y para alpacas en pastos naturales no presentaron significancia ( $P>0.05$ ). Sin embargo se incrementó, el número de folículos en alpacas con dieta suplementada a  $1.17 \pm 0.19$  folículos, y comparado a alpacas alimentadas a base de pastos naturales lograron  $1.05 \pm 0.13$  folículos ( $P\leq 0.05$ ).
3. La fertilidad por empadre natural de reproductores machos y hembras ambos suplementadas lograron 80 % de fertilidad, el grupo de machos en pasto natural y hembras con dieta suplementada fertilizaron 76.70 %, el grupo de reproductores machos y hembras alimentados a base de pasto natural solamente fertilizaron 50.0 % y el grupo de machos con dieta suplementada y hembras a base de pastos naturales mostraron fertilizar 53.3% ( $P\leq 0.05$ ).
4. El nitrógeno ureico en suero sanguíneo (BUN) por tipo de alimento y sexo para machos alimentados sobre pastos naturales fue de 32.7mg/dL/alpaca, y machos con dieta suplementada fue 27.2mg/dL/alpaca. Las hembras alimentadas sobre pastos naturales fue 23.1mg/dL/alpaca y hembras con alimentación suplementada fue de 31.9mg/dL/alpaca ( $P\leq 0.05$ ).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se debe implementar la suplementación alimentaria en los reproductores machos y hembras con mayor número de animales previo a la época de apareamiento con la finalidad de mejorar la tasa de fertilidad.
- La suplementación alimenticia solo sería económico en animales de mayor valor genético.
- Para tener mejores resultados se recomienda realizar la ecografía de la actividad ovárica acuerdo a la onda folicular en alpacas.
- Se recomienda realizar trabajos de investigación con empadre natural en época de seca con suplementación proteica.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba M. A. 2014, Anatomy and Physiology of Reproduction in the Female Llama and Alpaca. Llama and alpaca care. Part: 3 Reproduction. Edition 1. Copyright ©2014 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. Philadelphia, PA, USA,140-146.
- Adams, G. y M. Ratto. 2001. Reproductive biotechnology in South American Camelids. Rev. Inv. Vet. Perú
- 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.
- Bauman D.E. And W.B. Currie. 1980.Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. J Dairy Sci 1980;63:1514.
- Bautista J. L. 2015. Determinación de los requerimientos de proteína metabolizable de alpaca (Vicugna pacos) mediante la técnica de sacrificio comparativo. VII congreso mundial en camélidos sudamericanos, pag. 435.
- Bisinotto, R. S., L. F. Greco, E. S. Ribeiro, N. Martinez, F. S. Lima, C. R. Staples, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2012. Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. AnimReprod. 9(3):260-272.
- Boland, M. P., P. Lonergan, and D. O'Callaghan. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development,” Theriogenology,.55(6):1323-1340.
- Bondi, A. A. 1988. Nutrición animal. Editorial ACRIBA, S.A. Zaragoza – España. 420.
- Bourke, D.A., C.L. Adam.; C.E. Kyle. 1992. Ultrasonography as an aid controlled breeding in the Llama (Lama glama). Vet. Rec., 130: 424-428.
- 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 pag. 623.
- Bravo, W. 2002b.The reproductive process of south american camelids. Printed on acid-free paper in the United of America.
- Bravo, W. M, y J. Sumar.1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Animal Reproduction Science.

