



JOURNAL OF THE
Selva Andina
Animal Science
Official Journal of the Selva Andina Research Society

ISSN 2311-3766 (print edition)
JSAAS
ISSN 2311-2581 (online edition)

Journal of the Selva Andina Animal Science

ISSN: 2311-3766

ISSN: 2311-2581

directoreditoranimalscience@gmail.com

Selva Andina Research Society

Bolivia

Condori-Cruz, Amalia Ludían; Loza-Murguía, Manuel Gregorio; Paxipati-Parra, Rolando Cesar
Efecto de dos dilutores comerciales en la viabilidad espermática de llama
(*Lama glama* L.) colectado mediante aspiración vaginal en dos edades
Journal of the Selva Andina Animal Science, vol. 7, núm. 1, 2020, pp. 30-39
Selva Andina Research Society
Bolivia

DOI: <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2020.070100030>

- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org





Efecto de dos dilutores comerciales en la viabilidad espermática de llama (*Lama glama* L.) colectado mediante aspiración vaginal en dos edades

Effect of two commercial dilutors on sperm viability of llama (*Lama glama* L.) collected by vaginal aspiration at two ages

Condori-Cruz Amalia Ludían^{1*}, Loza-Murguía Manuel Gregorio^{2,3} , Paxipati-Parra Rolando Cesar¹

Datos del Artículo

¹ Universidad Católica Boliviana San Pablo-UCBSP, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu UAC-T. Ingeniería Zootécnica. Km 74. Carretera Internacional La Paz-Desaguadero. Tel +591-2-2895100. La Paz, Estado Plurinacional de Bolivia.

² Universidad Católica Boliviana San Pablo-UCBSP, Unidad Académica Campesina Carmen Pampa-UAC-CP, Ingeniería Agronómica. Coroico-Nor Yungas-La Paz, Estado Plurinacional de Bolivia. Tel +591(2)8781991.

³ Departamento de Enseñanza e Investigación en Bioquímica & Microbiología-DEI&BM. Unidad Académica Campesina Carmen Pampa-UAC-CP.

*Dirección de contacto:

Universidad Católica Boliviana San Pablo -UCBSP, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu UAC-T. Ingeniería Zootécnica. Km 74. Carretera Internacional La Paz-Desaguadero. Tel: +591-73546410.

Amalia Ludían Condori Cruz

E-mail address: amaliatudian@gmail.com

Palabras clave:

Llama, semen, espermatozoide, vitalidad, dilutor, diseño completamente al azar.

J. Selva Andina Anim Sci.
2020; 7(1):30-39.

Historial del artículo.

Recibido junio, 2018.
Devuelto diciembre 2018
Aceptado noviembre, 2019.
Disponible en línea, abril, 2020.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Key words:

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo del estudio evaluar el efecto de dos dilutores comerciales (*AndroMed* y *Triladyl*) en la viabilidad espermática de llama (*Lama glama* L.) colectado mediante aspiración vaginal en dos edades, el semen colectado fue diluido y refrigerado a 4 °C, se evaluó cada 6 h, durante 24 h. Para el análisis macro-microscópico se empleó DCA, la viabilidad repeticiones con un arreglo factorial de 3Ax2Bx3C(3). Los resultados representan que las características macro-microscópicas, el volumen de 3.1±1.3 mL en 3 años y 3.7±2.2 mL en 4 años, color de rojo claro 85% y rojo oscuro 5%, pH 8.3±0.36 y 8.3±0.4, filancia 0, una motilidad de 74.9±9.7% en 3 años y 73.9±12% en 4 años, vitalidad de 80.3±5.6% en 3 años y 81.5±4.7% en 4 años y una concentración 30x10⁶/mL en 3 años y 48 x10⁶/mL en 4 años. La motilidad, no hay diferencias significativa (p>0.05). En dilutores, las diferencias significativas (p<0.01) y en los tiempos de refrigeración (0, 6, 12, 18 y 24 h) señala diferencias significativas (p<0.01) y la interrelación edad por tiempo, edad por dilutor, dilutor por tiempo y Edad por Dilutor por Tiempo estadísticamente señala no hay diferencias significativas (p>0.05). La vitalidad no hay diferencias significativa (p>0.05). En dilutores muestra diferencias significativa (p<0.01) y en los tiempos de refrigeración (0, 6, 12, 18 y 24 h) muestra diferencias significativas (p<0.01), en la interrelación edad por dilutor, estadísticamente muestra diferencias significativas (p<0.05), en la interrelación edad por tiempo estadísticamente no hay diferencias significativas (p>0.05). La evaluación de semen pos-refrigerado logro mantener una viabilidad mayor a 50% hasta los 24 h, destacando en la refrigeración fue el dilutor *Triladyl*, lo cual es recomendable para su refrigeración y posterior inseminación artificial.

