



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**  
**MEDICINA VETERINARIA**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

---

**“APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN,  
CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE  
CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y  
LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE  
COTOPAXI”**

---

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de  
Médicos Veterinarios

**Autor:**  
Rivera Mena Jeremy Javier  
**Tutor:**  
Chicaiza Sánchez Luis Alonso

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Julio 2025**



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Rivera Mena Jeremy Javier, con cédula de ciudadanía No. 1850759521, declaro ser autor del presente Proyecto de Investigación: **“APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**, siendo el Doctor Mg. Luis Alonso Chicaiza Sánchez, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 21 de julio del 2025

  
Jeremy Javier Rivera Mena  
C.C: 1850759521  
**ESTUDIANTE**

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **RIVERA MENA JEREMY JAVIER**, identificado con cédula de ciudadanía **1850759521** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.** - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Octubre 2020- Marzo 2021

Finalización de la carrera: Abril – Agosto 2025

Tutor: Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez, Mg.

Tema: “**APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**”

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.** - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.** - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 21 días del mes de julio del 2025.

  
Jeremy Javier Rivera Mena

**EL CEDENTE**

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.

**LA CESIONARIA**

## AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

**“APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**, de Rivera Mena Jeremy Javier, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

Latacunga, 21 de Julio del 2025



Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez, Mg.

C.C: 0501308316

**DOCENTE TUTOR**

## AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Rivera Mena Jeremy Javier con el título del Proyecto de Investigación: "APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI", ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 21 de Julio del 2025



Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, Mg.

C.C: 0502236623

**LECTOR 1 (PRESIDENTE)**



MVZ. Dina Maricela Veloz Veloz, MSc.

C.C: 1720299302

**LECTOR 2 (MIEMBRO)**



Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrin, Ph.D.

CC: 0501097224

**LECTOR 3 (MIEMBRO)**

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradezco a todas las personas que me ayudaron a crecer humana y profesionalmente durante todo este trayecto que no ha sido nada fácil, que ha pesar de las trabas me ayudaron a superarlas.*

*Agradezco a cada uno de mis docentes durante este largo camino que confiaron muchas veces en mí para poder lograrlo, que nunca se rindieron conmigo y siempre que lo necesitaba estuvieron para extenderme una mano amiga.*

*Agradezco a todo lo que he vivido gracias a esta hermosa carrera que me llevo a conocer a gente maravillosa, todos estos recuerdos los llevare presentes en mí, porque a pesar de todo fue una hermosa etapa y que sin duda la volvería a vivir.*

*Agradezco a mis papas, a mi hermano que sin ellos y sin su apoyo no se si hubiera estado donde estoy ahora y me alegra que se sientan orgullosos del trabajo que hago.*

*Agradezco a Verito, que ha sido un apoyo muy grande que tampoco ha permitido que me derrumbe y que desde que la tengo presente me ha acompañado de la mano en cada paso que he dado en este hermoso camino de la universidad.*

***Jeremy Javier Rivera Mena***

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, porque pese a los tropiezos que he tenido desde el primer momento en el que inicie mi camino en esta hermosa carrera nunca dejaron de apoyarme, nunca dejaron de creer en mí, con todos esos consejos que me daban y muchas veces creían que no escuchaba, por enseñarme a perseverar y nunca rendirme.*

*A mi hermano, porque siempre ha sido mi compañero de aventuras desde que tengo uso de razón, porque sin él mi vida sería aburrida, por estar en cada etapa de mi vida y entender que a veces no necesitamos decirnos nada, simplemente tener la compañía del uno y del otro es suficiente.*

*A todos mis gatos, esto va por ustedes mis pequeños hermosos que me han acompañado siempre, porque gracias al gran amor que les tengo a cada uno de ellos, es que escogí esta carrera, porque quise cuidar a cada uno de ustedes y brindarles una mejor vida, solo con su presencia mis días se llenan de muchas alegrías, el simple hecho de encontrar pelitos suyos en mi ropa me hace sentir la persona más afortunada del mundo de poder contar con mascotas tan majestuosas como lo son ustedes.*

*A Dios. Porque muchas veces me sostuvo, porque me ha llenado de bendiciones, también me ha presentado obstáculos para hacerme más fuerte de lo que pensé que era, porque nunca se alejó de mí, aunque muchas veces yo lo haya hecho.*

***Jeremy Javier Rivera Mena***

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

## **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

### **TÍTULO: “APLICACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE DILUCIÓN, CONSERVACION Y CONGELACION DE SEMEN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS ALPACAS Y LLAMINGOS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”.**

**Autor:**

Rivera Mena Jeremy Javier

#### **RESUMEN**

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en la Universidad Técnica de Cotopaxi, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Salache, ubicada en la Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. El objetivo fue evaluar la eficacia de dos técnicas de dilución, preservación y congelación de semen en camélidos sudamericanos, que incluyen a las alpacas y llamingos de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Se aplicó un método deductivo utilizando la técnica de observación, y el diseño experimental fue un Diseño de Bloques Completamente Aleatorizados (DBCA) con un arreglo factorial (2x2x3). Las características del semen motilidad, viabilidad y morfología se examinaron microscópicamente, con parte del semen diluido y los resultados comparados con la frecuencia de extracción de semen en alpacas y llamingos. Los resultados obtenidos mostraron que las llamas diferían del resto de los animales evaluados en cuanto a la motilidad, en la que tuvieron los porcentajes más altos de espermatozoides inmóviles. Por otro lado, estadísticamente no se notaron diferencias significativas con respecto al tipo de diluidores utilizados, lo que conduce a la inferencia de que ambos diluidores pueden preservar adecuadamente el semen fresco en condiciones controladas. Este trabajo representa un avance en el conocimiento aplicativo de las biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos y sienta las bases para procesos más avanzados, como la crio preservación y la inseminación artificial, con el objetivo de mejorar los sistemas productivos y la conservación genética de estas especies.

**Palabras claves:** Alpacas, llamingos, semen, diluyentes, motilidad, viabilidad.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES**

**THEME: “APPLICATION OF TWO TECHNIQUES FOR DILUTION, PRESERVATION AND FREEZING OF SOUTH AMERICAN CAMELID SEMEN: ALPACAS AND LLAMINGOS FROM THE TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI”**

**Author:**  
Rivera Mena Jeremy Javier

**ABSTRACT**

This research was conducted at the Technical University of Cotopaxi, in Salache, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, at Eloy Alfaro Parish, Latacunga Canton, Cotopaxi Province. Evaluating the efficacy of two semen dilution, preservation, and freezing techniques in South American camelids, including alpacas and llamingos, was the objective. A deductive method using observational techniques was applied, and the experimental design was a Completely Randomized Block Design (CRBD) with a factorial arrangement (2x2x3). Semen motility, viability, and morphology were examined microscopically, with part of the semen diluted, and the results were compared with the semen collection frequency in alpacas and llamingos. The results showed that llamas differed from the tested animals in terms of motility, with the highest percentages of immotile sperm. Furthermore, no statistically significant differences were observed regarding the type of extenders used, leading to the inference that both extenders can adequately preserve fresh semen under controlled conditions. This work represents a breakthrough in the applied knowledge of reproductive biotechnologies in South American camelids and lays the foundation for more advanced processes, such as cryopreservation and artificial insemination, with the improving production systems goal and its genetic conservation.

**Keywords:** Alpacas, llamingos, semen, extenders, motility, viability.



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR .....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	v
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN .....	vi
<i>AGRADECIMIENTO</i> .....	vii
<i>DEDICATORIA</i> .....	viii
RESUMEN .....	ix
ABSTRACT .....	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	xi
Tabla de contenidos .....	xiv
Tabla de ilustraciones .....	xv
1. INFORMACIÓN .....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO .....	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN: .....	3
5. OBJETIVOS: .....	4

5.1.	General	4
5.2.	Específicos	4
6.	ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
7.	FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	6
7.1.	MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN	6
7.1.1.	Vagina Artificial.	6
7.1.2.	Aspiración Vaginal.	6
7.1.3.	Colección por electro eyaculador.	6
7.1.5.	Esponjas vaginales.	7
7.1.6.	Fístula uretral.	7
7.1.8.	Bulbourectomía.	8
7.2.	GENERALIDADES DE CAMÉLIDOS MACHOS	8
7.2.1.	Testículos	8
7.2.2.	Control de temperatura	8
7.2.3.	Epidídimo	9
7.2.4.	Glándulas accesorias	9
7.2.5.	Vesículas seminales	9
7.2.6.	Próstata	10

7.4.	ÓRGANOS DE EVACUACIÓN DEL SEMEN .....	11
7.4.1.	Conductos deferentes .....	11
7.4.2.	Uretra .....	11
7.4.3.	Pene .....	12
7.4.4.	Prepucio .....	12
7.6.	CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN .....	14
7.6.1.	Principios básicos de la criopreservación del semen .....	14
7.6.2.	Fisiología del semen. ....	15
7.6.3.	Métodos de la criopreservación .....	15
7.6.4.	Crioprotectores .....	16
7.6.5.	Diluyentes .....	16
7.7.	CONGELACIÓN DE SEMEN .....	18
7.7.1.	Protocolo de congelación de semen.....	18
8.	HIPÓTESIS .....	19
9.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	19
9.1.	Localización. ....	19
9.2.	Recursos y Materiales .....	20
9.2.2.	Recurso. ....	20
9.2.3.	Materiales de Campo .....	20

9.2.4.	Materiales de Laboratorio .....	20
9.2.5.	Materiales de oficina .....	21
9.3.	Metodología .....	21
9.3.1.	Tipo de investigación .....	21
9.3.2.	Método de investigación .....	21
9.3.3.	Técnica.....	22
9.3.4.	Diseño experimental .....	22
9.3.5.	Unidades experimentales .....	24
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	26
10.1.	ANÁLISIS DE LA EFICIENCIA DE DOS DILUYENTES DE SEMEN .....	26
10.2.	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS DE SEMEN; MOTILIDAD, VITALIDAD Y MORFOLOGIA. ....	28
10.3.	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS DE SEMEN DE ALPACA Y LLAMINGO .....	35
11.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) .....	37
11.1.	Impacto Técnico .....	37
11.2.	Impacto Social .....	38
11.3.	Impacto Ambiental .....	38
11.4.	Impacto Económico.....	38

12.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	39
13.	BIBLIOGRAFÍA .....	40

**Tabla de contenidos** Tabla 1 Operacionalización de componentes; **Error! Marcador no definido.**

Tabla 2	Operacionalización de variables.....	22
Tabla 3	ANOVA de un Factor para la variable de Concentraciones .....	25
Tabla 4	Pruebas Post Hoc_Tukey para el factor B (Dosis).....	26
Tabla 5	Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) .....	26
Tabla 6	ANOVA de un factor para la variable concentraciones (Dosis) .....	27
Tabla 7	Estadística descriptiva para el análisis de la determinación de los parámetros de calidad de semen contracción, morfología y vitalidad antes y después de congelación .....	28
Tabla 8	ANOVA de un factor para Concentraciones.....	28
Tabla 9	Análisis descriptivo Concentraciones .....	29
Tabla 10	ANOVA para sistematizar resultados de calidad de semen de Alpaca y Llamingo	34

**Tabla de ilustraciones**

Ilustración 1	Concentración de semen con dos diluyentes por semana. ....	32
Ilustración 2	Presencia de espermatozoides anormales con dos diluyentes en tres animales por semana. ....	33
Ilustración 3	Presencia de espermatozoides vivos con dos diluyentes por semana. ....	34
Ilustración 4	Análisis de los resultados de calidad de semen de Alpaca según la frecuencia de extracción.....	36



## 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título del Proyecto:**

Aplicación de dos técnicas de dilución, conservación y congelación de semen de camélidos sudamericanos alpacas y llamingos de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

**Fecha de inicio:**

Abril de 2025

**Fecha de finalización:**

Agosto 2025

**Lugar de ejecución:**

Universidad Técnica de Cotopaxi: Salache Proyecto de Alpacas.