- Bravo, W., Stabenfeld, H., Fowler, E., Lasley, B. 1990. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biology of reproduction*, 43:579-585.
- Bravo, W., J. Moscoso, J. Ordoñez, V. Alarcón. 1996a. Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. *Anim Reprod Sci.* 43:173-179.
- Brown, B. 2000. A review on reproduction in south american camelids. *Animal reproduction science*, 58:169-195.
- Bustanza, V. (2001). *La Alpaca. Conocimiento del gran potencial andino. Libro 1. Instituto de Investigación y promoción de camélidos sudamericanos. FMVZ, U.N.A. Puno – Peru.*
- Butler, S. T., S. H. Pelton, and W. R. Butler. 2006. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J. Dairy Sci.* 89:2938-2951.
- Butler, W. R. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science.* 83:211-218.
- Butler, W. R. 2005. Inhibition of ovulation in the postpartum cow and the lactating sow. *Livest. Prod. Sci.* 98:5-12.
- Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 2000;60–61:449–57.
- Cárdenas, O., Ratto, M., Cordero, A., Huanca, W., 2003. Evaluación de pérdida fetal Temprana en llamas mediante ultrasonografía. *Libro de Resúmenes del III Congreso Mundial sobre Camélidos. Potosí Bolivia.*
- Elrod C.C., and W.R. Butler. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim Sci* 1993;71:694–701
- England, B., W., Foot, D., Matthews, A. Cardozo, and S. Riera. 1969. Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *Journal Endocrinology*, 45:505-513.
- Fernández Baca, S. 1971. “La alpaca reproducción y crianza”. Volumen N° 7, IVITA UNMSM, Lima - Perú.
- Fernández Baca, S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Anim Reprod.*
- Fernández, Baca, S. 1970b . “Estudio sobre la reproducción de la alpaca (*Lama pacos*)”. Editorial Min Agricultura; IVITA UNMSM, 4to boletín extraordinario, Lima - Perú.
- Fernandez, R. Copa, S. y Guzman, J. 2003. Efecto y periodicidad de coleccion sobre las características macro y microscopicas del semen en llama (*Lama Glama*), III Congreso Mundial sobre Camelidos Sudamericanos, Potosi-BOLIVIA.

- Fulkerson, W. J., T. M. Davison, S. C. Garcia, G. Hough, M. E. Goddard, R. Dobos, and M. Blockey 2008. Holstein-Friesian dairy cows under a predominantly grazing system: Interaction between genotype and environment. *J. Dairy Sci.* 91:826–839.
- Galina C, Saltiel A, Valencia J, Becerril J, Bustamante G, Calderon A, Duchateau A, Fermin S, Oler A, Acina R Y Zarco L. 1995. Reproducción de los animales domésticos. Editorial luminosa. México.
- Garnsworthy, P. C., A. Lock, G. e. Mann, K. D. Sinclair, and R. Webb 2008. Nutrition, metabolism, and fertility in dairy cows: 1. Dietary energy source and ovarian function.
- Gigli I, A. Russo y A. 2006. Consideraciones sobre la dinamica ovarica en equino, bovino y camelidos sudamericanos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarin 280. 1427. Ciudad Autonoma de Buenos Arias, Argentina.
- Hafez, E. 2002. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7º Edic. Editorial Interamericana. México.
- Hafez, E. 2005. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7º Edic. Editorial en Español. Interamericana Mc Graw-Hill. Mexico.
- Hanco, E. 2014. Ondas foliculares en alpacas por ultrasonografía en relacion a la secrecion de estrogenos. Tesis FMVZ-UNA, Puno-Peru.
- Hinderer S and W. von Engelhardt 1975. Urea metabolism in the llama. *Comp Biochem Physiol*;52A:619–22.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática) 2012. Censo Agrario, población de alpacas. [WWW.inei.gob.pe/estadistica/censos/](http://WWW.inei.gob.pe/estadistica/censos/)
- Knight TW, M. Ridland, I. Scott, A.F. Death and T.K. Wyeth 1995. Foetal mortality at different stages of gestation in alpacas (*Lama pacos*) and the associated changes in progesterone concentrations. *Anim Reprod Sci* 1995;40:89–97
- Leroy, J. L. M. R., T. Vanholder, G. Opsomer, A. Van Soom, and A. de Kruif. 2006. The in vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reprod Dom Anim*, 41:119-123
- Leroy, J. L. M. R., T. Vanholder, J. R. Delanghe, G. Opsomer, A. Van Soom, P. E. J. Bols, J. Dewulf, and A. de Kruif. 2004. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*. 62:1131-1143
- Llaca, J. 2012. Efecto de la suplementación energética sobre eficiencia reproductiva en alpacas huacayas (*vicugna pacos*) con empadre controlado. Tesis Maestría Scientiea. Escuela de post grado. UNA. Puno, Perú.