© 2020. Journal of the Selva Andina Animal Science. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of two commercial dilutors (*AndroMed* and *Triladyl*) on the sperm viability of llama (*Lama glama* L.) collected by vaginal aspiration at two ages, the collected semen was diluted and refrigerated at 4 °C, was evaluated every 6 h, for 24 h. For the macro-microscopic analysis DCA was used, the viability repeats with a factorial arrangement of 3Ax2Bx3C(3). the results represent that the macro-microscopic characteristics, the volume of 3.1±1.3 mL in 3 years and 3.7±2.2 mL in 4 years, color of light red 85% and dark red 5%, pH 8.3±0.36 and 8.3±0.4, 0, a motility of 74.9±9.7% in 3 years and 73.9±12% in 4 years, vitality of 80.3±5.6% in 3 years and 81.5±4.7% in 4 years and a concentration 30x10⁶/mL in 3 years and 48 x10⁶/mL in 4 years. Motility, there are no significant differences (p> 0.05). In dilutors, the significant differences (p <0.01) and in the cooling times (0, 6, 12, 18 and 24 h) indicate significant differences (p <0.01) and the interrelation age by time, age by dilutor, dilutor by Time and Age by Dilutor by Time statistically indicates no significant differences (p> 0.05). Vitality there are no significant differences (p> 0.05). In dilutors it shows significant differences (p <0.01) and in the cooling times (0, 6, 12, 18 and 24 h) it shows significant differences (p

Flame, semen, sperm, vitality, dilutor, completely random design.

<0.01), in the age interrelation by dilutor, statistically it shows significant differences ($p < 0.05$), in the interrelation age by time statistically there are no significant differences ($p > 0.05$). The post-refrigerated semen evaluation managed to maintain viability greater than 50% until 24 hours, highlighting the *Triladyl* dilutor in refrigeration, which is recommended for cooling and subsequent artificial insemination.

© 2020. Journal of the Selva Andina Animal Science. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

La colección de semen de los camélidos sudamericanos (CSA) en su inicio fue a través de fundas vaginales¹, que posteriormente se aplicó la electroeyaculación² y en la actualidad se emplea vagina artificial con una cervix simulada, en un maniquí en posición copulatoria³, esta última tiene que ser mantenida a temperatura corporal, apoyada con frazada eléctrica para permitirle al macho no interrumpir la cópula⁴.

Las técnicas que permitieron evaluar el comportamiento sexual del macho, sus características seminales⁵⁻⁷, en alpacas^{4,8,10}. Sin embargo hay reportes que señalan, que algunas características del semen como su carácter espumoso y altamente viscoso en diferentes grados obstaculizan su evaluación en calidad y cantidad^{4,8}, del mismo modo señalan que el semen colectado se convierte en un líquido mucoso espeso después de dos horas de conservación¹⁰.

La inseminación artificial (IA) en CSA, se ve restringida en su mayor parte por el semen fresco^{4,11}, dado que su criopreservación en estas especies aún está en pleno desarrollo, cuyos resultados a la fecha son poco alentadores, influyen diversos factores que la imposibilitan, los que se destacan, concentración espermática, porcentaje de espermatozoides (spz) anormales, escaso conocimiento sobre dilutores y crioprotectores del semen de CSA¹².

La poca información existente, sobre el uso de dilutores de semen de CSA, así como las técnicas de refrigeración y congelación, en estos últimos 20 años se trata de adaptar a otras especies como vacu

nos y ovinos¹³, con resultados bajos en preñez, obtenidos por IA con semen congelando¹⁴⁻¹⁶, de ahí que se hace necesario realizar investigaciones sobre el comportamiento de los dilutores que ayuden a conservar el semen de estas especies.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos dilutores comerciales (*AndroMed* y *Triladyl*) en la viabilidad espermática de llama (*Lama glama* L.) colectado mediante aspiración vaginal en dos edades.

Materiales y métodos

Ubicación geográfica. La presente investigación se realizó en los predios de la Unidad Académica Campesina de Tiahuanacu (UAC-T) dependiente de la Universidad Católica Boliviana “San Pablo” (UCBSP), se encuentra en la provincia Ingavi del departamento de La Paz, a 72 km de la sede de gobierno, entre las coordenadas 17°35' a 10°17' de latitud sur y 68°20' a 69°08' de longitud oeste, a una altura de 3854 msnm¹⁷.

Material biológico. Se utilizaron 6 llamas machos de 3 a 4 años de edad (donadores de semen) de la raza Q'ara y 12 llamas hembras de 4 a 5 años de edades (receptivas y vacías) de la raza Q'ara. Considerando sus características fenotípicas (talla, tamaño testicular y liberación del pene prepucial).

