



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN  
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

**EVALUACION ESPERMATICA Y FERTILIDAD DE ALPACAS REPRODUCTORES SURI DEL CENTRO EXPERIMENTAL CHUQUIBAMBILLA- UNA PUNO.**

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
Ciencias Biológicas	Desarrollo tecnológico	Ciencia animal

3. Duración del proyecto (meses)

12 MESES (02 de enero al 31 diciembre del 2021)

4. Tipo de proyecto

<u>Individual</u>	<input type="radio"/>
<u>Multidisciplinario</u>	<input checked="" type="radio"/>
<u>Director de tesis pregrado</u>	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

<b>Apellidos y Nombres</b>	Medina Suca, Juan Guido (especialidad: Reproducción Animal)
<b>Escuela Profesional</b>	Medicina Veterinaria y Zootecnia
<b>Celular</b>	958263661
<b>Correo Electrónico</b>	jguido.medina@gmail.com

<b>Apellidos y Nombres</b>	Bautista Pampa, José Luis (especialidad: Nutrición y alimentación)
<b>Escuela Profesional</b>	Medicina Veterinaria y Zootecnia
<b>Celular</b>	969145576
<b>Correo Electrónico</b>	bautistajlp@yahoo.es

- I. **Título** (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

**EVALUACION ESPERMATICA Y FERTILIDAD DE ALPACAS REPRODUCTORES SURI DEL CENTRO EXPERIMENTAL CHUQUIBAMBILLA- UNA PUNO.**



- II. **Resumen del Proyecto** (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

**I. RESUMEN:** El trabajo de investigación se realizará con el objetivo de evaluar las características macroscópicas y microscópicas del semen por edad, tamaño testicular y fertilidad de la totalidad de alpacas reproductores suri del Centro Experimental Chuquibambilla, propiedad de la UNA Puno, trabajo que se realizará entre diciembre del 2020 a setiembre del 2021. Se registrará el peso vivo mediante una balanza; se determinará la edad a través de registros y observación de la cronología dentaria; el tamaño testicular mediante mediciones con el uso de una regla vernier y fertilidad que se determinará después del empadre por el número de hembras gestantes para cada macho. Se obtendrá el semen después de la monta (post cópula) con evaluación en laboratorio de características macroscópicas: volumen, color, pH y aspecto ó viscosidad y características microscópicas como: motilidad, concentración espermática, vitalidad y anomalías. Se utilizará el Diseño Completamente al Azar con igual o diferente número de unidades experimentales por tratamiento ( $\alpha = 0.05$ ).

- III. **Palabras claves** (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Alpaca, peso vivo, testículo, fertilidad, semen.

- IV. **Justificación del proyecto** (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

La crianza de alpacas por su producción de fibra de alta calidad y carne de excelentes cualidades organolépticas, constituye una principal fuente de proteína animal para la alimentación humana y contribuye como un recurso para el sustento económico de las familias alto andinas de nuestra región, además de ser una de las pocas especies animales capaces de vivir en condiciones climáticas adversas de los altos andes donde no es viable la agricultura y la crianza exitosa de otras especies domésticas. (Sumar, J. 1992).

La alpaca a la vez aprovecha los pastos duros y fibrosos de la vegetación nativa de estos ambientes para transformar en fibra de alta calidad, que benefician al hombre constituyéndose como medio de sustento para la gran población que vive en las grandes alturas, finalmente es aprovechado la piel y estiércol siendo utilizado esta última como combustible y abono en la actividad socioeconómica del criador alto andino. (Bustanza, 2001).

Sin embargo, existen factores que afectan a la producción de esta especie, entre los que se puede señalar la baja eficiencia reproductiva como una limitante para el crecimiento poblacional (Andrade, 2007), debido a la fisiología reproductiva especial y diferente a otras especies como tiempo de cópula prolongado estimándose desde 5 hasta 50 minutos, obteniéndose poco volumen de semen desde 0.3 hasta 1.5 ml, por ahí que uno de los criterios de selección para machos reproductores debe ser un buen peso corporal con buen tamaño testicular, tal como sucede en otras especies domésticas, Casas, H., (1982). La producción espermática individual de cada macho está relacionada proporcionalmente al tamaño de los testículos, Aman. R. (1980); Bravo, W. (2003) en un estudio de



reservas espermáticas señala no haber encontrado diferencias en la concentración espermática en los testículos del lado derecho e izquierdo, habiendo encontrado una producción promedio de 92 millones de espermatozoides por ml al momento del empadre. Características de la fisiología reproductiva peculiares que deben ser manejados adecuadamente en crías alpaqueras, orientadas a un mejor uso de machos reproductores que permitan incrementar la producción y productividad a favor del criador alpaquero.