**Facultad que auspicia**

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

**Carrera que auspicia:**

Carrera de Medicina Veterinaria

**Proyecto de investigación vinculado:**

Técnicas reproductivas en Alpacas un enfoque integral hacia el turismo sostenible, la conservación ambiental y el desarrollo de cadena de valor.

**Equipo de Trabajo:**

Jeremy Javier Rivera Mena

Tutor: Luis Alonso Chicaiza Sánchez

**Coordinador del Proyecto:**

Nombre/s: Jeremy Javier Rivera Mena

Teléfonos: 0983570538

Correo electrónico: [Jeremy.rivera9521@utc.edu.ec](mailto:Jeremy.rivera9521@utc.edu.ec)

**Área de Conocimiento:** Agricultura,  
silvicultura y pesca **Línea de**

**investigación:**

Conservación y aprovechamiento racional de la biodiversidad, fauna y recursos naturales para el desarrollo sostenible y la prevención de recursos naturales.

**Sublínea de investigación:**

Biodiversidad, mejora y conservación de recursos zoo genéticos.

## **2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

Una forma de mejorar y acelerar la reproducción animal desde el punto de vista genético ha sido gracias a las biotecnologías reproductivas, motivo por el cual se han realizado varias investigaciones sobre la aplicación de estas tecnologías como la extracción de semen mediante diferentes técnicas entre ellas se encuentra la inseminación artificial y la transferencia de embriones que son métodos muy usados en distintas especies, todo con el objetivo de tener acceso a una muestra fresca que se pueda almacenar a largo plazo (1).

Es de dominio público que la recolección de semen en camélidos sudamericanos (CSA) tiene gran relevancia, por lo que se emplea un conjunto de métodos como la vagina artificial (VA) y la (EE) (2).

La técnica de electroeyaculador es conocida y aceptada en todo el mundo porque es un método que resulta sencillo, lo cual ha facilitado la obtención de resultados desde 1 a 1,5 cc por eyaculado. Esta es la razón por la cual se utiliza esta técnica con el criterio de que se tenga buena pared de semen y sea suficiente a lo requerido, lo que permite tener un sistema de recolección de semen constante (2).

Para el semen de alpacas, se utilizará el diluyente Triladyl que es a base de Tris, así como el Optixcell, que se evalúa en el momento de la dilución con el semen fresco (3).

Se evaluarán estos dos con la finalidad de aportar a la conservación del semen alpaca, en cuanto a la dilución, refrigeración y criopreservación (3).

Se ha establecido que el objetivo principal en la conservación de semen en camélidos es el preservar la viabilidad de los espermatozoides a lo largo de los procesos de congelación y almacenamiento. El semen es evaluado en términos de concentración, movilidad y morfología espermática (3).

Las diluciones que se ocuparan cuentan con esperados los cuales nos ayudarán a preservar la viabilidad de los espermatozoides como temperatura, pH, y presión osmótica. La conservación del semen se usará con el fin de realizar transferencia de embriones, inseminación artificial y así integrar estas técnicas en los sistemas de producción de alpacas de las comunidades de la provincia de Cotopaxi (3).

## **3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

**Beneficiarios directos.**

Estudiantes de la Carrera de Medicina Veterinaria **Beneficiarios indirectos.**

Habitantes de Comunidades rurales de la Provincia de Cotopaxi

#### **4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:**

De acuerdo a la Unión de Naciones Alimentarias y de Agricultura (2005), en el Ecuador se contabilizaban aproximadamente 6,595 Alpacas a nivel nacional, y en la provincia de Cotopaxi se estimaban 3,493 Alpacas en diferentes comunidades y asociaciones de la provincia (4).

A partir del 2015, se diagnosticó una atención en la población de alpacas y llamingos, diagnosticados con 1,324 individuos. Avanzando al 2024, la población alarma a la gente, lo que motivó a realizar numerosos estudios, estableciendo que solamente había 291 individuos repartidos en 10 comunidades de ese cantón (4).

En el manejo de la reproducción de alpacas, destaca uno de los problemas, que es la planificación en el manejo del empadre, caracterizándose por: el control ausente de montas, el largo tiempo de gestación con las hembras, un ciclo estral que no es comparable al de otras especies, problemas en la reproducción como el estrés calórico en machos que influye en la fertilidad, al no poder preñarlas, y con un porcentaje alto de mortalidad, afectando así el número significativo de población de alpacas(5).

La aplicación de técnicas reproductivas avanzadas en alpacas aún es limitada, la inseminación artificial y la transferencia de embriones son alternativas para mejorar la genética de los rebaños, pero su aplicación a gran escala se enfrenta a desafíos como el largo intervalo generacional y la capacidad fisiológica de la hembra (6).

En el caso de las alpacas, el uso de técnicas reproductivas avanzadas todavía es limitado. Mientras que la inseminación artificial y la transferencia de embriones son métodos que pueden facilitar la mejora genética de los rebaños, su adopción en el ámbito pecuario sufre de restricciones como el largo intervalo generacional y las limitaciones fisiológicas de la hembra (6).

Algunos de los retos que se presentan en la extracción de semen de alpaca macho son la dificultad de la manipulación con el eyaculado, con su volumen bajo y eyaculado de poca cantidad, además de presentar viscosidad alta. Sin embargo, el semen se está congelando, aunque esto no esté produciendo resultados óptimos (7).

El congelado de semen de macho alpaca puede presentar algunos problemas, como la ruptura de las membranas de los espermatozoides, daño en el ADN, reducción de la actividad, incremento de la inactividad, y disminución en la actividad respiratoria. Además, el incremento de los tiempos de crioconservación que se le da con los espermatozoides, la disminución en la motilidad de los espermatozoides (7).

La composición de los diluyentes para la conservación del semen de alpaca tiene inconvenientes, en especial con la alta viscosidad del semen de alpaca, así como la falta de información con respecto a la composición ideal del diluyente (7).

## **5. OBJETIVOS:**

### **5.1. General**

- Evaluar la eficiencia de dos diluyentes en la dilución, conservación y congelación de semen en camélidos sudamericanos, alpacas y llamingos de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

### **5.2. Específicos**

- Determinar la eficiencia de dos diluyentes de semen a dos concentraciones sobre la respuesta de movimiento en masa.
- Evaluar las características microscópicas de semen como motilidad, viabilidad, morfología espermática antes y después del proceso de congelación
- Comparar las características microscópicas del semen de alpaca macho y llamingo según frecuencia de extracción de semen.

## **6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS**

*Tabla 1 Operacionalización de componentes*

<b>Objetivo 1</b>	<b>Actividad</b>	<b>Resultado de la actividad</b>	<b>Medio de verificación</b>
-------------------	------------------	----------------------------------	------------------------------

Determinar la eficiencia de dos diluyentes de semen a dos concentraciones sobre la respuesta de movimiento en masa.	Observar el movimiento en masa con dos diluyentes Triladyl y Optixcell	Porcentaje de movimientos progresivos, no progresivos e inmóviles	Matriz comparativa
<b>Objetivo 2</b>	<b>Actividad</b>	<b>Resultado de la actividad</b>	<b>Medio de verificación</b>
Evaluar las características microscópicas de semen como motilidad, viabilidad, morfología espermática antes y después del proceso de congelación	Registrar parámetros de calidad de semen contracción, morfología y vitalidad antes y después de congelación	Número de espermatozoide por unidad volumen, número de espermatozoide anormales y de espermatozoides muertos	Registro
<b>Objetivo 3</b>	<b>Actividad</b>	<b>Resultado de la actividad</b>	<b>Medio de verificación</b>
Comparar las características microscópicas del semen de alpaca macho y llamingo según frecuencia de extracción de semen	Sistematizar resultados de calidad de semen de alpaca macho y llamingo	Comparación de calidad de semen de dos especies de camélidos sudamericanos	Cuadro comparativo

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

### 7.1. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN

Existe una gran variedad de colección de semen en camélidos entre ellas están se encuentran las siguientes técnicas:

#### 7.1.1. Vagina Artificial.

Vagina artificial utiliza aire y agua a 38 a 40 °C, manteniendo estáticas la temperatura y el agua. Se requiere un maniquí cubierto para simular el coito que

permite la eyaculación del macho. Usar vagina artificial junto con una hembra en celo es la mejor manera para recolectar semen en un buen volumen y calidad (8).

### **7.1.2. Aspiración Vaginal.**

La técnica de aspiración vaginal en camélidos, o aspiración vaginal post-cópula, es una de las formas de recolectar semen. Se realiza después de la cópula, insertando un proctoscopio en la vagina del animal, a quien le elevan la parte anterior del cuerpo, lo que permite al semen caer por gravedad hacia un tubo de ensayo que está a una temperatura preestablecida. El semen se evalúa en el laboratorio tras el análisis de calidad y motilidad (9).

### **7.1.3. Colección por electro eyaculador.**

La electroeyaculación permite coletar semen de alpacas mediante un equipo que no exceda los 40 voltios. Este voltaje es suficiente para colecciones masivas de semen facilitando la recolección en cualquier época del año y también permite la recolección en cualquier momento sin la necesidad de hembras en celo (10).

La recolección del semen requiere la inmovilización del animal y la inserción de una sonda en el recto. Generalmente, el masaje transrectal en la región de las glándulas sexuales accesorias se realiza para inducir relajación muscular y activar la defecación, además de relajar el esfínter anal. Siguiendo el flujo de este proceso, la sonda es colocada y se aplica la electricidad en pulsos, los cuales son liberados de forma controlada (11).

### **7.1.4. Fundas Vaginales.**

La primera aproximación a la recolección de semen en alpacas involucraba el uso de una bolsa de látex que era colocada en la vagina antes de la cópula. Luego de la cópula, la bolsa se retiraba, permitiendo la recolección de semen. Aunque permitía la obtención de eyaculados, esta técnica presentaba diversos inconvenientes, tales como interferencia con el acto de copulación natural, un aumento en la duración del tiempo de cópula y la colocación y fijación de la funda en el tracto genital que ocasionaba con frecuencia, complicaciones que resultaban en lesione (12).

### **7.1.5. Esponjas vaginales.**

Pequeños fragmentos de esponja son colocados en la zona anterior de la vagina con la función de absorber el semen y otros fluidos vaginales actuando como recipientes. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes de este método es que el semen recolectado es altamente contaminado y mezclado en la mayor parte con los fluidos del tracto genital. Esto provoca que exista una gran dilución del eyaculado y un riesgo de contaminación bacteriana, lo que hace difícil su análisis y manipulación. Por tales razones, no se sugiere este método cuando el objetivo es la inseminación artificial (11).

#### **7.1.6. Fístula uretral.**

Este procedimiento implica la creación de una fístula quirúrgica en la uretra del pene situada entre el escroto y el ano, con el propósito de la recolección de esperma durante la copulación natural. Para este procedimiento, se utiliza una epidural combinada con un anestésico local, lo que permite colocar un catéter de plástico desde la uretra, a través del pene, y hasta la vejiga. Este catéter se utiliza para guiar la cirugía y ayuda en la ubicación uretral precisa. Luego, se realiza una incisión en la piel y se separa circunferencialmente el músculo bulbocavernoso, exponiendo la uretra desde el cuerpo cavernoso. Es importante mencionar que esto no interfiere con la copulación, y las complicaciones postoperatorias observadas no parecen ser de gran preocupación para el animal (12).