- Lucy, M. C. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction* 61:415-427.
- Machaca, M., J. Asencio, C. Mamani, T. Huanca, G. Arroyo, O. Cardenas y W. Huanca. 2015. Efecto de una suplementación alimenticia sobre la actividad ovarica y tasa de concepcion en alpacas (Vicugna pacos). VII Congreso Mundial en Camelidos Sudamericanos, Puno, Perú, Vol. 7, pag 48.
- Neely M. y Bravo W. (1998). Clinical semen assessment of semen of llamas and alpacas. In: *Theriogenology of Domestic Animals*. 2nd. Edition.
- Novoa, C. 1989. Reproducción. In: *Simposio de producción de alpacas y llamas*. XII Reunión Científica Anual. APPA. Perú.
- Novoa, C. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. En: Saúl Fernández-Baca Editor, Santiago de Chile.
- 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 pecuarias de américa latina – rispall, san josé, Costa Rica.
- NRC (National Research Council) 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (6a Ed.). National Academy Press, Washington, D.C.
- 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.*, 207: 317-331.
- Overton, T. R., and M. R. Waldron. 2004. Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *J. DairySci.* 87:(E. Suppl.):E105–E119.
- Quispe, A. 2001. *Manual de Manejo de Alpacas*. Primera Edición - CONACS. Macusani – Puno - Perú
- Ratto, M., W. Huanca, J.Singh, y G. Adams. 2005. Comparison of the effect natural mating, LH, and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Animal Reproduction Science*. 91.
- Roche J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim reprod sci* 2006;96:282–96.
- Rodrigo, Y. 2016. Niveles de nitrogeno ureico en la sangre y leche de alpacas madre y cria Tesis, FMVZ-UNA, Puno-Peru.

- Rojas, D. A., U. H. Pérez, R. Salamanca, J. Llacsá, y B. Roque. 2015, Efecto de la suplementación con concentrado fibroso sobre el rendimiento reproductivo de alpacas en crianza tradicional, VII congreso mundial en camélidos sudamericanos, pag. 506.
- Roque, B. 2009. Determinación de los requerimientos energéticos de mantenimiento y ganancia de peso de alpacas (*Vicugna pacos*) en crecimiento mediante la técnica de sacrificio comparativo. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.
- Salisbury G, Van Dernark L Y Lodge J. 1982. Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bóvidos. 2da. Edición. Editorial Acribia, Zaragoza – España.
- San Martin F.A, and F.C. Bryant. 1989. Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Rumin Res* 1989;2:191–216.
- Sanchez, A. V. 2007. Influencia del sexo sobre algunos parámetros en alpacas (*Lama pacos*) a condiciones de Huancavelica. Maestría en producción animal. EPG – Universidad Nacional de Huancavelica.
- Scaramuzzi, R.J, B.K Campbell, A. J. Downing, N.R Kendall, M. Khalid, M. Muñoz-Gutierrez, and A. Somchit, 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction, Nutrition, Development* 46: 339–354.
- Schneider, J. E. 2004. “Energy balance and reproduction” *Physiology and Behaviour* vol. 81, pp. 289-317.
- Siguas, O., R. Paucar, J. Olazabal, F. San Martín, y V. Vélez. 2007. Valores bioquímicos sanguíneos en alpacas en dos épocas del año en condiciones de Huancavelica: Aportes al perfil metabólico de la especie. APPA - ALPA - Cusco.
- Sinclair K.D., M. Kuran., F.E. Gebbie., R. Webb and T.G. McEvoy. 2000. Nitrogen metabolism and fertility in cattle. II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *J Anim Sci* 2000;78:2670–80
- Skidmore, J. A. 2011. Reproductive physiology in female Old World Camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 124(3-4):148-154.
- Sorensen J. 1982. *Reproducción animal principios y prácticas*. Editorial interamericana mc graw hill. Mexico.