**V. Antecedentes del proyecto** (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

### **5.1. Fisiología reproductiva del macho.**

En cuanto a la fisiología reproductiva, el macho presenta algunas características diferentes al de otras especies, el macho no presenta el centro cíclico referido a la descarga de GnRH del hipotálamo ocurre de forma intermitente durante el día y noche, esta descarga de GnRH tarda algunos minutos y causa la liberación de LH aproximadamente 30 minutos después del impulso de la GnRH, esta hormona actúa sobre las células de Leydig, las que inician su producción de progesterona, gran parte de la cual es transformada en testosterona, la cual tiene vida corta y de secreción pulsátil, durando aproximadamente 20 a 60 minutos (Senger, 2003). El factor de liberación gonadotrópico del hipotálamo (GnRH), alcanza el sistema porta hipotalámico hipofisiario donde estimula la liberación de FSH y LH cuyo órgano es el testículo. La FSH actúa sobre las células de Sertoly y de esta forma promueve la espermatogénesis, en tanto que la LH actúa sobre las células de Leydig estimulando la síntesis de Testosterona, a partir de aquí se establece una retroalimentación negativa testículo – hipófisis – hipotálamo, que el incremento de testosterona reprime la síntesis y liberación de LH a nivel hipofisiario y de GnRH en el hipotálamo, en este último caso la reducción de la liberación de GnRH además determina una retroalimentación negativa sobre la FSH. Por otro lado, la FSH además se encuentra bajo otro mecanismo de retroalimentación negativa, a partir de la acción de las inhibinas sintetizadas en las propias células de Sertoly. En algunos casos se plantea que la Prolactina (PRL), tiene una acción sinérgica con la LH para la producción de Testosterona (Hafez, 2000).

### **5.2. Colección de semen en alpacas.**

La colección de semen depende de una buena y constante producción espermática para que la calidad del semen sea buena. Las técnicas de colección en otros animales domésticos es un procedimiento de rutina, pero en camélidos, por las características reproductivas, anatómicas y fisiológicas es bastante difícil y no existe un protocolo recomendado y técnica óptima, (Pacheco, 2008).

Los trabajos de colección de semen en camélidos (CSA), se hicieron con el uso de fundas vaginales (Mogrovejo, 1952), actualmente se emplea la vagina artificial con un cérvix simulada y dentro de un maniquí en posición copulatoria (Sumar y Leyva, 1981), técnicas que requieren entrenamiento de machos. (Bravo et al., 2012) recomienda el método por Aspiración Vaginal consiste en coleccionar semen post cópula, aplicando un espejo vaginal que consta de un proctoscopio, se introduce cuidadosamente a la vagina a temperatura corporal y a través del espejo (proctoscopio), refluye el contenido o secreción vaginal hacia el exterior lo cual es coleccionado en un tubo de falcón de 15 ml, a temperatura corporal para su evaluación de semen

El semen obtenido por aspiración vaginal, hizo que la muestra sea más manejable en términos de evaluación y adición de dilutor por lo que no requiere adicionar enzimas como la colagenasa entre otras, permitiendo un ahorro de tiempo en la evaluación del semen y proceder a la dilución luego de la determinación de la concentración espermática (Bravo et al., 2000)

Las características seminales del semen colectado por el método de aspiración vaginal fueron mejores a aquellas del semen colectado con vagina artificial respecto a motilidad, el mayor porcentaje de espermatozoides vivos y menor porcentaje de espermatozoides muertos hace nuevamente esta técnica más atractiva, el mejor porcentaje de preñez 55% con semen colectado por aspiración vaginal es promisorio y necesita ser validado en condiciones de campo, especialmente a nivel de comunidades alpaqueras donde los propietarios desean utilizar el semen de sus machos, la tasa de preñez fue similar a otros reportes con semen obtenido con vagina artificial en alpacas (Bravo et al 1997a, 2008; Apaza et al., 2001; Ponce, 2003).

### **5.3 Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas.**

#### **5.3.1. Características macroscópicas del semen.**

Se evalúan considerando parámetros, entre estos: volumen, color, aspecto y pH, los que dependerán de la forma de colección y de su manipulación, así como de las características fisiológicas reproductivas de cada animal (Pacheco, 2011).

##### **5.3.1.1 Volumen**

Varía con la metodología de colección influenciado por factores intrínsecos y medio ambientales, los valores de volumen del eyaculado son bastante variable en alpacas, se tiene reportado desde 0.4 a 12.5 ml. (Bravo, 2002; Sumar, 2000), por el método de Aspiración Vaginal se reporta valores de  $3.6 \pm 1.3$  ml. (Alarcón et al., 2012).

mediante vagina artificial con el método de maniquí de grupa en llamas a los 3 años de edad fue de  $3.74 \pm 0.39$  ml. a los 6 años se obtuvo  $3.43 \pm 0.49$  ml. obteniendo un promedio  $3.58 \pm 0.84$  ml. (Pérez-pe et al., 2000).

El factor más importante en la variación del volumen de semen es la frecuencia de colección, pues el volumen disminuye a medida que se incrementa el uso del macho, las últimas eyaculaciones tienen menos volumen y esta disminución se presenta notoriamente después de la tercera eyaculación continua (Quispe, 1987; Tibary y Vaughan, 2006).

##### **5.3.1.2. Color**

En la mayoría de las especies el semen tiene una coloración blanquecina y su opacidad se halla en función de la concentración espermática (Derivaux, 1982).

El semen de alpaca presenta un color que varía desde el blanco lechoso hasta el blanco cristalino, siendo muy variable de acuerdo al método de colección a la concentración espermática y a la frecuencia de colección (Bravo, 2002; Sumar, 2000). El color predominante del semen durante la época reproductiva es el blanco opaco, presente en el 76.9% de las observaciones, también de color blanco 5.1%; blanco amarillento 5.1% y blanco traslucido 12.8%, se observa que a medida que avanzan los días seguidos de colección, el color fue variando de blanco opaco al blanco traslucido evidenciando que la concentración espermática estaría relacionado al color del semen en alpacas (Urquieta et al., 2005; Flores et al., 2002) reportan el 84.2% de las muestras de semen obtenido por vagina artificial de un color blanco opaco seguido de blanco 10.5% y blanco amarillento 5.3%. el semen de llama colectado por vagina artificial se observó que el 69% de muestras

fueron blanco cristalino, 29% blanco grisáceo y 2% blanco lechoso, encontrándose relación a la concentración espermática (Fernández et al., 2003). El semen colectado por aspiración vaginal (post cópula) es de poca viscosidad y de color rojo claro lo que se debe a la presencia de fluidos uterinos y de sangre de la hembra, en este sentido el semen colectado se podría catalogar como hemático, la colección por este método de aspiración vaginal hay presencia de sangre en la muestra de semen, se debe entender que es parte de la fisiología normal de alpacas y llamas, la sangre se debe al daño ocasionado por el proceso peneano del macho en el endometrio uterino así presenta coloraciones; rojo claro, rojo oscuro, morado (Vélez, 1997).  
Color de semen obtenido por Aspiración Vaginal en alpacas; rojo claro 80%; rojo oscuro 10%; blanco lechoso 5%; blanco cristalino 5%. (Alarcón