Procedimiento experimental. La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Reproductiva Animal de la Carrera de Ingeniería

Zootécnica (LBRA-CIZ) de la UAC-T, de la UCBS, del departamento de La Paz.

Desparasitación y acostumbramiento. Se desparasitó con PARAMEC 20 LA, por vía intramuscular a una dosis de 1 mL/50 Kg de peso vivo (PV), realizándose la repetición a los 15 días posteriores a la primera aplicación, para garantizar la eliminación de los parásitos, luego se administró FOSFOVIT como fuente de fosfato para coadyuvar a la espermatogénesis. La etapa de acostumbramiento fue por un lapso de 15 días antes del inicio de la investigación, en la Comunidad de Achaca, los animales se adaptaron al tipo de alimentación del sector, se adiestro en este periodo de 15 días para la colección del semen, pruebas de colección de semen con la ayuda del material de proctoscopia (proctoscopia humano) post-cópula.

Colección de semen. Se realizó por el método de aspiración vaginal, que consiste en aspirar parte del semen pos-eyaculado por el macho que deja en la cavidad cervical y uterina de la hembra. Teniendo las hembras vacías, se procedió a la estimulación visual de llamas machos acercando a las hembras, seguidamente se les acomodó en posición de empare, el tiempo de cópula fue 25-30 min. Una vez culminada la cópula se procedió con la desinfección de la vulva con papel toalla. Predio a la colecta del semen para prevenir la contaminación externa hacia la muestra, se introdujo el espejo a la cavidad cervical, luego se retiró el guiador conectando el espejo con tubos falcón de 14 mL, por la fuerza de la gravedad el semen va filtrando por la pared del espejo hacia el tubo colector.

Preparado de dilutores comerciales. Se realizó el preparado de los dilutores comerciales de *AndroMed* y *Triladyl* + yema de huevo, por la cantidad de semen (mL) colectados de las llamas machos en el proceso de la investigación. *AndroMed*. Se utilizó un promedio de 100 mL de diluyente más 400 mL

de agua a + 37 °C, el agua bidestilada a temperado a 37 °C. *Triladyl*. Se mezcló 100 mL en 300 mL de agua bidestilada, representativo como solución madre y luego se procedió a la refrigeración a 4 °C.

Evaluación macroscópica del semen. i) *volumen*, se valoró en la cantidad de semen en mL lecturado en tubos colectores, ii) *color*, fue lecturado en forma directa en tubos colectores, tomando en consideración las tonalidades básicas de rojo claro, rojo oscuro, blanco lechoso y blanco cristalino⁴, iii) *pH*, fue evaluado con la cinta pH metro, con tres repeticiones en cada colecta por muestra, iv) *filancia*, se extrajo 10 µL de semen con micropipeta directamente del tubo colector, posteriormente se puso sobre la base el filancímetro en una superficie horizontal, seguidamente se procedió la lectura con una jeringa N° 18, la ubicación de la altura dando la lectura en cm.

Evaluación microscópica del semen i) *concentración espermática*, se realizó extrayendo con un micropipeta de 10 µL de semen, colocando sobre la cámara de Neubauer, se dejó reposar 5 min, luego se realizó el conteo, calculando con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración EPZ/mL} = \text{EPZc} * 25 * 100 * 1000$$

EPZc=Promedio de spz contados. 25= Número de cuadrantes. 1000 = Factor de dilución

Motilidad espermática. En el microscopio con platina térmica y los materiales de manipulación fueron regulados a una temperatura de 37 °C aproximadamente, se extrajo 10 µL de semen con una micropipeta se colocó en un porta objeto y se cubrió con su respectivo cubre objeto, la lectura se realizó con un microscopio a 40X contando los spz del campo visual, valorando subjetivamente los spz que se mueven de forma rectilínea. El porcentaje de motilidad espermática se obtuvo con la siguiente ecuación¹⁸.

$$\% \text{ de motilidad} = \frac{n}{N} \times 100$$

n = Número de spz móviles. N = Número de spz contados.

Vitalidad espermática. Se extrajo 10 µL de semen y 10 µL de la solución de eosina-nigrosina, se llevó al porta objeto, luego se homogenizó suavemente con la punta de la pipeta durante 15 s luego se realizó el frotis que solo quede una sola capa en el porta objeto, esperando 2 a 5 min para eliminar la humedad de la muestra realizando la lectura de spz teñidos y no teñidos. El número de spz vivos se determinó con la siguiente fórmula^{11,19}.

$$\% \text{ Vitalidad} = \frac{n}{N} \times 100$$

n = Número de spz sin teñir = Número de spz contados

Conservación en fresco de los espermatozoides.