#### **7.1.7. Desviación de los conductos deferentes.**

Se han perfeccionado métodos para la extracción de espermatozoides en alpacas tales como la desvinculación de los conductos deferentes y la prostatotomía. La desvinculación o desviación permite la obtención de espermatozoides en el epidídimo, el cual es su lugar de almacenamiento, por lo que se evita el contacto con las secreciones glandulares. Esta técnica quirúrgica desvía los conductos deferentes hacia la parte caudal del animal o la parte interna del muslo, donde se les crea una fístula permanente en la piel. Así, se colige de manera continua sin hembra receptora y sin riesgo de exposición a enzimas proteolíticas que descompondrían el coágulo del eyaculado, lo que mejora el posterior manejo del esperma en el laboratorio (13).

#### **7.1.8. Bulbourectomía.**

Esta metodología se basa en la necesidad de extraer espermatozoides sin el aporte de las glándulas bulbouretrales, las cuales, como se menciona en su literatura, son las encargadas de secretar el líquido espeso que se presenta en el semen. El semen obtenido con la técnica de extracción quirúrgica presenta propiedades similares, inclusive en algunos casos, superiores al semen recolectado a través de la vagina artificial (13).

## **7.2. GENERALIDADES DE CAMÉLIDOS MACHOS**

### **7.2.1. Testículos**

Los camélidos de América del Sur, que incluyen llamas y alpacas, tienen testículos pequeños y de forma ovoide. Estos se encuentran en una posición bastante peculiar: al nivel de la tuberosidad isquiática, con una orientación casi horizontal del polo mayor y con la base dirigida hacia caudal. En estos, el tamaño testicular es típicamente pequeño, ovalado, con el eje longitudinal orientado en dirección caudodorsal. Miden alrededor de 4 cm de largo y 2.60 cm de ancho. Su peso estimado es de 17 gramos y el peso relativo corresponde al 0.18% del peso corporal. Ambas superficies medial y lateral son convexas (14).

### **7.2.2. Control de temperatura**

La temperatura corporal promedio de una alpaca adulta puede alcanzar de 37.5 °C a 38.5 °C, mientras que un recién nacido puede llegar hasta 39.5 °C. Representan riesgos reales e inmediatos para la vida de una alpaca, independientemente de las condiciones externas de temperatura y humedad. Las temperaturas internas que oscilan entre 40 °C y 40.5 °C se clasifican como peligrosas (15).

En machos intactos, los signos de estrés por calor a los que se debe prestar atención son hinchazón escrotal, temblor, babeo, debilidad y una frecuencia cardíaca por encima de los 90 latidos por minuto. Específicamente, se presenta un cambio en el comportamiento, apatía, junto con aletargamiento y falta de apetito. La temperatura testicular en los rumiantes se encuentra normalmente entre 2 y 8 °C inferiores a la temperatura corporal. El estrés térmico altera la espermatogénesis provocando daños irreversibles a los espermatoцитos, espermatozoides y espermátides a causa del estrés oxidativo (15).

### **7.2.3. Epidídimo**

La cabeza del epidídimo se encuentra en el polo craneal del testículo. Por lo tanto, el epidídimo se prolonga en el largo del testículo por todo el borde dorsal. El epidídimo se ancla a la superficie craneal del testículo y a las dos extremidades, lo que otorga al cuerpo del epidídimo la posibilidad de conformar un seno con los testículos que se hallan en posición externa(16).

### **7.2.4. Glándulas accesorias**

En los camélidos sudamericanos las glándulas vesiculares están asociadas con la ausencia de las glándulas sexuales accesorias las que están conformadas por la ampolla del conducto deferente, la próstata y las glándulas bulbouretrales (17).

### **7.2.5. Vesículas seminales**

Los camélidos se caracterizan porque sus glándulas sexuales accesorias son la próstata y las glándulas bulbouretrales, dado que no presentan glándulas vesiculares. Desde el punto de vista morfológico, sobre la uretra pelviana estas situadas las glándulas bulbouretrales, aunque la posición de esta sea caudal y dorsal, en el límite de la uretra pelviana y uretra peneana que se relaciona con el arco isquiático (17).

Aunque estas glándulas estén cubiertas por tejido conectivo o conocidas como fascia pelviana, no se recubren por peritoneo y se recubren parcialmente por los músculos bulbouretrales (17).

### **7.2.6. Próstata**

En los camélidos, la próstata es una glándula sexual accesoria que, junto a las glándulas bulbouretrales, conforma el plasma seminal. En el cuerpo y el istmo de la próstata, hay una capa gruesa llamada cápsula y una pared interna llamada tabique o septo, ambas hechas de mucho tejido conectivo. Desde estas estructuras salen como "puentes" o tiras de tejido llamadas trabéculas que se meten hacia adentro. Estas trabéculas dividen la próstata en pequeñas secciones llamadas lobulillos, que son los grupos donde están las glándulas prostáticas (18).

En una porción externa llamada capsula prostática, en su porción externa, está cubierta por tejido conectivo fibroso denso y en su porción interna por tejido conectivo laxo. La capsula y el tabique prostático presentan abundante tejido con reticulado, elástico, así como células de músculo liso (18).

### **7.3. EVALUACIÓN DEL REPRODUCTOR**

Para efectuar una adecuada evaluación, el macho debe estar sano y libre de factores estresantes como fatiga, maltrato o inexperiencia. La erección y la eyaculación no dependen solo de las hormonas, sino también del sistema nervioso autónomo, por lo que los cambios en la libido suelen tener origen conductual (19).

La capacidad reproductiva se refiere a la habilidad del macho para embarazar hembras, y se evalúa mediante el Examen de Aptitud Reproductiva (EAR), una revisión metódica de su potencial reproductivo (19)

Dado que ningún criterio por sí solo predice con certeza la fertilidad, se consideran varios aspectos: la libido, un examen físico general, la revisión de los órganos genitales, y el análisis del semen (cantidad y calidad). También se debe observar el comportamiento sexual del macho durante el apareamiento o la recolección de semen, prestando atención a etapas como el reconocimiento de la hembra, la monta, la exposición del pene y la penetración (19).

### **7.4. ÓRGANOS DE EVACUACIÓN DEL SEMEN**

#### **7.4.1. Conductos deferentes**

Los conductos deferentes actúan como un sitio de almacenamiento de espermatozoides, además de brindar la función de transportarlos hacia la uretra en preparación para la eyaculación. En cuanto a los camélidos sudamericanos, el conducto deferente presenta un estrechamiento con un diámetro de alrededor de 2 mm el cual se engrosa a 3 mm al llegar a la cavidad abdominal (20)

#### **7.4.2. Uretra**

Camélidos sudamericanos (CSA) la uretra es un conducto a través del cual la orina es transportada desde la vejiga urinaria hacia el exterior del organismo. En el caso

de los machos, como los camélidos sudamericanos, la uretra también actúa como un conducto para la eyaculación del semen, con lo cual cumple funciones reproductivas (21).

.La uretra de los CSA tiene particularidades que la distinguen de otros mamíferos, como la flexura sigmoidea que se encuentra en el pene, la cual permite que el órgano se retraiga durante la micción y se expanda durante la erección (21).

De manera similar, las glándulas bulbouretrales están ubicadas sobre la porción pélvica de la uretra y se encuentran situadas caudal y dorsalmente en la unión de la uretra pélvica y peneana, con respecto al arco isquiático. Estas glándulas están cubiertas por fascia pélvica, un tipo de tejido conectivo, y aunque no se cubren por el peritoneo, se encuentra parcialmente ocultas entre los músculos bulbouretrales (21).

#### **7.4.3. Pene**

El pene se encuentra entre el arco isquiático y el área umbilical del abdomen. El pene de los camélidos al ser de tipo fibroelástico puede retraerse dentro de su funda gracias a la flexura sigmoidea preescrotal (21).

El glande tiene dos extremos o puntas. Una de ellas, que es más corta, se llama proceso uretral. La otra, más larga, es el proceso cartilaginoso, que está doblado hacia arriba o hacia abajo (en un plano vertical), formando una especie de gancho. Entre el glande y el cuerpo del pene hay una zona estrecha que funciona como un cuello bien definido. (21).

#### **7.4.4. Prepucio**

El prepucio es aplanado lateralmente y presenta una forma triangular cuando se observa de forma lateral. En ausencia de excitación sexual, la pequeña abertura prepucial se orienta en dirección caudal, por lo que los animales orinan hacia atrás (22).

Sin embargo, cuando se produce la erección del pene, los músculos prepuciales craneales empujan el prepucio y también el pene hacia adelante desde su posición

original. Cabe destacar que, al nacer, el pene está unido al prepucio y no se libera completamente hasta los 2 o 3 años de edad (22).

## **7.5. Características del semen**

Los estudios realizados en la conservación del semen presentan limitaciones considerables. Uno de los principales desafíos es la elevada viscosidad del semen de alpacas y llamas, lo cual dificulta su manipulación en entornos de laboratorio (23).

Esta característica viscosa impide la motilidad masal de los espermatozoides, y la motilidad individual se manifiesta de forma oscilatoria y bastante lenta, lo que representa una dificultad adicional para las técnicas de evaluación y preservación seminal (23).

### **7.4.1. Color.**

El semen de las alpacas ha sido caracterizado con un tono que varía entre blanco lechoso y blanco cristalino. Es importante señalar que el color puede estar influenciado por la concentración de espermatozoides y la cantidad de secreciones de las glándulas sexuales accesorias. Sin embargo, generalmente presenta un matiz blanquecino, tanto si se obtiene mediante electroeyaculación como a través del uso de una vagina artificial (24).

### **7.4.2. Viscosidad.**

Una de las propiedades físicas que más destaca el semen de camélidos es que es altamente viscoso, lo que dificulta el pipeteado, la elaboración de frotis por extensión y otros procesos de laboratorio. También dificulta la estimación de la concentración de espermatozoides, la motilidad y la mezcla con los diluyentes. La viscosidad es diferente entre los machos, y tiende a aumentar con el incremento de la cantidad de eyaculado en un solo día. Esto es debido al plasma seminal, que es la porción líquida del semen una vez que los espermatozoides son separados por centrifugación o filtración (24).

### **7.4.3. Volumen.**

El semen de las alpacas presenta un volumen eyaculado aproximado de 1 a 2 ml, aunque hay individuos que pueden eyacular menos de 1 ml hasta 7 ml. Se nota que el volumen es menor cuando se obtiene por electroeyaculación en comparación con la vagina artificial. Respecto al contenido, el semen de alpaca se compone de un 11,5 % de espermatozoides y 88,5 % de fluido seminal (24).

#### **7.4.4. pH.**

Los niveles de pH reportados por diversos autores son bastante cercanos a la neutralidad, con una leve inclinación hacia la alcalinidad. En promedio, el pH del semen de alpaca oscila entre 7,2 y 7,5. Además, se ha comprobado que la frecuencia de las eyaculaciones no tiene un impacto significativo sobre los valores de pH (24).

#### **7.4.5. Motilidad.**

Es esencial evaluar la motilidad justo después de la recolección del semen. La motilidad progresiva de los espermatozoides tiende a aumentar a medida que la eyaculación se vuelve más fluida (24).