### 5.3.1.3 Aspecto (viscosidad o filancia)

El aspecto del semen de camélidos sudamericanos (CSA), alpaca y llama es de carácter gelatinoso y viscoso, particularidad que dificulta la dilución con diluyentes comunes utilizados para otras especies (Sumar Y Leiva, 1981; Sumar, 2003; Bravo et al., 1992; Pérez Y Quispe, 1994).

El semen de alpacas es altamente viscoso, siendo muy difícil separar los espermatozoides del plasma seminal por centrifugación, así como la estimación de la concentración espermática por medios convencionales, además que esta viscosidad confiere al espermatozoide un movimiento lento diferente a lo observado en otras especies domésticas, por estar aprisionado por el gel del plasma seminal (Sumar, 1985).

En un estudio realizado en semen de llamas, se describen al semen como un fluido no newtoniano pseudoplástico desde el punto de vista de la física, concluyendo que la viscosidad del eyaculado de llama no está influida por la concentración espermática ni por el volumen del eyaculado, por lo que la medición de la viscosidad del semen mediante el uso de un viscosímetro es esencial y por lo tanto los reportes de viscosidad mediante la capacidad de producir hilo (Filancia) no estaría adecuado para este tipo de fluido (Caseretto et al., 2008), esta viscosidad es atribuida a la presencia de mucopolisacáridos de secreciones de las glándulas bulbouretrales o de la próstata (Garnica et al., 1993), en llamas se describe que la fracción viscosa del semen tendría su origen en las secreciones de las glándulas bulbouretrales (Vino et al., 2003), eyaculados de llamas obtenidos por vagina artificial presentaron 21% de viscosidad alta, 35% de viscosidad media y 44% de viscosidad baja (Fernández et al., 2003).

Mediante el método de Aspiración Vaginal, fue de poca viscosidad y de un color rojo claro, lo que se debió a la presencia de fluidos uterinos y de sangre de la hembra; mostrando una consistencia viscosa 10% y poco viscosa 90%, en comparación con Vagina Artificial viscosa 90% y poco viscosa 10% (Alarcón, 2012).

### 5.3.1.4. pH.

El pH. es la concentración de iones hidrogeno, se expresa por medio de un número que va desde el 4 al 14, un pH con valor de 7 indica que están presentes igual número de iones hidrogeno o iones hidroxilo, un pH inferior a 7 indican que existen más iones hidrogeno (acidez) y un pH superior a 7 indica que existen menos iones hidrogeno (alcalinidad) (Murray et al., 2001), en camélidos la colección de espermatozoides del conducto deferente sin la presencia de plasma seminal dio un pH de 6.5 por su alta concentración espermática (80 – 120 millones en 0.02 ml) lo cual indicaría que en su composición el plasma seminal contiene sustancias amortiguadoras (Deza, 2004).



Aunque con mucha antigüedad sin embargo es valioso el aporte de Mogrovejo (1952), empleándose un potenciómetro Beckman indica un promedio de 8.32 con rango de 7.15 a la neutralidad, con ligera tendencia a la alcalinidad con un promedio de 7.5 (7.0 – 8.8) (Fernández-Baca Y Calderón, 1966).

### **5.3.2. Características microscópicas del semen**

#### **5.3.2.1. Concentración**

La concentración expresa el número de espermatozoides por milímetro cúbico, este valor tiene gran importancia y es necesario conocerlo para juzgar la calidad de un esperma (Derivaux, 1982). La concentración es un indicador muy importante, pues de ella depende la relación de dilución (Evans Y Maxwell, 1990).

Las amplias variaciones de la concentración de espermatozoides se debería el método de colección principalmente, así mismo entre otros factores como frecuencia de eyaculado, edad del animal, tamaño de los testículos, número de eyaculados en el día de colección, así como sucede en otras especies domésticas (Waltón, 1984).

La determinación de la concentración del semen de llamas y alpacas se hace un poco difícil debido a la viscosidad del plasma seminal de esta especie, por lo que no facilita la expansión del semen en el hemocitómetro así mismo, en la coloración y extensión del semen en la lámina portaobjetos, sin embargo, una modificación a la técnica del hemocitómetro es realizada diluyendo previamente el semen en solución salina en 1:100; 1:50; 1:200 y tomando 10 µl. de semen diluido para cargar la cámara de Neubauer o hemocitómetro, luego se realizan las lecturas de manera similar que el semen de otras especies, este método es utilizado por todos los investigadores de semen en alpacas por lo que los datos reportados en concentración espermática en alpacas fueron obtenidos con esta técnica (Bravo, 2002).

Concentración de espermatozoides en llamas obtenidos por Vagina Artificial reportan un promedio de: 1.48 Esp. X 10<sup>6</sup> /ml. (Giuliano et al., 2014).