Dilución del semen. i) *dilución con dilutor*, ya teniendo la solución madre se procedió a la dilución final de este diluyente, contiene de tres partes de solución madre de *Triladyl* y una unidad de yema de huevo, conociendo la concentración de spz por mL, del semen eyaculado de la llama todo a temperado a 35 °C. Dilución con dilutor *AndroMed*, Se utilizó 100 mL de *AndroMed* diluyente más 400 mL de agua bidestilada de solución madre, se procedió a la solución final, se mezcló con el semen eyaculado de la llama macho todo a temperado a 35 °C.

Dilución del semen con los dilutores comerciales Triladyl y AndroMed: El semen valorado fue diluido con los dilutores comerciales *Triladyl* y *AndroMed* que previamente fueron preparados en los tubos falcón de 14 mL, se agregó una cantidad de semen, determinada mediante la siguiente fórmula.

$$\text{mL semen/dilutor} = \frac{14 \times 30 \times 10^6}{C.Epz. \times \%Vit. \times \%Mot.} \times 100$$

mL semen/dilutor = Cantidad de mL de semen requerida por cada tubo falcón con 14 mL de dilutor. 14 = Factor de multiplicación por tomar 14 mL de dilución final. 30 = Factor de multiplicación por tomar 30x10⁶ spz de concentración por cada mL de dilución final. C. Epz = Concentración espermática del semen. % Vit = Porcentaje de vitalidad espermática del semen. % Mot = Porcentaje de motilidad espermática del semen.

33

Descenso de la temperatura. Los tubos falcón con las muestras de semen diluido, fueron colocados en un vaso precipitado con 400 mL de agua temperada a 35 °C. Luego el vaso precipitado con las muestras, fue colocado en el interior del refrigerador hasta que la temperatura descienda a 4 °C, con el propósito de reducir la actividad metabólica de los spz.

Factores de estudio.

Análisis macroscópico y microscópico del semen.

Factor edad (3 y 4 años). *Viabilidad espermática refrigerada a 4 ° C:* Factor A: Edad (3 y 4 años), Factor B, dilutores (*Triladyl* y *AndroMed*), Factor C, Tiempos de refrigeración (0, 6, 12, 18 y 24 h).

Variables de respuesta. i) motilidad espermática, ii) (%), vialidad espermática (%)

Diseño experimental

Para análisis de macroscópico y microscópicos del semen de llama, los datos se han analizado en un diseño completamente al azar (DCA) cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente.

$$y_{ij} = u + D_i + e_{ij}$$

y_{ij} = Es la variable respuesta (volumen, pH, concentración, motilidad y vitalidad espermática).

u = Es la media general o constante común del modelo.

D_i = Es el efecto del factor edad (3 y 4 años).

e_{ij} = Es el error experimental o efectos ambientales no controlables sobre la variable respuesta.

Los datos se han procesado con el programa estadístico SAS versión 9.2 haciendo uso del procedimiento ANOVA. Para hacer las comparaciones posteriores se utilizó la prueba de comparación Duncan con un nivel de significación del 5% (p = 0.05).

Para la evaluación de la variabilidad espermática (motilidad y vitalidad), se utilizó el diseño completamente al azar con tres repeticiones con un arreglo factorial de 3Ax2Bx3C(3), los niveles de cada factor se combinaron con cada uno de los factores de estudio (factor cruzado). Cuyo modelo estadístico fue el siguiente.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \delta_k + \alpha\delta_{ik} + \beta\delta_{jk} + \alpha\beta\delta_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk}	=	Variable de respuesta (motilidad y vitalidad)
μ	=	Media general del experimento o constante común del modelo
α_i	=	Efecto del i-ésimo dilutores comerciales
β_j	=	Efecto del j-ésimo de edades (3 y 4 años)
$\alpha\beta_{ij}$	=	Efecto de la interacción i-ésimo de dilutor con el j-ésimo edad
δ_k	=	Efecto k-ésimo factor tiempos de refrigeración
$\alpha\delta_{ik}$	=	Efecto de la interacción de i-ésimo de factor dilutores comerciales con el k-ésimo factor tiempos de refrigeración
$\beta\delta_{jk}$	=	Efecto de la interacción de j-ésimo edades con el k-ésimo factor tiempos de refrigeración
$\alpha\beta\delta_{ijk}$	=	Efecto de la interacción del i-ésimo factor dilutores comerciales, j-ésimo factor edades, factor k-ésimo factor tiempos de refrigeración
ϵ_{ijk}	=	Es el error experimental o efectos ambientales no controlables sobre la variable respuesta.