- Solis, R. 2006. Production de camelidos sudamericanos. 2da Edicion. Editorial Imprentarios S.A.C. Cerro de Pasco-PERU.
- Sumar J. 2007 Demographics and herd management practices in South America. In: Youngquist R, Threlfall W, editors. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed., St. Louis, MO: Saunders/ Elsevier; 2007. p. 845–51
- Sumar, J. 1993. Efecto de los estímulos de inducción en Inseminación Artificial, ovulación de alpacas y llamas. Investigaciones Pecuarias. Vol. 6 N° 1.
- Sumar, J. 1997. “Avances y perspectivas en la reproducción de camélidos sudamericanos”. Memoria del primer simposium internacional.
- Sumar. J. 1983. Studies on reproductive pathology in alpacas. MSc Thesis, Department of Obstetric and Gynecology, Veterinary Medicine Faculty, Swedish University of Agrarian Sciences, Uppsala, Sweden. 90p.
- Thorup, V. M., D. Edwards, and N. C. Friggens. 2012. On-farm estimation of energy balance in dairy cows using only frequent body weight measurements and body condition score. *J. Dairy Sci.* 95:1784-1793.
- Tibary A, A. Anouassi and A.M. Memon, 2001. Approach to infertility diagnosis in camelids: retrospective study in alpacas, llamas and camels. *J Camel Pract Res* 2001;8:167–79.
- Van Saun R.J. 2006. Nutrient requirements of South American camelids: a factorial approach. *Small Rumin Res* 2006;61:165–86
- Vaughan J. L., KL. Macmillan and MJ. D’Ochhio. 2004. Ovarian Follicular Wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod Sci.* 80(3-4):353-361.
- Vaughan, J. 2001. Control of follicular waves in alpacas. *Revista de Investigación Veterinaria – Perú. Suplem. Lima – Perú.*
- Verastegui. J., 2001. Estimacion de la concentracion espermatica mediante el color de semen en la alpaca. Tesis de la FMVZ-UNA, Puno-Peru.
- Wensvoort, J., D.J. Kyle, E. R. Orskov, and D. A. Bourke. 2001. Biochemical adaptation of camelids during periods where feed is withheld. *Rangifer.* 21(1):45-48.
- Wiener 2000. Protocolos para determinación de nitrógeno ureico, glucosa, colesterol y triacilglicéridos en suero sanguíneo. Wiener – Lab. Rosario – Argentina.

# ANEXOS

## ANEXO 1

## METODOLOGIA DE CALORIMETRO PARA EL ANALISIS DE EB Y EM

- Preparación de la muestra
- Colocar las muestras dentro de la bomba, conectar alambre fusible 10 cm largo entre los polos de la bomba con la muestra pellet y cerrar bomba con oxígeno de 25 a 30 átomos
- Pesar 2 litros de agua destilada 15 a 16 °C en Bucket y luego medir la T° ambiente debe haber una diferencia de e a 1.5 °C con el bucket y T° ambiente,
- Colocar la bomba en bucket dentro de agua de calorímetro y luego conectar la corriente eléctrica
- Encendido la pantalla registrar el nombre de la muestra y empezar el secado de la muestra y luego esperar 15 minutos aproximadamente
- Registrar el reporte del resultado (secado de muestras):  
Elevación de temperatura:
- Titulación de la disolución residuales de la bomba con carbonato desodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) Y registrar el gastado (mL) de (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)
- Registro de alambre fusil residual cm
- Formula de determinación de energía bruta (EB)

$$EM \text{ Cal/g} = \frac{(AT^{\circ}C)(2430) - (Na_2CO_3) + (cm \text{ alambre fusible}) * (2.3 \text{ cal/cm})}{muestra \text{ gramos}}$$

**Dónde:**

Cal/g = caloría por gramo de forraje – alimento

AT°C= elevación de T°C en la pantalla de calorímetro

Energía estandarizada de calorímetro= 2430 calorías

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>= carbonato de sodio para titulación