La concentración de espermatozoides obtenidos por el método de Aspiración Vaginal en alpacas reporto 75.3 ± 20.3 X10<sup>6</sup>/ml (Alarcón et al., 2012).

La concentración espermática promedio para llamas de 3, 4 y 5 años de edad es de 46 562,500 Esp/ml (Fernández, 2001).

#### **5.3.2.2. Motilidad**

Estudios realizados por Sumar y Leyva (1981), reportan que no existe la “motilidad masal” por la baja concentración relativa de espermatozoides y por una motilidad progresiva individual poco vigorosa, por lo que el movimiento de los espermatozoides es lento.

Los diferentes autores indican una calificación de pobre a regular así la más alta se estima en “grado 3” dentro de una escala subjetiva de 1 a 5, resumiéndose que la motilidad de los espermatozoides de la alpaca y llama es individual o progresiva lenta lineal y rotatoria (Quispe, 1987). La motilidad parámetro importante en la evaluación del semen de animales domésticos, así para el caso de la alpaca también se adecua a la cuantificación de acuerdo a la siguiente escala:

0 = Sin movimiento.

1 = Ligera ondulación con vibración de la cola sin progresión

2 = Progresión lenta incluyendo detención y comienzo de movimiento

3 = Movimiento progresivo continuo y moderada velocidad

4 = Movimiento progresivo rápido





5= Movimiento progresivo muy rápido en el cual son difíciles de seguir visualizando (Pérez y Quispe 1994).

La motilidad total o masal en camélidos no está presente como en el caso de los carneros, en camélidos es mejor referirse como motilidad individual y oscilatoria, con movimiento lento que en parte es debido a la viscosidad del semen (Bravo, 1995), la motilidad lograda a través de la desviación del conducto deferente fue 64.81% a 67.36% (Quintano, 2002), se reportó 71.89% de motilidad individual con la técnica de desviación de conducto deferente (Deza, 2004).

La motilidad del espermatozoide en medio de la masa gelatinosa y viscosa es oscilatoria con típicos movimientos individuales con una cuantificación de 85%, con variaciones que van desde 69-91% (Bravo et al., 1997).

Los espermatozoides de camélidos exhiben motilidad individual por la contracción del flagelo en el mismo lugar de manera oscilatoria, la evaluación de la motilidad se realiza inmediatamente a la colección y sobre una platina atemperada realizándose el conteo de los espermatozoides con movimiento en un campo y expresándole en porcentaje (Bravo, 2002).

La motilidad individual es muy baja en semen no diluido, es descrita como oscilatoria y solo un 5-10% de los espermatozoides motiles tienen movimiento de avance lineal, siendo necesario licuefactar el semen para observar mejor la motilidad, pues es muy dificultoso observar en semen entero por su naturaleza viscosa (Tibary Y Vaughan, 2006).

Usando dos llamas se obtuvo una motilidad de 75 a 95% en llamas con semen diluido con yema de huevo 20%, el movimiento fue de tipo oscilatorio inicialmente, antes de someter a congelación la motilidad fue hacia delante (Bravo, et al., 1997).

#### **5.3.2.3. Vitalidad**

Es el parámetro que evalúa a los espermatozoides si están vivos o muertos, el porcentaje de espermatozoides vivos se puede determinar por varios métodos, siendo la coloración eosina los espermatozoides vivos tienen su membrana intacta que impide la penetración del colorante, en tanto que los muertos adquieren la coloración rosada, el resultado se expresa en porcentaje (Toro Montoya, 2009).

Las tinciones permiten diferenciar los espermatozoides vivos de los muertos así en lo referente a colorantes la cabeza tiene la particularidad de dejar pasar los colorantes por perturbación de la membrana cefálica, mientras que los vivos no (Lubos, 1983).

Para la determinación del porcentaje de espermatozoides vivos o muertos se requiere de la utilización de coloraciones supravitales, el colorante más utilizado es el Hancock (eosina/nigrosina), que permite visualizar los espermatozoides vivos de un color blanco brillante y los muertos de un color rosado, todos sobre una superficie oscura (Bravo, 2002; Aller et al., 2003).

#### **5.3.2.4. Anormalidades espermáticas (Morfología)**

Estudios realizados indican un 11.65% de anormalidades, siendo las más frecuentes en orden decreciente; cabezas solas, colas torcidas, colas enroladas, colas quebradas, cabezas alargadas, micro cabezas, gota citoplasmática (Sumar, 2003), señala haber encontrado un 13.9% reportes corroborados por (Merlian et al., 1982).

Quintano (2002), indica para semen obtenido por desviación de conducto deferente un 25.98% de espermatozoides anormales de los cuales 15.76% corresponden a anormalidades primarias y un 10.22% a anormalidades secundarias, posteriormente Deza (2004), en semen obtenido por el mismo método de desviación de conducto deferente un 61.72% de espermatozoides fueron normales, el resto 7.03% de anormalidades primarias y 31.25% de anormalidades secundarias finalmente, Quintanilla (2009), junto a los dos autores anteriores también para semen obtenido



por conducto deferente indica un  $0.47\% \pm 0.09\%$  de anomalías primarias y  $7.26 \pm 4.58\%$  de anomalías secundarias.