Resultados

Tabla 1 Análisis de varianza para el volumen de semen (mL) en llamas de dos edades

Detalle	Características macroscópicas				
	Nº	Promedio	DS±	Extremos	
	Repeticiones			Max.	Min.
Color	32	rojo claro			
Volumen eyaculado (mL)	32	3.4	1.9	8.3	0.5
pH (rango 0-14)	32	8.4	0.4	8.8	7.6
Filancia	32				
	Características microscópicas				
Motilidad (%)	32	74.3	8.9	88	50
Vitalidad (%)	32	80.9	5.0	89	72
Concentración (x10 ⁶ /mL)	32	38.8	23.0	90	12

Figura 1 Comparación de medias Duncan entre dilutores en la motilidad espermática en los tiempos de refrigeración

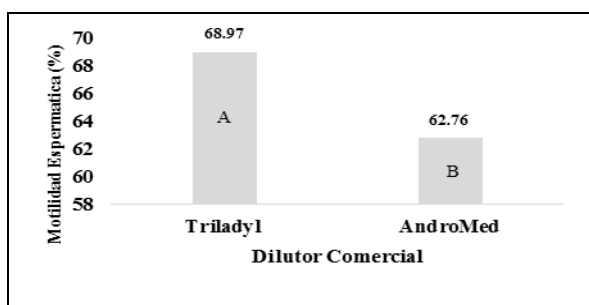
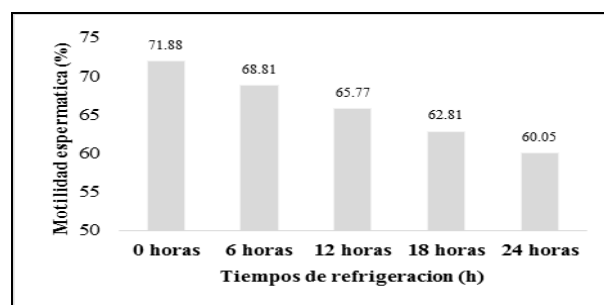


Figura 2 Comparación de medios Duncan entre tiempos (h) de refrigeración en la motilidad espermática



Discusión

Se han descrito una serie de investigaciones que reportan técnicas de obtención de spz de camélidos, que refieren fundas, esponjas vaginales, preservativos^{20,21}, fistula²², electroeyaculación^{2,21,23}, vagina artificial^{4,8,24}.

El volumen seminal fue diferente^{25,26}, en alpacas²⁷ al igual que lo reportado por Giuliano et al.²⁸ en llamas por el mismo método de colección, la concentración espermática fue inferior a la lo señalado por Ordoñez et al.^{25,26} que se debería a que este estudio se realizó en época de secas y los otros en época reproductiva.

Tabla 2 Análisis de varianza de la motilidad espermática en los tiempos de refrigeración del semen fresco en llamas en dos edades (p=0.05)

Fuente	G.L.	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medios	Valor-F	Pr>F	
Edad	1	0.81	0.81	0.04	0.8458	NS
Dilutor	1	3265.88	3265.88	153.68	<0.0001	**
Tiempo	4	5962.72	1490.68	70.14	<0.0001	**
Edad*Dilutor	1	55.82	55.82	2.63	0.1061	NS
Edad*Tiempo	4	19.31	4.83	0.23	0.9231	NS
Dilutor*Tiempo	4	91.98	23	1.08	0.3654	NS
Edad*Dilutor*Tiempo	4	6.02	1.5	0.07	0.9908	NS
Error	320	6800.51	21.25			
Total	339	16312.37				

C.V. = 7.15 %

Tabla 3 Análisis de varianza de la vitalidad espermática en los tiempos de refrigeración del semen fresco en llamas en dos edades (p=0.05)

Fuente	G.L.	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medios	Valor-F	Pr>F	
Edad	1	31.28	31.28	1.22	0.2706	NS
Dilutor	1	3101.54	3101.54	120.79	<0.0001	**
Tiempo	4	6248.24	1562.06	60.83	<0.0001	**
Edad*Dilutor	1	245.64	245.64	9.57	0.0022	**
Edad*Tiempo	4	2.02	0.5	0.02	0.9992	NS
Dilutor*Tiempo	4	5.18	1.29	0.05	0.9952	NS
Edad*Dilutor*Tiempo	4	8.99	2.25	0.09	0.9863	NS
Error	320	8216.67	25.68			
Total	339	17859.54				

C.V.= 7.14 %

Tabla 4 Análisis de varianza para efecto simple entre edades y dilutores en la vitalidad espermática (p=0.05)

Fuente	G.L.	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medios	Valor-F	Pr>F	
edad 3 años	1	718.26	718.26	27.97	<.0001	**
edad 4 años	1	2628.92	2628.92	102.38	<.0001	**
AndroMed	1	226.11	226.11	8.81	0.0032	*
Triladyl	1	50.81	50.81	1.98	0.1605	