### **7.6. CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN**

La inseminación artificial ha crecido en importancia durante los últimos años, ya que la cría y reproducción es un hobby con distribución global. Al mismo tiempo, la criopreservación de semen se ha convertido en un área de preocupación para veterinarios y criadores interesados en la reproducción de especímenes genéticos de alto valor, ya sea por valor comercial, emocional o de mascota (25).

En la criopreservación, algunos factores como el cristal de hielo intracelular, el daño por temperatura súbita en los espermatozoides y la exposición a ciertos niveles de soluciones tóxicas pueden afectar la capacidad de fertilización. Con respecto a la criopreservación de semen, los nuevos métodos para mejorar la capacidad de fertilización se centran en la aceleración del congelamiento, la aplicación de nuevos diluyentes y crioprotectores, y el uso de novedosos viales de congelación de espermatozoides (25).

#### **7.6.1. Principios básicos de la criopreservación del semen**

Existen múltiples inconvenientes a los que sus procesos de enfriamiento, congelamiento y descongelamiento someterán a los espermatozoides. Al igual que la preservación de semen, el almacenamiento de semen de camélidos es poco común, y tanto el enfriamiento como el congelamiento son procesos que, en el caso de los camélidos sudamericanos, son poco explorados. La elevada viscosidad del semen en los camélidos, sumado a la escasez de conocimiento sobre los diluidores y la insuficiente investigación sobre el semen en estos animales son limitantes que, en conjunto, dificultan la expansión de los protocolos de congelación que requieren un buen promedio de calidad en el semen tras descongelación. Por lo tanto, hay que considerar la reducción en la cantidad de semen de calidad al poder realizar inseminación artificial, que en este caso, dependerá del semen fresco (26).

Es necesario considerar los parámetros de calidad que se asocian a la lesser la rios estos procesos. En el caso de la alpaca, la reducción de estas características, en conjunto con las anormalidades a las que el ADN es sometido, incrementa la dificultad en el posterior proceso de fecundación (26).

### **7.6.2. Fisiología del semen.**

La fisiología del espermatozoide involucra procesos como la maduración epididimaria, la capacitación y la reacción acrosómica, los cuales son cruciales para la fertilización. Los espermatozoides son susceptibles a diversos factores que pueden comprometer su viabilidad y capacidad fertilizante, como el estrés oxidativo y las bajas temperaturas (27).

**Maduración epididimaria:** Durante su tránsito por el epidídimo, los espermatozoides sufren cambios que les permiten adquirir la capacidad fertilizante, incluyendo modificaciones estructurales y funcionales (28).

**Capacitación:** Una vez eyaculados, los espermatozoides se someten a la capacitación, un proceso que los prepara para interactuar con el óvulo y proceder con la fertilización (28).

**Reacción acrosómica:** La reacción acrosómica es la liberación de enzimas del acrosoma del espermatozoide, lo que le permite atravesar las capas que rodean al óvulo (28).

### **7.6.3. Métodos de la criopreservación**

El objetivo de la criopreservación de semen es resaltar la biotecnología como una estrategia eficiente en resguardar el germoplasma. Al implementar esta estrategia en la preservación del material genético, se da la posibilidad de difundir el semen de camélidos en las alpacas (29).

La descongelación del semen se puede realizar de manera automática o convencional en el laboratorio y, al igual que en do la calidad es preservada, la cantidad de semen disponible se maximiza (29).

#### **Método convencional:**

Los viales se colocan en un soporte metálico y se refrigeran a 4 °C durante 4 horas en un frigorífico doméstico. Después de este periodo, las bandejas que contienen los viales se transfieren dentro de una caja de poliestireno en el que haya nitrógeno líquido. En este punto, los viales se mantienen a 6 cm sobre la superficie del nitrógeno por aproximadamente 20 minutos. Finalmente, los viales se sumergen en nitrógeno líquido y se mantienen en un dewar de nitrógeno (29).

#### **Método automatizado:**

Después de llenar, los viales se refrigeran y congelan utilizando una unidad automática de congelación de semen siguiendo un protocolo de operación estándar basado en las instrucciones del fabricante. Después de la congelación, los viales se mantienen en un dewar de nitrógeno líquido (29).

#### **7.6.4. Crioprotectores**

Un crioprotector es un tipo de compuesto que favorece la preservación de tejidos o células durante períodos prolongados en condiciones de bajas temperaturas. Su función principal es ralentizar los efectos negativos del frío extremo sobre los tejidos, proteger contra la alineación de cristales de hielo y minimizar toxicidades que puede ejercerse sobre las células. De este modo, los crioprotectores actúan como una defensa para las células, previniendo la cristalización intracelular y los daños estructurales que podrían comprometer su viabilidad (30).

Los crioprotectores son agentes que intentan prevenir el daño celular asociado al congelamiento y su posterior descongelamiento; en otras palabras, minimizan los

efectos que la temperatura bajo cero y el posterior descongelamiento pueden ocasionar a los tejidos corporales. El glicerol y el dimetilsulfóxido son algunos de los crioprotectores que se utilizan en la preservación de tejidos y célula (30).

#### **7.6.5. Diluyentes**

La preservación de espermáticas se basa en el uso de nutrientes que regulen daño por temperatura. Destacan los tamponadores que permiten el control de temperatura. Se ha documentado el uso de diversos tamponadores como leche descremada y el fosfato salino (31).

Molecularmente, el semen de alpaca es complejo y puede ser susceptible a la contaminación. No obstante, de las diversas formulaciones de medios de conservación, el tris tamponado es el que mejores resultados parece ofrecer en la conservación de semen de alpacas (32).

Triladyl, debido a su contenido de yema de huevo, protege la membrana espermática en procesos de congelación, mientras que Optixcell usa ingredientes sintéticos que reducen riesgos biológicos.

##### **7.6.5.1. *Triladyl.***

El primer diluyente que se optó para la investigación y en su mayor parte es utilizado en la criopreservación de semen bovino y otros rumiantes. Su formulación se basa en TRIS un amortiguador eficaz complementado con glicerol, azúcar, tampones y antibióticos, para utilizarlo se debe complementar con agua destilada y yema de huevo para su uso(33) En condiciones de campo en regiones tropicales, también mostró mayor viabilidad espermática respecto a otros diluyentes como Andromed®, especialmente manteniendo motilidad aceptable hasta 36 h a temperatura ambiente, aunque se debe usar preferentemente dentro de las primeras 12 h para obtener  $\geq 70\%$  de motilidad (34).

##### **7.6.5.2. *Optixcell.***

Optixcell es un diluyente comercial innovador esencialmente libre de proteínas animales, basado en liposomas sintéticos que reemplazan la yema de huevo en la preparación de semen bovino fresco y congelado. Su medio es claro y sin partículas,

mejorando las evaluaciones macroscópicas y con sistemas CASA, y evita riesgos sanitarios asociados a fuentes animales como la gripe aviar o patógenos transmitidos por la yema de huevo (35). En evaluación de laboratorio local, el uso de Optixcell con glicerol al 6–8 % mostró una recuperación post-descongelación de la motilidad comparable, pese a que no alcanzó diferencias significativas entre concentraciones, confirmando su eficacia funcional (36).

## **7.7. CONGELACIÓN DE SEMEN**

Se ha utilizado un diluyente para la congelación del semen, una vez realizada la mezcla entre ambos, se procedió a enfriar gradualmente hasta alcanzar los 5 °C, con una velocidad de descenso de temperatura de 0.4 °C por minuto. Esta temperatura se mantuvo durante dos horas, tiempo en el que los espermatozoides mantuvieron contacto con el glicerol. Luego, el semen fue envasado en pajuelas, mismas que son colocadas de forma horizontal en una gradilla, manteniendo una distancia de 4 cm del nitrógeno líquido, en el interior de una caja elaborada de poliestireno o cooler. Las pajuelas deben ser expuestas al vapor de nitrógeno líquido a una temperatura de -100 °C por el lapso de 20 minutos y, luego se sumergen de forma directa al nitrógeno líquido a -196 °C para su almacenamiento definitivo en un tanque criogénico. Para su uso posterior, tras la congelación, la pajilla es retirada del tanque y se coloca en un baño maría a 37 °C para su evaluación espermática (37).

### **7.7.1. Protocolo de congelación de semen**

**Protocolo 1.** Se realizó la disolución del semen fresco dentro de un extensor TRISazúcar-yema de huevo a 37 °C. Esta etapa fue seguida por una etapa dos que contenía glicerol al 4-6 %. Luego, se enfrió de forma controlada a 5 °C a una tasa de 0.4 °C/min, manteniendo 2 h de equilibrio a 5 °C, lo que permitió la entrada del glicerol al interior de la célula espermática. Luego, se encapsuló el semen en pajillas de 0.25 a 0.5 mL, que se pre-enfriaron en vapores de nitrógeno líquido a 4-6 cm de la superficie por 7-10 min, alcanzando -100 °C. Luego fueron sumergidas a -196 °C en nitrógeno líquido para el almacenamiento final. En el momento de uso, las pajillas fueron descongeladas en un baño de agua 35-40 °C por 30-60 s antes de hacer la evaluación espermática (38).

**Protocolo 2.** Para la criopreservación del semen de llama, se utiliza un crioprotector con 7% de glicerol (LEEY-G) o 7% de dimetilformamida (LEEY-DMF) más lactosa-EDTA-yema de huevo (LEEY). Los crioprotectores se mezclan a 5 °C (también se pueden mezclar y equilibrar a temperatura ambiente). La mezcla se equilibra durante 20 minutos y luego se enfría a 5 °C donde se mantiene antes de la congelación. El semen se almacena en pajillas y se precongela sobre vapor de nitrógeno y luego se sumerge directamente en nitrógeno líquido a -196 °C (39).

Después de descongelar en un baño a 37 °C, se observó una diferencia significativa en la motilidad, siendo la DMF mejor que el glicerol. Además, las muestras tratadas con DMF tenían ADN intacto, lo que sugiere que la DMF es un mejor crioprotector que el glicerol, especialmente para la viabilidad del espermatozoide de alpaca (40).

**Protocolo 3.** En la criopreservación del semen de cabra, se recolectaron eyaculados utilizando electroeyaculación y se dividieron en dos protocolos, P1 y P2. En P2, después de remover el plasma seminal por centrifugación, el semen se diluyó primero en un extensor de leche descremada y glucosa (sin glicerol) a una concentración de  $400 \times 10^6$  espermatozoides/mL. Posteriormente, se añadió un segundo diluyente que contenía un 7 % de glicerol de manera escalonada hasta alcanzar una concentración final de  $200 \times 10^6$  espermatozoides/mL. Las pajillas de 0.25 mL se mantuvieron a 4 °C durante 2 h, se precongelaron en vapor de nitrógeno (~4–6 cm) y finalmente se introdujo directamente en nitrógeno líquido para almacenarlo a -196 °C. La descongelación se realizó en agua a 35–40 °C durante 30–60 s, lo que resultó con una motilidad post-descongelación significativamente mayor (55.6 %) y una mayor viabilidad espermatozooidal (84 %) en comparación con el protocolo P1 derivado con huevo (47.5 % y 80.0 %) (41).

## 8. HIPÓTESIS

H1: La aplicación de diluyentes en la dilución de semen de camélidos sudamericanos influye en calidad de semen post descongelación

H0: La aplicación de diluyentes en la dilución de semen de camélidos sudamericanos no influye en calidad de semen post descongelación

## 9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

## **9.1. Localización.**

La investigación se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC) Provincia de Cotopaxi, Cantón Latacunga, Parroquia Eloy Alfaro, instalaciones del Centro Experimental Académico Salache, Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Carrera de Medicina Veterinaria.