La proporción de espermatozoides normales se encuentra entre 60 y 90%, observándose alto porcentaje de espermatozoides anormales en relación a otras especies, siendo entre todas la más importante las anomalías en la cabeza, seguida por gota citoplasmática y luego problemas de cola (Bravo, 2002), el porcentaje de espermatozoides anormales es de 23.6%, este porcentaje se ve aumentado de acuerdo al incremento de la frecuencia de colección, siendo las anomalías en la cola la que más se incrementa (Bravo, et al., 1997). En llamas se describe una alta variabilidad que va desde 20.9 hasta 96.1% de espermatozoides de anormales en eyaculados de varios machos evaluados y colectados por vagina artificial durante (Lichtenwainer et al., 1996). Otros reportes hechos en semen de alpacas colectados por vagina artificial durante la época reproductiva indica que las anomalías se encuentran en un 49% y la anomalía más frecuente son los problemas de pieza intermedia seguido por problemas de la cabeza luego en la cola, se indica que las cabezas solas no se consideran como anomalías pues se deben a un manejo brusco del semen y no se cuenta como anomalías (Flores et al., 2002).

Estudios sobre la morfometría de espermatozoides de llama y guanaco indican una gran variabilidad entre e intra individuos, similar a los reportes en alpacas sugiriendo que existe un polimorfismo natural en las cabezas espermáticas de camélidos sudamericanos, siendo esta una evidencia aun no concluyente indica que una mejora y un ajuste en la forma tradicional de evaluación de camélidos es urgente (Casaretto et al., 2008;).

#### **5.4. Peso vivo.**

Calderón y Fernández (1980) en trabajo realizado en el Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, con 130 alpacas de saca determinaron un peso promedio de 58.3 kg.

Fernández Baca (1980). Indica para alpacas huacaya que las crías nacen con 6 a 10 kg, de peso vivo, llegando al destete de 20 a 38 kg. Al año de edad alcanzan hasta 40 kg, a los 2 años de edad 50 kg y animales adultos mayores a 3 años alcanzan pesos que varían entre 62 hasta 87 kg con un promedio de 69.8 kg.

#### **5.5. Tamaño testicular.**

Los testículos de la alpaca están localizados en un escroto no pendulado es decir sin cuello definido, formando una protuberancia subanal similar a los cerdos; el escroto que protege y soporta a los testículos regulando la temperatura interna de los mismos mediante la contracción y relajación de los músculos dartos y cremáster. Los testículos están recubiertos por dos capas serosas, la túnica vaginalis y otra capa de tejido conectivo denso e irregular que constituye la túnica albugínea. (Sumar, J. 1983).

Uno de los criterios para la selección de alpacas reproductores debe ser el buen tamaño testicular, tal como sucede en otras especies domésticas, Casas H. (1992), Así Johnson, LR.W. (1989) para 17 llamas de 3.5 años de edad indica un peso vivo promedio de 24.0 gramos con dimensiones de 5.0 a 7.0 cm de largo y 2.5 a 3.5 cm de ancho.

La producción individual espermática individual de cada macho está relacionado proporcionalmente al tamaño de los testículos, así un solo testículo del toro con un peso de 350 gr, producirá aproximadamente 5,250 millones de espermatozoides diariamente, Aman R.P. (1980) mientras que la alpaca asumiendo la misma tasa diaria de producción de espermatozoides por gramo de testículo que en el toro, producirá solamente 270 millones de espermatozoides diarios, aspecto que se debe considerar al programarse la selección de los





machos. Bravo, W. (2003) en un estudio de reservas espermáticas señala no haber encontrado diferencias en la concentración espermática en los testículos del lado derecho e izquierdo, habiendo encontrado una producción promedio de 92 millones de espermatozoides por ml al momento del empadre.

El tamaño testicular así como sus dimensiones en alpacas machos adultos, aumentan cada vez con la edad, alcanzando sus valores máximos a los 5 años de edad, alcanzando sus valores máximos a los 5 años de edad, con promedios de  $3.98 \pm 0.40$  cm de largo con valores que varían entre 3,3 a 4,8 cm, y un ancho de  $2.59 \pm 0.31$  cm con variaciones desde 1.9 a 3,2 cm. En animales jóvenes son de tamaño pequeño y consistencia flácidos, así al año de nacimiento o poco después (tuis) tienen un tamaño de 0.5 cm, así también a la misma edad los testículos ya debe encontrarse en la bolsa escrotal y cuando se realiza la primera selección para reproducción ambos testículos se encuentra en la bolsa escrotal de un tamaño promedio de 1.5 de largo por 0.40 cm de ancho Sumar, J, (1983), el mismo autor indica para alpacas pre-puberes es frecuente observar que uno de los testículos descienden primero que en el otro a la bolsa escrotal con ligeras diferencias en el tamaño de estos, diferencias que desaparecen al llegar a la madures sexual aproximadamente a los 3 años de edad

Bravo W. et al (1992) indican que los testículos aumentan paulatinamente de tamaño hasta los 30 meses de edad, existiendo una relación positiva entre la edad y tamaño testicular ( $R = 0.88$ )

Resultados de estudios realizados por Cardozo A. (1984), reporta que los testículos son relativamente pequeños, miden entre 4.0 a 5.0 cm, en el animal adulto con variaciones individuales, son de forma oval y aplanados lateralmente con inserción al epidídimo en su extremidad posterior. Alanoca, F. (1978) indica que los testículos se encuentran localizados en el tercio antero inferior de la región perineal a 10 cm, debajo del ano, sujetos por escroto y el cordón espermático, de consistencia turgente y elástico de forma ovoide con 2 caras, 2 extremidades y 2 bordes con la ubicación de testículos derecho e izquierdo que no siempre están a la misma altura con un descenso ligeramente mayor del testículo derecho, Fuentes, E. (1983).