Figura 3 Comparación de medias Duncan entre dilutores en la vitalidad espermática en los tiempos de refrigeración

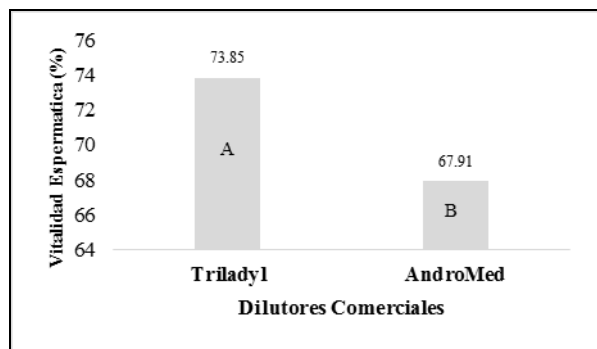


Figura 4 Comparación de medias Duncan entre tiempos (h) de refrigeración en la motilidad espermática

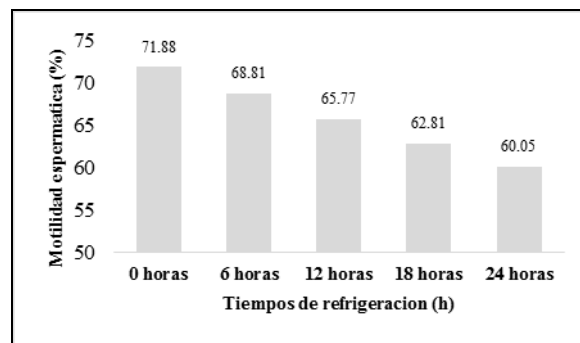
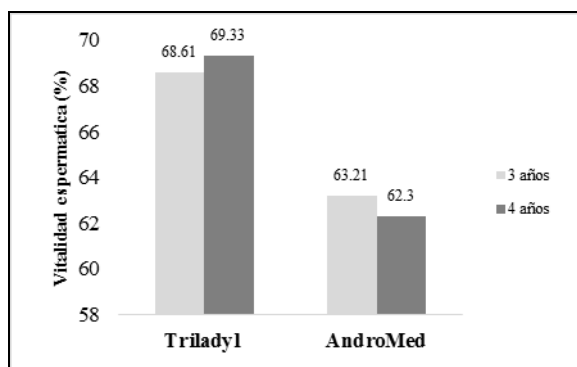


Figura 5 Comparación de medias Duncan edad por dilutor en la vitalidad espermática en los tiempos de refrigeración



Las características macroscópicas de semen eyaculado de llama, volumen 3.4 ± 1.9 mL, color de rojo claro 85%, rojo oscuro 10% y blanco lechoso 5%, pH de 8.4 ± 0.4 (alcalinidad). Las características microscópicas, promedio de concentración espermática 38.8×10^6 spz por mL, motilidad 74.3 % y vitalidad 80.9 %.

Según (Bravo et al.⁴, el volumen obtenidos en alpacas por aspiración vaginal fue de 3.6 mL, con vagina artificial es de 1.5 mL²⁹. Estudios realizados por (Alarcón et al.²⁹, el color de semen colectado por aspiración vaginal fue mayormente rojo claro (80%), y por vagina artificial fue viscoso (90%). Los datos reportados en la presente investigación fueron superiores en relación a estos autores, podría deberse por la especie y el clima, de otro lado con vagina artificial reporto pH de 7.58¹⁸, nuestros datos fueron 8.4 ± 0.4 alcalino, podría deberse por el método de colección, filancia 90% semiviscosa, con vaginal artificial 90% viscoso, en nuestra investigación fue grado 0, estas diferencias pueden deberse a la presencia de fluidos de la hembra, vitalidad 75.3% y vagina artificial 70.8%²⁹.

El análisis de ANVA para la motilidad espermática, muestra diferencias altamente significativas entre dilutor y tiempos de refrigeración, la probabilidad es

de ($P < 0.01$), estas variables de estudio afectan en la motilidad espermática en llamas de dos edades (3 y 4 años).

Por otro lado, se observa diferencias no significativas ($P > 0.05$) en la interacción edad por dilutor, edad por tiempo, dilutor por tiempo y edad por dilutor por tiempo, es decir que los tratamientos no dependen de otros factores en la variable de estudio, se observa diferencias no significativas ($P > 0.05$) para el factor edad, es decir que el tratamiento no dependen entre sí de los de más factores de estudio.

La coeficiente de variabilidad de 7.15% para la motilidad espermática en los tiempos de refrigeración de semen fresco, muestra la confiabilidad de los datos obtenidos en el presente trabajo de investigación.