Ubicada a 16°31'28" de latitud sur y 68°20'39" de longitud oeste

Facultad: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera: Medicina Veterinaria Altitud:

2850 msnm.

Temperatura Promedio: 16°C

Precipitación anual: 1626 mm.

## **9.2. Recursos y Materiales**

### **9.2.2. Recurso.**

- Transporte
- Registros
- Computadora
- Cámara

### **9.2.3. Materiales de Campo**

- Sogas
- Jeringas de 5 y 3 ml
- Electroeyaculador
- Guantes de Nitrilo
- Tubos de falcón de 15ml
- Basculante

### **9.2.4. Materiales de Laboratorio**

- Cámara de Neubauer
- Puntas de pipeta
- Microscopio
- Portaobjetos
- Micropipeta

- Cubreobjetos
- Tubos de falcón de 15ml
- Jeringas de 3 y 5 ml
- Azul de metileno
- Termómetro
- Placa de calentamiento en temperatura de 37° C
- Agua destilada
- Papel secante
- Diluyente Triladyl
- Baño María
- Tanque criogénico
- Nitrógeno
- Pajillas
- Selladora eléctrica

#### **9.2.5. Materiales de oficina**

- Esferos
- Resma de papel
- Tabla de campo
- Marcadores permanentes
- Impresiones

### **9.3. Metodología**

#### **9.3.1. Tipo de investigación**

Se aplicó la investigación experimental, debido a que la investigación experimental está integrada por un conjunto de actividades metódicas y técnicas que se realizan para recabar la información y datos necesarios sobre el tema a investigar y el problema a resolver. En la investigación de enfoque experimental el investigador manipula una o más variables de estudio, para controlar el aumento o disminución de esas variables y su efecto en las conductas observadas

#### **9.3.2. Método de investigación**

Se utilizaron los métodos deductivos en vista que la deducción permite establecer un hipotético lazo de unión entre teoría y observación y permite deducir a partir de la teoría los fenómenos que se han puesto a observación (41).

### **9.3.3. Técnica**

Se fundamentó en la observación, dado que ha dado inicio a la elaboración de instrumentos que han facilitado la interpretación y comprensión de las situaciones analizadas. Se ha registrado la observación a partir de notas de campo, de la reconstrucción de la realidad, y volviendo a iniciar el ciclo a partir de una nueva observación (42)

### **9.3.4. Diseño experimental**

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto combinado de dos diluyentes seminales Triladyl y Optixcell en dos proporciones de dilución 1:1 y 1:2 sobre las características microscópicas del semen de camélidos sudamericanos en estado fresco y post-criopreservación. Para ello, el diseño experimental fue un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con un arreglo factorial (2x2x3).

Cada eyaculado se consideró como una unidad experimental y se le dio tratamiento aleatorio a uno de los cuatro tratamientos experimentales con el fin de reducir sesgos y asegurar aleatoriedad. Se llevaron a cabo múltiples repeticiones por tratamiento para fortalecer el análisis.

Las variables dependientes evaluadas fueron:

- Motilidad espermática total y progresiva (%)
- Viabilidad espermática (%)
- Morfología espermática (proporción de anormalidades)

Los datos se analizaron estadísticamente mediante un ANOVA para evaluar los efectos significativos de los factores tipo diluyente, proporción de dilución, y su interacción. Si se encontraban diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), se aplicó Tukey post hoc, Shapiro-Wilk para la comparación de medias, y se estableció que t de Welch y Mann-Whitney era una de las tantas que no son reconocidas por Tukey y Shapiro – Wilk, y que por el contrario, permitían analizar los datos.

La plataforma estadística Jamovi fue empleada para el registro y análisis de los datos, lo cual facilitó la evaluación de los datos recolectados durante el estudio, la cual consistió en la ejecución de análisis de varianza en los casos donde fue factible, así como la generación de estadística descriptiva en aquellos casos donde no se obtuvo diferencia estadística.

Este diseño permitió evaluar de forma sistemática el impacto de cada tratamiento sobre cada grupo analizado.

Factor A: Animales

A1- Alpaca 814

A2- Alpaca Animal 2,

A3- Llamingo

Factor B: Diluyente

a) Diluyente 1 (Triladyl)

b) Diluyente 2 (Optixcell)

Factor C: Concentración (Dosis)

a) Concentración 1

b) Concentración 2

*Tabla 2 Operacionalización de variables*

Tratamiento	Codificación					Descripción		
	a	x	b	x	c	Animal	Diluyente	Concentración
1	a1	x	b1	x	c1	Animal 1	Diluyente 1	Concentración 1
2	a1	x	b1	x	c2	Animal 1	Diluyente 1	Concentración 2
3	a1	x	b2	x	c1	Animal 1	Diluyente 2	Concentración 1
4	a1	x	b2	x	c2	Animal 1	Diluyente 2	Concentración 2
5	a2	x	b1	x	c1	Animal 2	Diluyente 1	Concentración 1
6	a2	x	b1	x	c2	Animal 2	Diluyente 1	Concentración 2
7	a2	x	b2	x	c1	Animal 2	Diluyente 2	Concentración 1
8	a2	x	b2	x	c2	Animal 2	Diluyente 2	Concentración 2
9	a3	x	b1	x	c1	Animal 3	Diluyente 1	Concentración 1
10	a3	x	b1	x	c2	Animal 3	Diluyente 1	Concentración 2
11	a3	x	b2	x	c1	Animal 3	Diluyente 2	Concentración 1
12	a3	x	b2	x	c2	Animal 3	Diluyente 2	Concentración 2

### 9.3.5. Unidades experimentales

Para la presente experimentación se inicia con 2 alpacas macho, Animal 1 (814) con 7 años, Animal 2 con 4 años, y un llamingo macho, animal 3 con 5 años con un total de 3 animales constituyendo cada animal en una unidad de estudio.

### **Manejo del ensayo**

A los animales seleccionados se realiza el debido adiestramiento, en cuanto docilidad y revisión de la condición corporal y características externas del aparato reproductor de los machos que se encuentra en la facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales.

Con la validación de cuatro animales se efectuó la recolección de semen empleando el método de electro eyaculador, se empleó el protocolo de 7 voltios a 10 segundos con un tiempo de espera de 5 minutos, subiendo a la segunda colecta a 10 voltios por 15 segundos, las muestras colectadas se las dirigió directamente al laboratorio para su debida evaluación

### **Preparación de diluyentes**

Para la preparación de los diluyentes se usaron 2 técnicas para cada dilución.

**Diluyente uno (triladyl):** Para la preparación de Triladyl se separó y se secó totalmente la yema- de huevo, mientras que la clara se descartó, se tomó una parte de la yema (1ml) y se colocó en un tubo falcón de 15 ml

En otro tubo falcón de 15 ml se tomó una parte del diluyente (1 ml) y se lo mezclo en el mismo tubo con 3 partes de agua bi destilada.

Al tubo con el diluyente se tuvo que dejar estabilizar durante 10 a 15 minutos para luego mezclarlo en el tubo con la yema de huevo

Una vez mezclado todo el diluyente de igual manera hay que dejarlo estabilizar durante 10 minutos

**Diluyente dos (optixcell):** Para la preparación del diluyente Optixcell no requiere el uso de yema de huevo, se hace la preparación directamente en tubo falcón de 15 ml.

En él tubo se coloca una parte del diluyente (1 ml) y se lo mezcla con dos partes de agua bi destilada

Una vez realizada la mezcla se dejó estabilizar por 10 minutos para poder usar con el semen fresco

Una vez preparado ambos diluyentes la muestra de semen se mantiene en la placa termina a una temperatura de 37 °C para evitar un choque térmico y evitar la muerte de los espermatozoides

Todos los materiales que se van a ocupar para el manejo del semen se deben mantener en la placa térmica y con el uso de una micropipeta tomamos una muestra directa de semen y la colocamos en el portaobjetos para de allí llevarla al microscopio y poder analizar la muestra

Con el primer diluyente el Triladyl se hizo una combinación de 1<sup>a</sup>1 en el portaobjetos para poder observar la motilidad en el microscopio

Con el segundo diluyente Optixcell se hizo una combinación de 1<sup>a</sup>2 para poder comparar y analizar la muestra

### **Tratamientos**

Con el propósito de evidenciar la eficiencia de distintas combinaciones de diluyentes y relaciones de dilución, se establecieron los siguientes tratamientos experimentales:

T1: Triladyl + yema de huevo en proporción 1a1

T2: Triladyl + yema de huevo en proporción 1a2

T3: Optixcell en proporción 1a1

T4: Optixcell en proporción 1a2

Los tratamientos se aplicaron sobre muestras de semen recolectadas de los camélidos sudamericanos (alpacas y llamingo macho). Cada muestra fue diluida según el tratamiento correspondiente. Las evaluaciones microscópicas incluyen la motilidad progresiva, viabilidad espermática, y morfología celular, con el fin de identificar la combinación de diluyente y relación de mezcla que mejor preserve la calidad espermática.

## **10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

### **10.1. ANÁLISIS DE LA EFICIENCIA DE DOS DILUYENTES DE SEMEN**

Al revisar el ANOVA, se puede establecer que existe diferencia alta mente significativa entre los grupos en la variable concentración, el Animal 3, se ubicaron en el primer lugar lo cual implica que existe una fuerte evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, por lo tanto, los grupos se diferencian notablemente; seguido del animal 814. A quien se ubicó en el segundo lugar, lo que indica que los valores varían significativamente entre los niveles del factor analizado, por lo que no se puede asumir igualdad de medias entre los grupos. Con respecto a Animal 2, que se ubicó en el tercer lugar lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para esta variable, esto sugiere que las medias de los grupos son homogéneas, y cualquier diferencia observada probablemente se deba al error experimental.

Lo que permite evidencia que la aplicación de técnicas de dilución de semen de camélidos sudamericanos influye en calidad de semen post descongelación.

*Tabla 3 ANOVA de un Factor para la variable de Concentraciones*

	Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	P
<b>ANIMALES</b>	11.2	1	11.2	0.273	0.605
<b>SEMANAS</b>	5.42	20	0.271	1.13	0.408
<b>DOSIS</b>	6.00	2	3.00	33.0	<.001S
<b>DILUYENTES</b>	11.2	1	11.2	0.273	0.605
<b>SEMANAS*DOSIS</b>	0.431	3	0.143	0.273	0.15

Al analizar los resultados obtenidos de la tabla 3 en el ANOVA de un factor en el análisis de los datos obtenidos en la investigación se puede determinar que no existe diferencia estadística en el factor A, y B con respecto a la concentración que presenta significancia estadística.

Con respecto a la concentración se puede determinar que la concentración uno fue quien presenta mejores resultados presentando una media de 0.233 n relación a la concentración dos que presentó una media de 4.80, respectivamente, mientras que al establecer las pruebas de comparación según Tukey al 0.05% se puede establecer

que la concentración uno presenta un valor de 0.995 con relación a la concentración dos que presenta un valor de 0.144 Respectivamente, tabla 4.

*Tabla 4 Pruebas Post Hoc\_Tukey para el factor B (Dosis)*

Concentración (Dosis)	Diferencia de Medias	EE	pTukey
1	-0.233	2.48	0.995
2	4.800	2.48	0.144

Al analizar la prueba de Shapiro – Wilk, se puede determinar que existe una diferencia matemática en la normalidad, con respecto al Animal 2. Determinándose que esta no se distribuye normalmente. En tal virtud, se establece que ninguna de las tres variables cumple estrictamente con la normalidad. Siendo el Animal 2 quien presenta la mayor desviación, por lo tanto, los análisis estadísticos asumen normalidad mismos que podrían ser debidos a la cantidad de la muestra colectada y número de espermatozoides presentes, tabla 5.