El desarrollo de los testículos es creciente hasta los 3 años de edad, seguido de una estandarización cuyos resultados por edad para el largo testicular de 3.04, 4.65, 5.35, 5.25, 5.44 cm, y un grosor de 1.07, 1.58, 2.19, 2.06 y 2.20 cm, para 1, 2, 3, 4 y 5 años de edad respectivamente. Alanoca, F. (1978) con la localización del testículo que varía según la edad, ya que, en la migración testicular, tienden a deslizarse hasta la zona posterior, así en crías aún permanecen en la región inguinal, aproximadamente hasta el año de edad cuando alcanzan su ubicación en la región perineal, Obando, A. (1992).

Estudios señalan algunas anomalías testiculares para alpaca entre estos el caso de Hipoplasia testicular o denominados como testículos pequeños, anomalía más frecuente (3.33%) seguido de quistes (1.96) ubicados principalmente a nivel de la cabeza del epidídimo y demás alteraciones en menor cuantía como ectopias testiculares (0.8%) que son localizaciones del testículo fuera de su ubicación normal y finalmente la anomalía de criptorquidismo (0.5% con ausencia de uno de los testículos, Panuera, M.A. (1989).

## 5.6. FERTILIDAD.

La estimación de la fertilidad se hace en base a los animales empadrados o inseminados y los animales fecundados, datos que se puede expresar porcentualmente. La fertilidad de un hato se evalúa en términos de porcentajes de hembras preñadas y el tamaño de las camadas. Estos parámetros aumentan durante algunos años después de la pubertad, alcanzando un máximo y luego disminuye lentamente, (Hafez, 2005). Estudios hechos en alpacas por (Bravo et al., 1996) han demostrado que luego de la cópula, los espermatozoides permanecen en los cuernos



uterinos las primeras 12 horas; luego, más del 90% avanza hacia los oviductos, específicamente a la unión útero-tubal y el istmo, siendo la concentración máxima a las 18 horas. Los mismos autores describieron el desarrollo del embrión después de la fecundación en alpacas, observando que el día 4 pos monta el óvulo fecundado aparece en estadio de mórula con 4-8 blastómeros en el oviducto, al día 7 aparece como una mórula compacta todavía en el oviducto y al día 10 el embrión ya se encuentra en el cuerno uterino y de mayor tamaño.

## VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)

En alpacas machos reproductores suri, se logrará obtener una mejor calidad de semen, consecuentemente una mayor fertilidad en animales con buen peso vivo y buen tamaño testicular.

## VII. Objetivo general

Evaluar la calidad de semen y fertilidad de alpacas reproductores suri del Centro Experimental Chuquibambilla UNA Puno.

## VIII. Objetivos específicos

- a) Evaluar la calidad de semen en relación a peso vivo y tamaño testicular.
- b) Evaluar la fertilidad de alpacas machos reproductores suri.

## IX. Metodología de investigación (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

**9.1. lugar de estudio.** El presente trabajo de investigación se realizará en el Centro Experimental “Chuquibambilla” UNA- Puno, ubicado en el distrito de Santa Rosa provincia de Melgar - Puno, a una altitud de 4100m (zona baja) y 5400 m (zona alta) con una superficie de 5.905,87 hectáreas, próximo a las coordenadas 14° 30' 33" de longitud sur y 70° 57' 12" de longitud oeste encontrándose en el kilómetro 205 de la carretera Puno – Cusco. La temperatura anual promedio es de 6.20 °C. (- 4. 0 °C mínimo y 9.5 °C máximo) y una precipitación pluvial de 525.7 mm (SENAMI 2020).

**9.2. Alpacas reproductores suri.** Por la característica del trabajo, se utilizará el 100% de reproductores suri del Centro Experimental Chuquibambilla, debiendo agruparse por edades, identificados mediante aretes metálicos, complementado con aretes de plástico. de diferentes colores.

**9.3. Sanidad.** Se evaluará desde el punto de vista sanitario para detectar la presencia de ectoparásitos (Sarna, piojera, garrapato) así mismo se realizará un examen coproparasitológico para evaluar la presencia de endoparásitos con el fin de realizar los tratamientos necesarios.

**9.4. Alimentación de los animales.** Se adecuará sobre pasturas naturales en forma extensiva, siendo un manejo ganadero de rutina del Centro Experimental. Chuquibambilla.

### 9.5. METODOLOGIA

**9.5.1. Colección de Semen.** Se realizará mediante la técnica de “Aspiración Vaginal post Copula”, (Bravo, 2012), en el cual previa limpieza de la vulva se colocará el proctoscopio a temperatura de 37 °C, luego mediante movimientos suaves y rotatorios en el tracto genital de la hembra, seguidamente con ayuda de dos personas se levantará la parte anterior del cuerpo, de tal manera que quede la hembra en posición declive, para facilitar el descenso del semen por gravedad, recibiendo en tubos falcon debidamente atemperado, luego será trasladado hasta el laboratorio.



**9.5.2. EVALUACIÓN MACROSCÓPICA DEL SEMEN**

**9.5.2.1. Volumen.** Una vez colectado el semen, será decepcionado en un tubo colector graduado y se dará lectura directa del volumen obtenido.

**9.5.2.2. Color.** Se realizará bajo una apreciación visual directa al tubo falcón transparente.

**9.5.2.3. Aspecto.** Se determinará mediante la utilización de una micropipeta, aspirando el semen para observar la extensión del alargamiento viscoso, confirmando al colocar semen en la lámina portaobjetos para observar por segunda oportunidad la dimensión de alargamiento del semen a manera de hilo denominado como "filancia".

**9.5.2.4. pH.** Esta determinación se realizará inmediato a la colección, colocando la parte sensible del pH peachimétero digital por el tiempo necesario hasta su estabilización de la lectura.