Alambre fusible = longitud de alambre residual, cm

2.3 cal/cm= es la energía de alambre fusible porcada cm

EM= Energía metabolizable

EB= energía bruta de alimentos – forrajes

EM= 0.5465 EB NRC (1984)

**ANEXO 2**

**TABLA 15: DATOS PARA CALIDAD DE SEMEN DE ALPACAS MACHOS EN PASTO NATURAL**

| CALIDAD DE SEMEN INICIO Y FINAL A LOS 45 DÍAS EN ALPACAS MACHOS EN PASTO NATURAL |           |               |           |            |    |    |    |       |       |  |
|--|-----------|---------------|-----------|------------|----|----|----|-------|-------|--|
| n°   | MOTILIDAD | concentración | VITALIDAD | MORFOLOGIA |    |    |    | grupo | etapa |  |
|  |           |               |           | N          | CA | DC | GC |       |       |  |
| 1  | 50        | 4000000       | 83        | 83         | 5  | 2  | 10 | PN    | I     |  |
| 2  | 60        | 5000000       | 95        | 60         | 10 | 6  | 24 | PN    | I     |  |
| 3  | 40        | 31000000      | 97        | 66         | 7  | 10 | 17 | PN    | I     |  |
| 1  | 70        | 8000000       | 90        | 76         | 8  | 4  | 12 | PN    | F     |  |
| 2  | 60        | 9000000       | 89        | 84         | 5  | 5  | 6  | PN    | F     |  |
| 3  | 80        | 16000000      | 91        | 73         | 9  | 6  | 12 | PN    | F     |  |

**ANEXO 3**

**TABLA 16: DATOS PARA CALIDAD DE SEMEN DE ALPACAS MACHOS CON DIETA SUPLEMENTADA**

| CALIDAD DE SEMEN INICIO Y FINAL A LOS 45 DÍAS EN ALPACAS MACHOS CON DIETA SUPLEMENTADA |           |               |           |            |    |    |    |       |       |  |
|--|-----------|---------------|-----------|------------|----|----|----|-------|-------|--|
| n°   | MOTILIDAD | concentración | VITALIDAD | MORFOLOGIA |    |    |    | grupo | Etapa |  |
|  |           |               |           | N          | CA | DC | GC |       |       |  |
| 6  | 50        | 4000000       | 89        | 68         | 2  | 4  | 26 | DS    | I     |  |
| 7  | 50        | 5000000       | 90        | 75         | 3  | 3  | 19 | DS    | I     |  |
| 8  | 80        | 3000000       | 93        | 75         | 1  | 3  | 21 | DS    | I     |  |
| 6  | 80        | 12000000      | 93        | 80         | 5  | 7  | 8  | DS    | F     |  |
| 7  | 50        | 15000000      | 95        | 86         | 5  | 5  | 4  | DS    | F     |  |
| 8  | 80        | 5000000       | 95        | 85         | 3  | 5  | 7  | DS    | F     |  |

**ANEXO 4**

**TABLA 17: ANOVA PARA TAMAÑO FOLICULAR DE OVARIOS DE ALPACAS**

| FV                 | GL  | SC     | CM    | Fc      | Pr>F     | Ft( $\alpha=0.05$ ) |
|--------------------|-----|--------|-------|---------|----------|---------------------|
| Tipo de alimento   | 1   | 5,9    | 5,9   | 2.96    | < 0.2451 | 3,51                |
| Lado de ovario     | 1   | 27,46  | 27,46 | 13.79** | < 0.0003 | 3,51                |
| Alim* lado ovárico | 1   | 18,88  | 18,88 | 9.14**  | < 0.0001 | 3,51                |
| Error aleatorio    | 116 | 230,39 | 1,99  |         |          |                     |
| Total              | 119 | 282,63 |       |         |          |                     |