*Tabla 5 Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)*

	W	p
A1	0.954	0.036
A2	0.725	<.001
A3	0.952	0.030

Nota. Un valor p bajo sugiere una diferencia del supuesto de normalidad

El análisis del movimiento espermático es esencial para determinar la fertilidad potencial. De acuerdo con Rodríguez-Martínez et al. (2006). (46) destacan que parámetros de movimiento espermático, como la motilidad progresiva y no progresiva, son fundamentales para predecir el potencial fertilizante. En el estudio, los Anima1 y 3, mostraron el mayor porcentaje de inmóviles, lo que podría indicar baja calidad espermática bajo ciertas condiciones. Por otro lado, Parker et al (2006). (47) señala que la variabilidad biológica individual de los animales puede tener un mayor impacto sobre la calidad seminal que el tipo de diluyente usado.

Lo cual sustenta el hecho que en los resultados del estudio no existieron diferencias significativas entre los diluyentes Triladyl y Optixcell. Esta idea es reforzada por estudios que explican que, aunque Optixcell es un diluyente innovador basado en liposomas sintéticos, y Triladyl es un diluyente tradicional con yema de huevo, ambos tienen una eficacia comparable en la conservación de la motilidad espermática post-descongelación en diferentes especies Brown et al., 2000. (48)

Asimismo, autores como Singh et al. (2017) y Hameed et al. (2023). (4950) indican que la efectividad de los diluyentes liposomales similares a Optixcell puede ser superior en ciertas condiciones, pero muchas veces estas diferencias no alcanzan significancia estadística, alineándose con tus hallazgos donde la concentración del diluyente (dosis) fue la variable con impacto estadístico notable, especialmente en uno de los animales estudiados

## **10.2.CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS DE SEMEN; MOTILIDAD, VITALIDAD Y MORFOLOGIA.**

*Tabla 6 ANOVA de un factor para la variable concentraciones (Dosis)*

	F	gl1	medias	p
Animal 1	1.836	2	2.67	0.315
Animal 2	231.631	2	3.07	<.001
Animal 3	0.825	2	2.67	0.526

Al analizar la tabla 6 del ANOVA de un factor para la variable concentraciones se puede determinar que no existen diferencias significativas tanto para el Animal 1, y para Animal 3, con respecto a Animal 2, que presenta diferencias altamente significativas en los grupos analizados. Mientras que al analizar la normalidad de los datos obtenidos en la variable Concentraciones se puede determinar que Animal 2, no cumple con el supuesto de normalidad debido a que las muestras son muy pequeñas con respecto al Animal 1, y Animal 3, quienes sí cumplen el supuesto de normalidad debido a las medias analizadas de cada uno de sus grupos.

Por otro lado, al analizar los resultados obtenidos se puede determinar que el animal 1, y animal 3; sus datos fueron analizados mediante dos métodos (Fisher y Welch) quienes confirman diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ). El método de Welch refuerza la robustez del resultado, siendo menos sensible a la heterogeneidad de varianzas. Mientras que para el animal 2, se determina que existe cierta discrepancia en los resultados obtenidos, al analizar a prueba de t de Welch esta indica diferencias significativas ( $p = 0.038$ ) que Fisher no las detecta ( $p = 0.071$ ). Dado que los valores establecidos por ANIMAL 2, esta refleja que no es normal (según Shapiro-Wilk) mientras que Welch es más robusto referente a la heterocedasticidad. Estos datos permiten corroborar que los datos que se obtuvieron en la investigación en la recolección de las muestras establecido en la metodología de la siguiente manera: Semana 1 = una muestra, semana 2 = dos muestras y semana 3 = tres muestras respectivamente, tabla 7.

*Tabla 7 Estadística descriptiva para el análisis de la determinación de los parámetros de calidad de semen contracción, morfología y vitalidad antes y después de congelación.*

Variable	Diluyente	Media	SD	Varianza	Asimetría	Error Asim.	Z (Asimetría/SE)
Animal 1	1	2.65	2.19	4.79	0.579	0.448	1.29
	2	2.89	2.43	5.91	0.590	0.448	1.32
Animal 2	1	0.267	0.484	0.234	2.30	0.448	5.13
	2	0.493	1.37	1.87	4.46	0.448	9.96
Animal 3	1	3.70	2.80	7.82	0.133	0.448	0.30
	2	4.24	3.36	11.3	0.0805	0.448	0.18

Al analizar la tabla 8, se puede determinar que el Animal 1 y 3, presentan distribuciones simétricas en ambos diluyentes, presentando alta dispersión relativa. Mientras que el Animal 2 presentó asimetría positiva (colas largas hacia la derecha).

*Tabla 8 ANOVA de un factor para Concentraciones*

	F	gl1	P
ANIMAL 1	51.54	2	<.001
ANIMAL 2	3.73	2	0.038

ANIMAL 3      114.33      2      <.001

---

La tabla 9 permite visualizar las diferencias altamente significativas entre el animal 2 y 3, mismos que al analizarlos con Tukey no presento diferencia estadística estableciendo heterocedasticidad lo que fue ratificado en la prueba de la normalidad respectivamente, mientras que al analizar con el método de Welch este permitió determinar que en ambas variables, el  $p < 0.001$  indican que hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados.

*Tabla 9 Análisis descriptivo Concentraciones*

	DOSIS	Media	DE	EE
ANIMAL 1	1	3.41e+10	5.88e+10	3.39e+10
	2	57.33	50.01	28.88
	3	2.67	2.52	1.45
ANIMAL 2	1	1.67e0+8	2.89e0+8	1.67e0+8
	2	92.17	6.05	3.49
	3	2.00	2.60	1.50
ANIMAL 3	1	3.89e+11	6.74e+11	3.89e+11
	2	1.14e0+9	1.90e0+9	1.10e0+9
	3	1.44e0+7	2.50e0+7	1.44e0+7

---

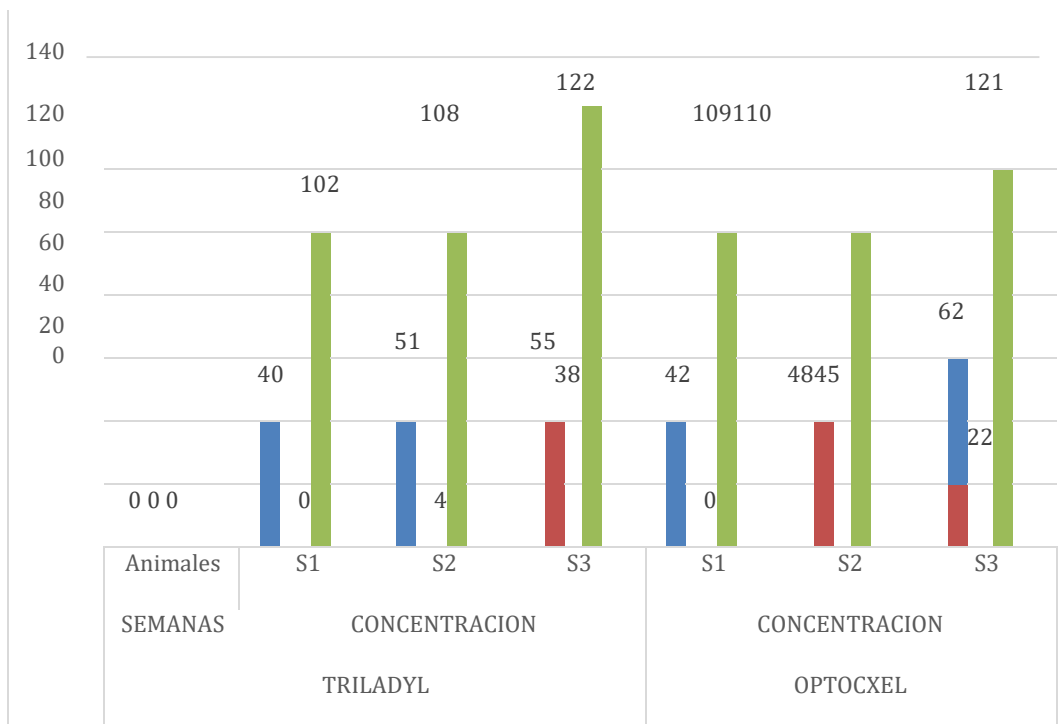
EE = Error Experimental

Al analizar la tabla 9 se puede determinar que para el animal 1 existe una dispersión media a alta es decir muy impreciso en el Concentración 1.1 con presencia de movimiento Moderadamente progresivo, con respecto a una reducción drástica del valor medio, por lo tanto, alta variabilidad relativa en el Concentración 1.2 con movimientos No progresivos, con respecto al a la semana 3 quien presento un

porcentaje medio de espermatozoides in móviles. Pudiendo concluir que existe una disminución drástica de Animal 1, conforme aumenta la dosis. Las diferencias parecen biológicamente estables, pero con diferencia marcadas en el aspecto de la motilidad.

Al analizar a ANIMAL 2, en el Concentración 1.1 presentan movimientos moderadamente progresivos existen valores elevados, por lo tanto, presentan dispersión extrema. Mientras que en el Concentración 1.2 presenta movimientos no progresivos según el análisis de los datos se puede manifestar que sus valores son mucho menores y estables; y en la semana 3 se puede manifestar que la movilidad es muy escaza presentado porcentajes altos de mortalidad por lo tanto sus valores son prácticamente nulos. Pudiendo concluir que ANIMAL 2, muestra valores iniciales altísimos que descienden bruscamente a dosis mayores.

Por otro lado, al analizar los datos para la ANIMAL 3, sus datos establecieron que existe Dispersión muy amplia por lo tanto presenta datos poco confiables en el Concentración 1.1 presentado movimientos moderadamente progresivos, con respecto al Concentración 1.2 quien presento movimientos no progresivos que presentan dispersión extrema, que siguen siendo poco confiables, con respecto a las semana la semana 3 permite establece mayor cantidad de muestra pero con porcentajes altos de anomalías y bajos niveles de vitalidad, respectivamente.



*Ilustración 1 Concentración de semen con dos diluyentes por semana.*

Los datos representados en la figura 1, revelan una marcada variabilidad entre los animales evaluados. El valor mínimo observado fue de 40 unidades en el animal 1, mientras que el valor máximo alcanzó 122 unidades en el animal 3, lo que representa una diferencia absoluta de 62 unidades en la primera semana, mientras que los resultados obtenidos en la tercera semana entre los animales, evaluados evidenciaron una marcada variabilidad, registrándose un valor mínimo de 45 unidades y un valor máximo de 122 unidades. Estos hallazgos resultan relevantes para identificar individuos con mejor desempeño, lo cual es fundamental en procesos de selección o evaluación reproductiva.