La comparación de medias Duncan entre dilutores comerciales en la motilidad espermática en los tiempos de refrigeración, de un 68.97 % con *Triladyl* y un 62.76 % con *AndroMed* presentan diferencias significativas entre dilutores ($p < 0.01$).

La colección por electroeyaculación, la criopreservación se evaluó mediante la motilidad y los parámetros de movilidad de refrigeración con *AndroMed*, *Triladyl* y base Tris, estáticos de 98.08, 53.05, 56.90 % del semen refrigerado siendo el *Triladyl* y base Tris superiores al dilutor *AndroMed*^{25,26}.

La comparación de medias Duncan muestra diferencias significativas ($p < 0.01$) entre tiempos de refrigeración de 0, 6, 12, 18 y 24 h, en la motilidad espermática. El análisis de ANVA para la vitalidad espermática, existe una diferencia altamente significativa entre dilutores comerciales en los tiempos de refrigeración y la interacción de edad*dilutor, con una probabilidad del ($P < 0.01$), estas variables de estudio afectan en la motilidad espermática en llamas de dos edades. Por otro lado, se observa diferencias no significativas ($P > 0.05$) para el factor edad, en la interacciones edad por tiempo, dilutor

por tiempo y edad por dilutor por tiempo, es decir que los tratamientos no dependen de otros factores en la variable de estudio.

El coeficiente de variabilidad de 7.14% para la vitalidad espermática en los tiempos de refrigeración de semen fresco, muestra la confiabilidad de los datos obtenidos en el presente trabajo de investigación.

En la comparación de medias Duncan entre dilutores en la vitalidad espermática en los tiempos de refrigeración, existe diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Con un promedio de 73.85% para *Triladyl* y de 67.91% para *AndroMed* hasta las 24 h. Se evaluaron spz epididimarios de alpaca refrigerados a 0, 4, 8, 12, 24 y 48 h, en unos de sus tratamientos diluyeron los spz en TRIS de la misma forma que en el presente estudio, obtuvieron 84%, 76% y 68% para 0, 4 y 8 h en viabilidad³⁰. En la presente investigación los datos reportados están dentro de los rangos mencionados por los anteriores autores.

Los spz pueden ser recuperados y conservados por la aplicación de los dilutores, conservando sus características, calidad y cantidad de espermatozoide, que pueden ser utilizados en técnicas reproductivas.

Conflictos de intereses

En el manejo de los animales se ha cumplido normas éticas. Esta investigación ha sido autofinanciada por los autores y no genera conflictos de interés.

Agradecimientos

Al personal del Laboratorio de Biotecnología Reproductiva Animal de la Carrera de Ingeniera Zootécnica (LBRA-CZ). (Universidad Católica Boliviana San Pablo, Bolivia) por su apoyo en el análisis de las muestras evaluadas en la presente investigación.

Aspectos éticos

Al personal del Laboratorio de Biotecnología Reproductiva Animal de la Carrera de Ingeniera Zootécnica (LBRA-CZ). (Universidad Católica Boliviana San Pablo, Bolivia) por su apoyo en el análisis de las muestras evaluadas en la presente investigación.

Literatura citada

1. Mogrovejo D. Estudio del semen de la alpaca [tesis licenciatura]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1952. 39 p.
2. Fernández Baca S, Calderón W. Métodos de colección de semen de la alpaca. Rev Fac Med Vet Lima 1966;18(20):13-7.
3. Sumar J, Leyva V. Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca (*Lama pacos*). En IV Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos: 22-27 de Noviembre de 1981, Punta Arenas, Corporación Nacional Forestal e Instituto de la Patagonia, Chile; 1981.
4. Bravo PW, Flores U, Garnica J, Ordoñez C. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Theriogenology 1997a;47(3):619-26. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00020-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00020-4)
5. Lichtenwalner AB, Woods GL, Weber JA. Seminal collection, seminal characteristics and pattern of ejaculation in llamas. Theriogenology 1996;46(2):293-305. DOI: [http://doi.org/10.1016/0093-691x\(96\)00186-0](http://doi.org/10.1016/0093-691x(96)00186-0)
6. Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). Anim Reprod Sci 2008; 104(2-4):359-69. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.016>