**9.6. EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DEL SEMEN.**

**9.6.1. Concentración.** Se realizará mediante el método del hemocitómetro "Neubauer" de la siguiente manera;

**a)** Con ayuda de una micropipeta milimetrada , se aspirará una muestra de semen desde el tubo colector mantenida en baño maría en seco a una temperatura de 37°C, el volumen de semen será vertida a un tubo de ensayo con contenido de 100 µl. de NaCl. al 5%, como espermicida de manera que facilite el conteo en la cámara neubauer.

**b)** Se homogenizará el tubo (semen y dilución), con movimiento rotatorio circular seguidamente se aspirará utilizando micropipeta de 20 µl, para diluir y seguidamente colocar en la cámara Neubauer, de tal manera que la muestra ingrese por capilaridad a ambos lados de la cámara, se dejará en reposo de 4 a 5 min. con la finalidad de que se fijen las células espermáticas en la cámara.

**c)** Se localizará el área de conteo de la cámara en un microscopio a un aumento de 10X, luego a 40X para el conteo de espermatozoides en 5 cuadrados (cuatro extremos y uno del centro), de ambos lados de la cámara neubauer.

**d)** Una vez obtenido el conteo de espermatozoides, el número promedio contado por mm<sup>3</sup> se multiplicará: Nº de Esp. X 50 X 100 X 1000 = Número de Espermatozoides por mililitro.

**9.6.2. Vitalidad.** Se determinará mediante la técnica de coloración supra vital, tinción

Eosina Nigrosina, (Eosina al 1%, Nigrosina al 5%) con procedimiento siguiente:

**a)** Se colocará una lámina portaobjetos sobre una platina térmica a 37°C, con la finalidad de atemperarlo.

**b)** Se pipeteará del tubo colector falcón 30 µl. de semen y lo aspirado se verterá sobre una lámina portaobjetos, luego colocar a su lado 20 µl. de colorante eosina nigrosina a 37°C, seguidamente se mezclará homogenizando el semen con el colorante dejando en una platina térmica unos 20 segundos, con la finalidad del teñido de las células espermáticas.

**c)** Se realizará un frotis con otra lámina portaobjetos, extendiendo la mezcla sobre la lámina de un extremo a otro y se procederá al secado del frotis sobre una platina atemperada a 37°C.

**d)** La evaluación de la vitalidad espermática se realizará con la ayuda de un microscopio a 40X, para el conteo de 100 células espermáticas en diferentes campos del frotis.

**e)** Se considerará espermatozoides vivos a aquellos que presenten coloración blanco grisáceo y espermatozoides muertos los teñidos de color rosado.

**f)** Los resultados se expresarán en porcentajes según la siguiente ecuación:

$$\text{Vitalidad \%} = \frac{\text{Nº de Espermatozoides sin tinción}}{\text{Nº total de espermatozoides observados}} \times 100$$

**9.6.3. Morfología** (anormalidades espermáticas). Para anormalidades se procederá de la siguiente forma:

**a)** Con utilización de una micropipeta se absorberá 30 µl de semen puro del tubo colectado, para luego extenderlo en una lámina portaobjetos mediante frotis en un área adecuado, se dejará secar por 3 minutos, en seguida colorear con tinción Dip Kuig, para ello sumergir en alcohol fijador por 1 minuto luego se retirará y dejará secar a medio ambiente durante 3 minutos.

**b)** Se sumergirá la lámina con frotis en eosina por 1 minuto en seguida retirar dejando escurrir el colorante por unos segundos, luego se procederá a enjuagar el revés de la lámina con agua, dejando a intemperie para su secado por 10 minutos, el mismo procedimiento se



realizará con la misma lámina sumergiendo en azul de metileno.

c) Finalmente se procederá a evaluar las láminas en microscopio a 100X para observar porcentajes de anomalías espermáticas, mediante la fórmula:

$$\text{Morfología \%} = \frac{\text{Nº de espermatozoides anormales}}{\text{Nº de espermatozoides observados}} \times 100$$

**9.7. Peso vivo.** Se tomará con utilización de una balanza con el animal debidamente identificado, actividad que se realizará a la mitad de la campaña de empadre.

**9.8. Medidas testiculares.** Se utilizará una regla vernier (calíper) para realizar las mediciones tanto del derecho como izquierdo en sus medidas de diámetro mayor y diámetro menor.

**9.9 Fertilidad.** Para esta actividad será importante identificar tanto machos y hembras con seguimiento a diario de los empadres, de tal manera que, al finalizar la campaña, se tendrá el número de hembras gestantes correspondientes a cada macho reproductor verificado mediante ecografía, complementado por la conducta de aceptación al macho.

**9.7. ANALISIS ESTADISTICO.** Se utilizará el Diseño Completamente al Azar, con igual o diferente número de unidades experimentales por tratamiento ( $\alpha = 0.05$ ).

$$X_{ij} = U + T_i + E_{ij}$$

Donde:

U = Promedio

T<sub>i</sub> = Tratamiento edad animal (3 a 7 años de edad)

E<sub>ij</sub> = Error experimental.

#### X. Referencias. (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

Alarcón V, García W, Y Bravo W. 2012. Inseminación Artificial de alpacas con semen colectado por Aspiración Vaginal y Vagina Artificial. Rev Inv Vet Perú 2012; 23(1): 58 – 64.

Bravo PW, Alarcón V, Y Ordoñez C. 2008. Experiences in artificial insemination of llamas and alpacas. ICAR 2008 Satellite Meeting on Camelid Reproduction. Budapest, Hungary: ICAR. P 23 – 27.