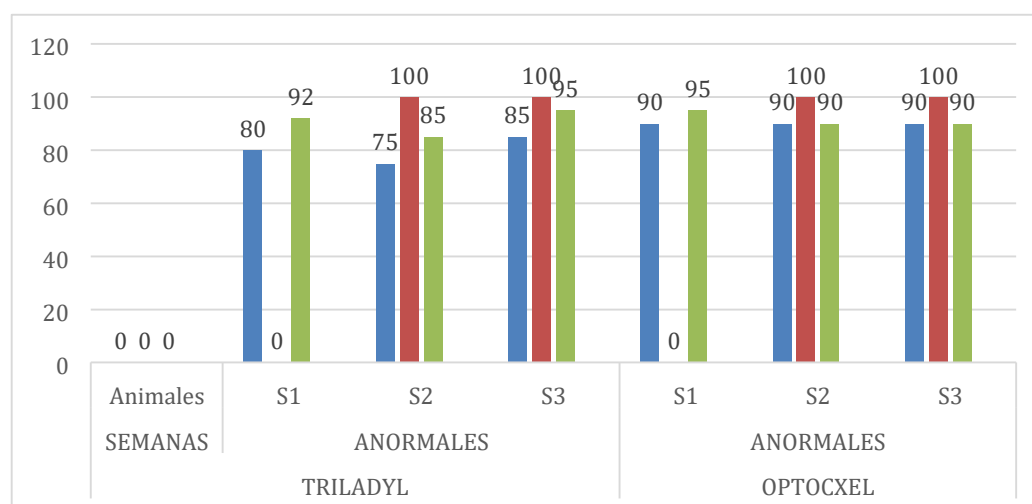
En el análisis comparativo por semanas, el animal 1 mostró un incremento en el parámetro evaluado, pasando de 40 unidades en la semana 1 a 55 unidades en la semana 3, lo que representa un aumento absoluto de 15 unidades (equivalente a un incremento del 37,5%). Este cambio sugiere una evolución positiva en la respuesta del animal a lo largo del tiempo, posiblemente relacionada con un proceso de adaptación fisiológica, mejora en el manejo o estimulación reproductiva. En el caso del animal 3, se observó un aumento en el parámetro evaluado, pasando de 102 unidades en la semana 1 a 122 unidades en la semana 3, lo que representa una diferencia absoluta de 20 unidades, equivalente a un incremento del 19,6%.

Un aumento progresivo como el observado puede ser considerado favorable en términos de desempeño reproductivo y podría ser un criterio útil para selección positiva en programas de mejora.

El diluyente optocxel mostró un efecto positivo en tres de los cuatro casos, con aumentos que van del 5% al 12.73%, siendo más pronunciado en el animal 1 en la semana 3. El único caso de efecto negativo fue en el animal 3 en la semana 3, con una leve disminución del 0.82%, lo que podría estar relacionado con una variabilidad individual en la respuesta al diluyente.

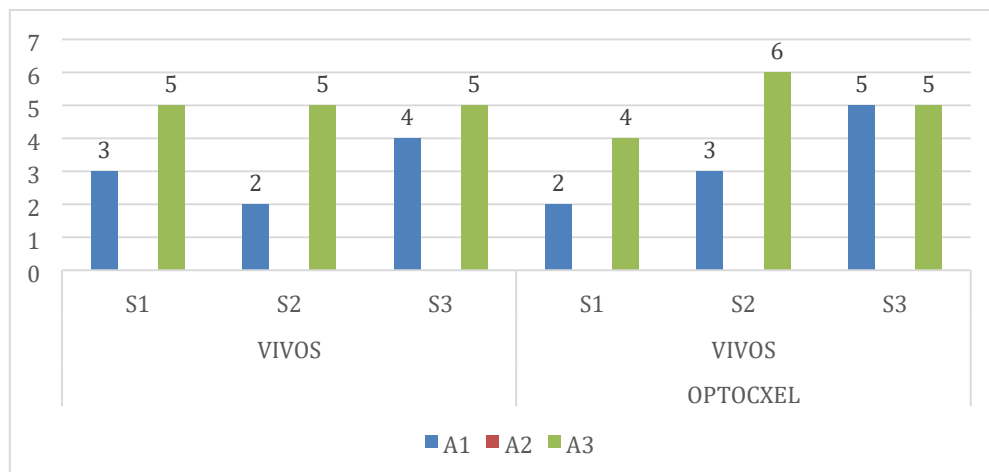
Matemáticamente, el diluyente optocxel mejora en promedio un 5.94% respecto al Triladyl, lo que sugiere una tendencia favorable, aunque no uniforme entre individuos ni semanas.

Para poder criopreservar semen de camélidos sudamericanos con posibilidades altas de recuperación y fertilidad post-descongelación los valores mínimos en la calidad de semen son  $\geq 54\%$  espermatozoides vivos,  $\geq 70\%$  formas normales,  $< 30\%$  espermatozoides anormales, según el manual de análisis de semen en humanos pero estándar referencial para la criopreservación de semen en otras especies, mientras que estudios en animales apuntan rangos similares entre el  $\geq 50-60\%$  (51)



*Ilustración 2 Presencia de espermatozoides anormales con dos diluyentes en tres animales por semana.*

Al analizar la tabla 2, se observa que existe una diferencia moderada entre los animales en cuanto a la cantidad de espermatozoides anormales, el Animal 2 tiene el mayor número de anomalías (100), un 17.65% más que el Animal 1, al comparar entre diluyentes se observa que los dos diluyentes tienen igual promedio de anormalidades (93.33). OptiXcell presenta un comportamiento más homogéneo entre animales y Triladyl genera más variación individual: mejora en algunos casos (animal 1), pero empeora en otros (animal 3), la elección del diluyente podría optimizarse por animal si se personaliza el tratamiento.



*Ilustración 3 Presencia de espermatozoides vivos con dos diluyentes por semana.*

Al analizar la figura 3 se evidencia que en promedio, Optocxel presenta un número ligeramente mayor de espermatozoides vivos (3.71 vs 3.43). para el animal 1, la media es igual en los dos diluyentes (3.0), para el animal 3, Optocxel tiene mejor promedio (5.67 vs 5.0). el animal 2 muestra 0 en semana 1 y no hay datos posteriores.

Los datos son muy limitados para aplicar pruebas estadísticas, sin embargo, la tendencia indica que Optocxel podría ser un mejor diluyente para mantener la viabilidad espermática, es decir que en dos de tres animales, Optocxel es igual o superior, en el animal con mejor respuesta (A3), Optocxel se mantiene más alto y constante en el tiempo

Para poder criopreservar semen de camélidos sudamericanos con posibilidades altas de recuperación y fertilidad post-descongelacion los valores mínimos en la calidad de semen son  $\geq 54\%$  espermatozoides vivos,  $\geq 70\%$  formas normales,  $< 30\%$  espermatozoides anormales, según el manual de análisis de semen en humanos pero estándar referencial para la criopreservación se semen en otras especies, mientras que estudios en animales apuntan rangos similares entre el  $\geq 50-60\%$  (51)

Otros estudios mencionan al menos el 70% de los espermatozoides deben mantener una morfología normal para valorar de manera satisfactoria una muestra. (52) Estudios realizados en otras especies como en perros y toros también confirman un rango similar en el porcentaje de espermatozoides normales para poder someterlos a procesos de criopreservación. (53) El rango comúnmente aceptado para anomalías totales es máximo 30%, siendo que por encima de este valor la

fertilidad se compromete significativamente al momento de someterlo a temperaturas extremadamente bajas. (54) Incluso en otros estudios como en toros, defectos mayores al 18-20% ya pueden afectar la productividad al someterlos a procesos de criopreservación según Khalil et al (2018). (55)

Tomando en cuenta las referencias obtenidas de otros estudios y referencias bibliográficas podemos evidenciar que la baja vitalidad inicial y la alta tasa de anomalías morfológicas dificultan que el semen pueda resistir el estrés térmico al que deben ser sometidos para una criopreservación efectiva, afectando así el proceso de congelación y descongelación.

### 10.3. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE SEMEN DE ALPACA Y LLAMINGO

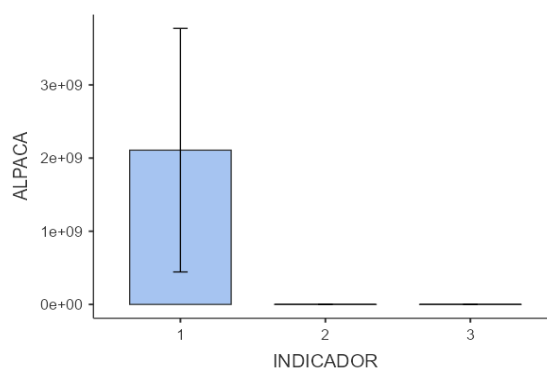
*Tabla 10 ANOVA para sistematizar resultados de calidad de semen de Alpaca y Llamingo.*

	F	gl1	p
ALPACA	327	2	<.001
ANIMAL 3	14155	2	<.001

Al analizar la tabla 10 del ANOVA permite identificar que existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados ( $p < .001$ ). Los valores de F (327 y 14 155) respaldan que existe una separación notable entre los grupos examinados.

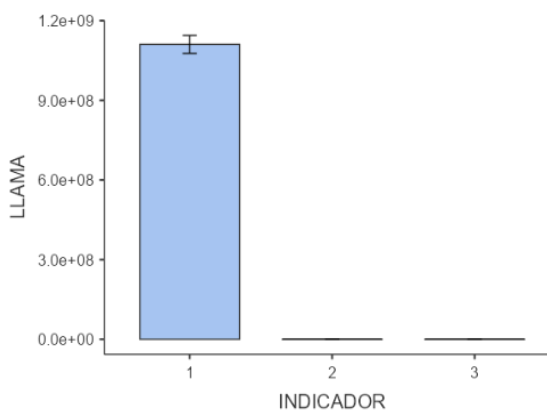
Mientras que al analizar el análisis descriptivo se puede manifestar que presentan varianzas muy desiguales en la normalidad. Se puede manifestar además que los valores presentan Heterocedasticidad debido a que sus datos del grupo 1 son del orden de  $10^6$ , mientras que los grupos 2 y 3 son  $< 100$ , lo que genera varianzas desiguales.

Al realizar el test de Shapiro–Wilk (con  $W \sim 0.72$  y  $p \sim 0.002–0.003$  en ambos) confirma que no hay normalidad.



*Ilustración 4 Análisis de los resultados de calidad de semen de Alpaca según la frecuencia de extracción.*

Al analizar la ilustración 4, se puede determinar que el grupo 1 muestra una variabilidad muy amplia en comparación con los grupos 2 y 3, cuyos rangos están muy restringidos. Esto confirma la necesidad de usar métodos robustos (como Welch o Kruskal–Wallis), quienes permiten establecer un análisis más funcional de cada uno de los grupos analizados.



*Ilustración 5. Análisis de los resultados de calidad de semen de Animal 3, según la frecuencia de extracción.*

Al analizar la ilustración 5 se puede manifestar que el Concentración 1 presenta una media muy alta: cerca de  $1.10 \times 10^6$ , coincidiendo con la media descrita. Presentando una variabilidad amplia reflejando que el recuadro de la barra es alto y el error estándar se extiende hasta casi  $1.2 \times 10^6$ , revelando una gran dispersión. Con respecto a las concentraciones 2 y 3 sus valores son prácticamente insignificantes frente a la concentración 1. Las barras están tan cerca de cero que parecen invisibles en la escala actual. Esto encaja con la desviación estándar mucho menor ( $\sim 0.19$  y  $\sim 0.82$ ) y medias cercanas a 94 y 4 respectivamente.

Pudiendo concluir que la cantidad de semen recolectado no es un indicador de tener espermatozoides con mayor motilidad, viabilidad, etc, características que deben de ser analizadas para proceder con su conservación.

El volumen del eyaculado en alpacas es típicamente bajo, entre 0.5 y 1.5 ml según Bravo et al 2013. (56) El eyaculado suele contener material mucoso con agregados celulares que dificultan su análisis mediante técnicas convencionales, así mismo Huanca et al 2001. (57), manifiestan que la recolección de la muestra en Animal 3, debe de ser con la aplicación de métodos más eficientes, que permiten tener mayor fluidez, facilitando su evaluación y manipulación, en términos de volumen y facilidad de manejo; con relación al semen de llamingo que presenta mejores características siendo superior lo que hace más funcional en técnicas de reproducción asistida.