CV = 24.02 %

## ANEXO 5

TABLA 18: ANDEVA PARA NÚMERO FOLICULAR DE OVARIOS DE ALPACAS  
SEGÚN FACTORES

| FV                       | GL       | SC            | CM               | Fc     | Pr>F   | Ft( $\alpha=0.05$ ) |
|--------------------------|----------|---------------|------------------|--------|--------|---------------------|
| Tipo de alimento         | 1        | 0,47          | 0,47             | 15.7** | 0.0001 | 3,51                |
| Lado de ovario           | 1        | 0,002         | 0,002            | 0,07   | 0,1425 | 3,51                |
| Alim* lado<br>ovárico    | 1<br>116 | 0,008<br>3,02 | 0,008<br>0,03000 | 0,027  | 0,7631 | 3,51                |
| Error aleatorio<br>Total | <br>119  | <br>3,5       |                  |        |        |                     |

CV = 15.59 %

TABLA 19: ANALISIS DE VARIANZA: NIVELES DE NITROGENO UREICO EN  
SANGRE (BUN) DE ALPACAS HUACAYAS HEMBRAS EN LACTACION Y  
MACHOS DE 45 DIAS

| FV              | GL | SC        | CM       | Fc      | Pr>F    | Ft( $\alpha=0.05$ ) |
|-----------------|----|-----------|----------|---------|---------|---------------------|
| Alimento        | 1  | 529.7838  | 529.7838 | 15.73** | 0.0002  | 3.99                |
| Sexo            | 1  | 80.2085   | 80.2085  | 2.38    | 0.1273  | 3.99                |
| Alimento*Sexo   | 1  | 693.0515  | 693.0515 | 20.57** | <0.0001 | 3.99                |
| Error aleatorio | 70 | 2358.0913 | 33.6870  |         |         |                     |
| Total           | 73 | 3661.1351 |          |         |         |                     |

CV = 20.65 %

$R^2 = 0.36$

**Imágenes al inicio del proyecto de investigación preparación de corrales, selección de animales de estudio**



Img 1. Preparación de corrales con paneles para alpacas hembras.



Img 2. Corrales para alpacas machos con techo adecuado.



Img. 3 Elaboración de comederos de material polietileno.



Img. 4 Corrales y comederos para el suministro de la dieta suplementada.



Img. 5 Selección de alpacas hembras para suministro de la dieta suplementada.



Img. 6 Selección de alpacas machos para la dieta suplementada.

**Imágenes de elaboración de la dieta suplementada para las alpacas y periodo de acostumbramiento**



Img. 7 Picado de heno de avena y alfa alfa en molino.



Img. 8 Adición de Suplamin Difos en la mezcla.



Img. 9 mezclar el heno de avena, alfa alfa y Suplamin Difos con pala .



Img. 10 Almacenamiento de la mezcla debidamente pesado en sacos.

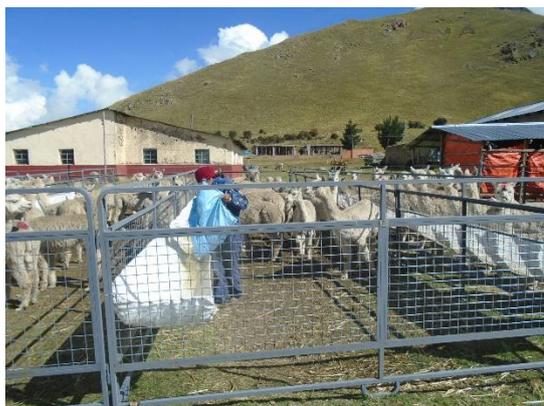


Img. 11 acostumbramiento de alpacas machos en sus respectivos comederos .



Img. 12 acostumbramiento de alpacas Hembras en sus corrales con DS.

**Imágenes del suministro de la dieta suplementada en alpacas machos y hembras durante 45 días**



Img. 13 Suministro de DS 3 Kg a 5 Kg/ corral/ 15 alpacas hembras.



Img. 14 Consumo de la DS en horas de la mañana de 6 a 9 a.m



Img. 15 Suministro de dieta suplementada en machos de 300 a 500 g/alpaca.



Img. 16 Consumo de la DS en horas de la mañana de 6 a 9 a.m.