Bustinza, V. 1986. Los camélidos sudamericanos domésticos y el desarrollo andino IIDSA UNA PUNO.

Bautista, J.; Medina, G. Y Mamani, G. 1997. Selectividad y degradabilidad in situ de pastizales nativos en alpacas y Llamas al pastoreo en puna húmeda. ALLPAKA, Revista de Investigación sobre Camélidos Sudamericanos IIPC – FMVZ – PUNO.

Casareto, C.; Giuliano, S.; Carretero, I.; Lombardo, D. Y Miragaya, M. 2008. valuación del eyaculado de Lama glama; morfometría de cabezas del espermatozoide. Resultados preliminares Invet. 8 (1) 152.

Fernández Baca. Y Calderón, W. 1966. Método de colección de semen de la alpaca Rev. Fac. Med. Vet. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vol 18 – 20.

Lechtenwalner, A. B.; Woods, G. L. and Weber, J.A. 1996. Theriogenology,

Losno, W. Y Coyotupa, J. 1983. Niveles de Testosterona sérica post coito en alpacas adultas. Resum Proyecto realizadas por la UNMSM Periodo 1975 – 1979. Lima,

Medina, G. 2011. Calidad de Semen por edad Fisiológica de la Alpaca. Tesis POST GRADO UNA – PUNO.



- Pérez, G. Y Quispe, F. 1994. Dilución y conservación del semen de alpacas Dirección de investigación UNA – PUNO.
- Pacheco, J. 2008. Revisión de Métodos de colección de semen en camélidos sudamericanos Maestría en Ganadería Andina. Reproducción Animal EPG. – UNA – PUNO. REDVET. Vol IX, N° 4 Lima Perú. P. 1 – 17.
- Quispe, F. 1987. Evaluación de las características físicas del semen de alpaca durante la época de empadre, Tesis FMVZ – UNA – PUNO PERÚ.
- Quintanilla, R. 2009. Efecto del empajillado y método de colección sobre la sobre la sobrevivencia de los espermatozoides del conducto deferente de alpacas. Tesis FMVZ. UNA – PUNO.
- Sumar, J. 1992. Fisiología de la Reproducción del macho y manejo reproductivo, Seminario de postgrado. Reproducción e Inseminación Artificial en Camélidos Sudamericanos, INIA FMVZ- UNA – PUNO.
- Sato, A. Y Montoya, C. 1990. Aparato Reprodutor de la Alpaca (lama pacos) Anatomía Macroscópica, Revista de Camélidos Sudamericanos, N° 07 IVITA- CICCOS, UNMSM, Lima – Perú.
- Valenzuela, M.; Rippes, F. Y Nuñez, H. 2012. Estudio Morfológico de testículo de híbridos de alpaca (lama pacos), y llama (lama glama), Int. J. Morphol. 30(3): 1187-1196, 2012.

**XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto** (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

Los resultados contribuirán en la mejor utilización de alpacas machos reproductores suri en el CE. Chuquibambilla, como centro de producción de reproductores y difundir hacia productores alpaqueros de la región y del país con una mayor producción y productividad de esta especie.

**XII. Impactos esperados**

**i. Impactos en Ciencia y Tecnología**

Contribuirá en el desarrollo de la ciencia y tecnología reproductiva de alpacas con la generación de conocimientos, bajo el entendido que en esta especie la fisiología reproductiva es completamente diferente. b) Impactos Sociales. Un manejo adecuado de machos comprobados, implica mayor número de crías nacidas, lo que se traduce en mayores ingresos económicos para el criador de esta especie.

**ii. Impactos económicos**

Los resultados del estudio encaminan hacia una crianza orientada de alpacas, con generación de mayor población animal que permite una selección ajustada y lo más importante un mayor porcentaje de saca al mercado lo que significa mayores ingresos económicos para el criador.

**iii. Impactos sociales**

Un manejo adecuado de machos comprobados, implica mayor número de crías nacidas, lo que se traduce en mayores ingresos económicos para el criador de esta especie.



#### iv. Impactos ambientales

Los resultados de la investigación no tendrán ningún efecto negativo ambiental, ya que al conservar los mejores animales se tendrá en cuenta una implementación adecuada con el cuidado necesario de la vegetación para el pastoreo

#### XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

- Infraestructura: campos de pastoreo, corrales de aparto,
- Animales: alpacas reproductores suri.
- Personal: 05 ayudantes.
- Equipos: Microscopio, proctoscopio, baño maría, y otros.,
- Reactivos: Xilol, Eosina nigrosina, Solución PBS, Hematoxilina, Orceina, colorante Vanguieson, Bálsamo de Canadá, Eosina y otros.

#### XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)

El trabajo de investigación se realizará en el Centro Experimental "Chuquibambilla" dependencia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado a 4237 metros de altitud y temperatura fluctuante de - 4 °C a 9.5° C y una precipitación pluvial de 525.7 mm (SENAMHI 2018), ubicado en el distrito de Santa Rosa – provincia de Melgar y departamento de Puno.

#### XV. Cronograma de actividades

Actividad	2021											
	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Presentación y aprobación del proyecto	x	x	x									
Colección de muestras de semen		x	x	x								
Análisis en laboratorio		x	x	x	x							
Interpretación de resultados						x	x	x				
Presentación del informe											x	x

#### XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
Viáticos	Personas	500	04	2000.00
Reactivos				1000.00
Materiales campo				2500.00
Materiales laboratorio				3000.00
<b>TOTAL</b>				<b>8500.00</b>