7. Giuliano S, Chaves MG, Trasorras VL, Gambarratta M, Neild D, Director A et al. Development of an artificial insemination protocol in llamas using cooled semen. *Anim Reprod Sci* 2012; 131(3-4):204-10. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.03.010>
8. Pérez MG. Avances en la inseminación artificial en camélidos sudamericanos domésticos. En: *Actas II Seminario Internacional de Camélidos Sudamericanos Domésticos: 1997, Córdoba, Argentina; 1997.* p 97-109.
9. Bravo PW, Flores D, Ordoñez C. Effect of repeated collection on semen characteristics of alpacas. *Biol Reprod* 1997b;57(3):520-4. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod57.3.520>
10. Flores P, García Huidobro J, Muñoz C, Bustos Obregón E, Urquieta B. Alpaca semen characteristics previous to a mating period. *Anim Reprod Sci* 2002;72(3-4):259-66. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00095-7](http://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00095-7)
11. Alarcón V, García W, Bravo W. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Rev Investig Vet Perú* 2012;23(1):58-64.
12. Banda J, Evangelista S, Ruiz L, Sandoval R, Rodríguez C, Valdivia M et al. Efecto de dilutores en base a Tris, Tes y leche descremada en la criopreservación de espermatozoides obtenidos del epidídimo de alpaca. *Rev Investig Vet Perú* 2010;21(2):145-53.
13. Adams GP, Ratto MH, Collins CW, Bergfelt DR. Artificial insemination in South American camelids and wild equids. *Theriogenology* 2009; 71(1):166-75. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.005>
14. Bravo PW, Ccallo M, Garnica J. The effect of enzymes on semen viscosity in llamas and alpacas. *Small Rumin Res* 2000;38(1):91-5. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0921-4488\(00\)00142-5](http://doi.org/10.1016/s0921-4488(00)00142-5)
15. Vaughan JL, Galloway D, Hopkins D. Artificial insemination in alpacas (*Lama pacos*). Barton: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation; 2003. RIRDC Publication No 03/104.
16. Aller JF, Rebuffi GE, Cancino AK, Alberio RH. Influencia de la criopreservación sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*). *Arch Zootec* 2003;52(197): 15-23.
17. Plan de Desarrollo Municipal. Gobierno Autónomo Municipal de Tiahuanacu Estado Plurinacional de Bolivia departamento de La Paz provincia Ingavi tercera sección; 2011.
18. Blanco F. Evaluación del efecto de cinco enzimas sobre las características macro-microscópicas del semen de llamas (*Lama glama* L.) [tesis licenciatura]. Universidad Católica Boliviana San Pablo. La Paz. Bolivia;2010.
19. Canorio Pariona N, Paredes Arnedo F, Valdivia Cuya M. Agentes crioprotectores alternativos para el congelamiento lento de espermatozoides epididimarios de alpaca (*Vicugna pacos*). *Rev Investig Vet Perú* 2015;26(3):434-43. DOI: <http://doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11185>
20. San Martín M, Copaira M, Zúñiga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. Aspectos of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 1968; 16(3):395-9. DOI: <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0160395>
21. Sumar J. Studies on reproductive pathology in alpacas [tesis maestria]. Swedish: University of Agricultural Sciences Upsala and Universidad Nacional Mayor de San Marcos;1983.103 p.
22. Kubicek J. Semen collection in alpaca with a urethral fistula (German). *Z Tierzuecht Zuechtungsbiol* 1973;90(1-4):335-51. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0921-4488\(00\)00142-5](http://doi.org/10.1016/s0921-4488(00)00142-5)

- <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1973.tb01450.x>
23. Calderón W, Sumar J, Franco E. Avances en la Inseminación artificial de las alpacas (*Lama pacos*). Rev Fac Med Vet Peru 1968;22:19-35.
24. Garnica J, Achata R, Bravo PW. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. Anim Reprod Sci 1993;32(1-2):85-90. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90059-Z](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90059-Z)
25. Ordóñez C, Ampuero E, Cucho H, Franco E. Avances en la determinación de la velocidad del espermatozoide de alpaca en semen diluido usando el Integrated Sperm Analysis System (ISAS). Spermova 2012;2(1):63-4.
26. Ordóñez C, Cucho H, Ampuero E, Antezana W, Cayo S. Inseminación artificial de alpacas con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por electroeyaculación. Spermova 2013; 3(1):65-6.
27. Quispe D. Evaluación reproductiva del plantel de reproductores del Banco de Germoplasma de alpacas de color del CICAS LA Raya [tesis licenciatura]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2015. 94 p.
28. Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). Anim Reprod Sci 2008; 104(2-4):359-69. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.016>
29. Alarcón V, García W, Bravo W. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. Rev Investig Vet Perú 2012; 23(1): 58-64.
30. Martínez Chávez E, Ramos Aponte MI. Evaluar la capacidad fecundante de espermatozoides refrigerados en la producción de embriones in vitro en alpacas (*Vicugna pacos*) Huacaya [tesis licenciatura]. [Huancavelica]: Universidad Nacional de Huancavelica; 2015 [citado 26 de octubre de 2017]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/763?show=full>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Animal Science (JSAAS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados mapas y afiliaciones institucionales.