**Imágenes de evaluación de calidad de semen en alpacas machos y actividad ovárica en alpacas hembras inicio y final a los 45 días del estudio**



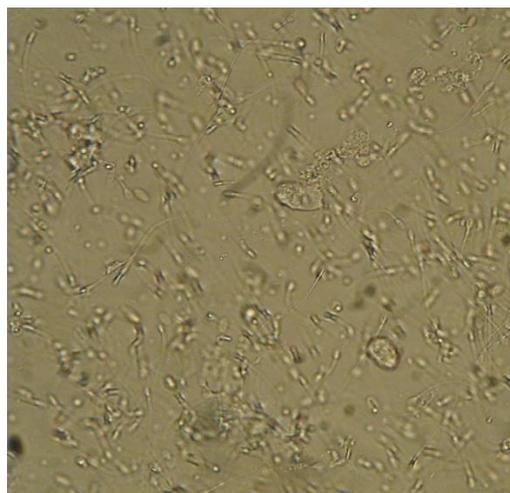
Img. 17 Empadre natural para colección de semen.



Img. 18 Colección de semen mediante un espejo vaginal.



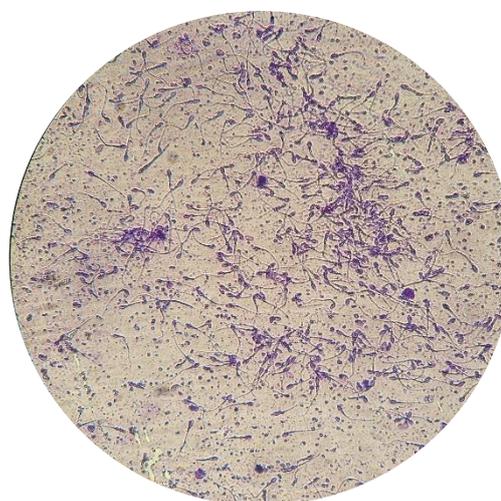
Img. 19 Evolución microscópica de calidad de semen.



Img. 20 motilidad espermática.



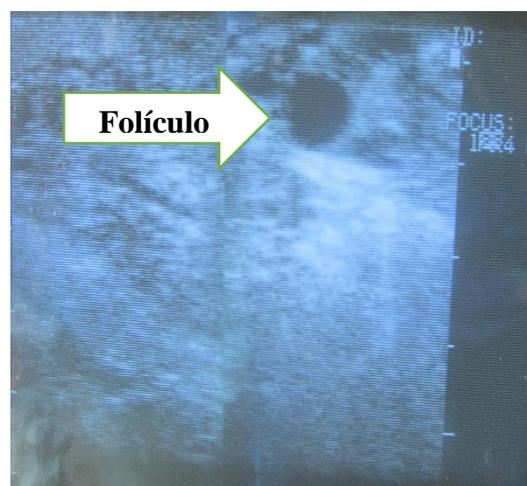
Img. 21 Vitalidad espermática.



Img. 22 Morfología espermática.



Img. 23 Ecografía para determinar Tamaño y número de folículos.



Img. 24 Tamaño de folículo ovárico a la ecografía.

**Imágenes del empadre natural y determinación de fertilidad a los 21 días**



Img. 25 Empadre natural en hebras dieta suplementada.



Img. 26 Empadre natural en hembras en pastoreo natural.



Img. 27 Ecografía del tamaño y número de folículos.



Img. 28 Vesícula embrionaria.

**Imágenes para la determinación de nitrógeno ureico sanguíneo**



Img. 29 Extracción de sangre de la vena yugular de la alpaca.



Img. 30 Conservación de la muestra en caja de tecnopor con hielo.



Img. 31 Centrifugación a 3000 r.p.m., por un tiempo de 15 minutos.



Img. 32 Extracción de suero sanguíneo.



Img. 33 Tubos con muestras



Img. 34 Lectura en espectrofotómetro



Img. 35 Final del proyecto de investigación en C.I.P. la Raya.