Se resalta que el método empleado para la colección influye considerablemente sobre los parámetros obtenidos. Por ejemplo, la vagina artificial y la aspiración vaginal, combinadas con estimulación de una hembra receptiva, han demostrado ser más eficaces para optimizar la motilidad y el volumen recolectado en llamingo, Pacheco Curie (2008) y Von Baer et al (1998). (58-59)

## **11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)**

### **11.1. Impacto Técnico**

La presente investigación aporta significativamente al desarrollo y optimización de técnicas reproductivas aplicadas a camélidos sudamericanos (alpacas y llamingos), especies de alto valor genético y cultural. La estandarización de protocolos de dilución y criopreservación de semen, utilizando diluyentes modernos como Optixcell y tradicionales como Triladyl con yema de huevo, proporciona una base científica sólida para mejorar la eficiencia reproductiva en estas especies. Esto contribuye directamente al fortalecimiento de programas de inseminación artificial, conservación genética y bancos de germoplasma en zonas altoandinas.

### **11.2. Impacto Social**

La mejora en las técnicas de reproducción asistida tiene un efecto positivo en las comunidades rurales de la provincia de Cotopaxi, ya que estas dependen en parte de la crianza de camélidos como fuente de ingresos, alimentos y productos textiles. La aplicación práctica de los resultados de esta investigación puede permitir la multiplicación de ejemplares de alto valor genético, fortaleciendo la economía local y promoviendo la soberanía productiva. Además, genera oportunidades de capacitación técnica para estudiantes, profesionales y productores, fomentando la transferencia de conocimientos científicos hacia el campo.

### **11.3. Impacto Ambiental**

La conservación y reproducción eficiente de camélidos sudamericanos representa un mecanismo importante para la preservación de ecosistemas altoandinos, donde estas especies cumplen un rol ecológico relevante al pastar de forma selectiva y no degradante. Al implementar técnicas de reproducción asistida, se reduce la presión sobre la necesidad de montas naturales extensivas, lo que contribuye a un manejo sostenible del recurso genético sin afectar negativamente su entorno natural. Asimismo, promueve la utilización racional de animales con valor zootécnico superior, favoreciendo prácticas de conservación in situ.

### **11. 4. Impacto Económico**

El estudio tiene un impacto económico positivo relevante para las comunidades rurales altoandinas que dependen de la crianza de alpacas y llamos. Mejorar la eficiencia reproductiva permite incrementar el número de animales de alto valor genético, lo que fortalece la producción de fibra, carne y otros derivados, además de elevar los ingresos y la competitividad del sector.

## **12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

- La comparación entre los diluyentes Triladyl y Optixcell a diferentes concentraciones respecto al movimiento espermático, en la tabla 3 los animales, las semanas, los diluyentes no son significativas, mientras que las dosis si son significativas con un  $p < .0018$ , lo que indica que ambos son igualmente eficientes para conservar semen fresco bajo condiciones

controladas. Sin embargo, se identificó variabilidad individual entre los animales, influyendo en los resultados de motilidad

- Este objetivo no se cumplió completamente, pues no fue posible realizar el proceso de congelación del semen, lo cual impidió comparar los parámetros espermáticos antes y después del congelamiento debido a los resultados obtenidos en la morfología de las anomalías tenido un promedio de 93.33%, como lo exigía el objetivo. Sin embargo, sí se logró registrar y analizar con detalle las características microscópicas del semen antes del proceso de congelación, incluyendo motilidad, morfología y vitalidad espermática por animal y tipo de diluyente. Estos datos aportaron información útil sobre la variabilidad individual entre los animales y el rendimiento de los diferentes diluyentes, aunque no se puede establecer conclusiones sobre los efectos del congelamiento, quedando pendiente para estudios posteriores.
- Se comparó la calidad seminal entre ambas especies y se reportó que el llamingo presenta una mejor morfología espermática y menor porcentaje de anomalías con una  $p > .001$  siendo significativo respecto a la alpaca, la cual tiene un mayor rango de anomalías y menor viabilidad.

#### **Recomendaciones.**

- Considerando los resultados con el método de colección de semen se recomienda utilizar otro método de colección de semen en camélidos sudamericanos para poder comparar los resultados obtenidos microscópicamente.
- Tomando en cuenta los resultados del estudio se recomienda que futuros trabajos incluyan una evaluación de las condiciones ambientales en las que permanece cada animal y del tipo de alimentación que reciben, ya que el estado físico, nutricional y el manejo influyen determinantemente en la calidad seminal y en respuesta a diversos protocolos reproductivos. De este modo, poder fortalecer la base diagnóstica sobre el bienestar animal y su nutrición permitirá optimizar las técnicas de conservación y asegurar resultados más representativos y aplicables para la mejora genética y productiva de estas especies en las comunidades altoandinas

- Se recomienda realizar adiestramiento en la monta más seguido, para poder probar otros métodos de colecta sin mayores inconvenientes y poder obtener mejores resultados

### 13. BIBLIOGRAFÍA

1. Alarcón B V, García W V, Bravo PW. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. Rev Investig

Vet Peru [Internet]. 2012 [citado el 26 de junio de 2025];23(1):58–64.

Disponible

en:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172012000100007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172012000100007)

2. Raymundo T. F, Huanca L. W, Huanca M. T, Huerta O. S, Cordero R A. Efecto de tres dilutores en la conservación del semen de alpacas. Rev Investig Vet Peru [Internet]. 2006 [citado el 26 de junio de

2025];17(2):125–30.

Disponible

en:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172006000200007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000200007)

3. Ficha técnica Cadena de Valor de la Alpaca-Programa Montañas [Internet]. Bivica.org. [consultado el 27 de junio de 2025].

Disponible en: <https://www.bivica.org/file/view/id/6031>

4. Astudillo G, Daniel B. Diagnóstico de la población de alpacas (vicugna pacos), estructura de rebaños y práctica de manejo en la provincia de

Cotopaxi [Internet]. [CAREN]: Universidad Técnica de Cotopaxi; 2024 [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en:

<https://repositorio.utc.edu.ec/items/40d83c7f-1254-4113-8132-36aec3d9e9b9>

5. El Esplendor y Encanto de las Alpacas de los Andes Ecuatorianos [Internet]. Ecolodge Itamandi - Amazon Tours. 2023 [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en:

<https://itamandi.com/es/blog/alpacas-of-theecuadorian-andes/>

6. COTOPAXI: Las alpacas como mecanismo para la conservación de los páramos y las fuentes hídricas [Internet]. Org.ec. [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en: <https://radio.corape.org.ec/noticia/item/cotopaxilas-alpacas-como-mecanismo-para-la-conservacion-de-los-paramos-y-lasfuentes-hidrica>
7. Grajales T. TIPOS DE INVESTIGACIÓN [Internet]. Ihmc.us. 2000 [citado el 15 de julio de 2025]. Disponible en: <https://cursa.ihmc.us/rid=1RM1F0L42-VZ46F4-319H/InvestigaciC3B3n.pdf>
8. EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE ALPACAS MACHOS SURI EN RELACION AL TAMAÑO TESTICULAR, NIVELES DE TESTOSTERONA, CALIDAD DE SEMEN Y FERTILIDAD DURANTE EL EMPADRE [Internet]. Vriunap.pe. [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en: <https://vriunap.pe/fedu/upload/2023/p00000084-5-Proy.pdf>
9. Curie P, Iván J. Métodos de recolección de semen en camélidos sudamericanos [Internet]. Redalyc.org. 2008 [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63611397005.pdf>
10. Napolitano F. Tecnologías reproductivas y bienestar animal [Internet]. Sciencedirect.com. 2020 [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biologicalsciences/electroejaculation>
11. Cabrera JEG. [https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/d91bc4ae-75bf-46b2-8962-ea8a9d68c4f9/content](https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/d91bc4ae75bf-46b2-8962-ea8a9d68c4f9/content) [Internet]. [FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS]: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO; 2017 [cited 2025 Jun 27]. Available from: <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/d91bc4ae-75bf-46b2-8962-ea8a9d68c4f9/content>

12. García-Díaz JR, Garzón Jarrín RA, Chicaiza Sánchez LA, Villavicencio Villavicencio BJ. Métodos de recolección del semen de Vicugna pacos y revisión de los parámetros seminales utilizando diluyente Triladyl®. J Selva Andina Anim Sci [Internet]. 2024 [cited 2025 Jun 27];11(2):54–64.

Available

from:

[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2311-25812024000200054](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2311-25812024000200054)

13. Napolitano F. Tecnologías reproductivas y bienestar animal [Internet]. Sciencedirect.com. 2020 [consultado el 27 de junio de 2025]. Disponible

en:

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biologicalsciences/electroejaculation>

14. Villanueva M. JC, Huanca M. WF, Hilari O. F, Uchuari P. M, Rodríguez G. F, Huanca L. W. Efecto de la estación sobre las características seminales de alpacas (Vicugna pacos) criadas a nivel del mar. Rev Investig Vet Peru [Internet]. 2018 [citado el 3 de junio de 2025];29(2):559–64. Disponible en:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172018000200019](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000200019)

15. Tibary A, Vaughan b J, editores. Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: A review and clinical observations [Internet]. Vol. 61. 2006 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092144880500259>

[2#preview-section-cited-by](#)

16. Galy Mendoza T, Castro A, Lupidio M, Domínguez M, Gómez S, Ghezzi M. DE LA ANIMAL 3, (Lama glama) [Internet]. Org.pe. 2012 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v23n1/a04v23n1>

17. Garces Cabrera JE. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE SEMEN FRESCO DE

ALPACAS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AÑA MOYOCANCHA CON LA APLICACIÓN DE OLIGOELEMENTOS [Internet]. [Chimborazo-Ecuador ]: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO; 2017 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/d91bc4ae-75bf-46b2-8962-ea8a9d68c4f9/content>

18. Guido Perez M, Zevallos J, Harold Perez U, editores. RECUPERACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE ALPACAS DEL CONDUCTO DEFERENTE DURANTE LA EPOCA REPRODUCTIVA [Internet]. Vol. 4. 2014 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: [https://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.No.420Vol.2/5\\_perez\\_2014-II-139-144b.pdf](https://spermova.pe/site2/files/Revistas/Rev.No.420Vol.2/5_perez_2014-II-139-144b.pdf)
19. Alarcón BV, García WV, Bravo PW. Inseminación artificial de alpacas con semen recogido por aspiración vaginal y vagina artificial. Rev Investigag Vet Perú [Internet]. 2012 [consultado el 27 de junio de 2025];23(1):58–64. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172012000100007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172012000100007)
20. Galy Mendoza T, Castro A, Lupidio M, Domínguez M, Gómez S, Ghezzi M. DE LA ANIMAL 3, (Lama glama) [Internet]. Org.pe. 2012 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v23n1/a04v23n1>
21. Anatomy of the camel reproductive tract [Internet]. IVIS. 2000 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: <https://www.ivis.org/library/recentadvances-camelid-reproduction/anatomy-of-camel-reproductive-tract>
22. Bravo PW, Skidmore JA, Zhao XX, editores. Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae [Internet]. Vol. 6. Animal Reproduction Science; 2000 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en:

[https://www.academia.edu/55133543/Reproductive\\_aspects\\_and\\_storage\\_of\\_semen\\_in\\_Camelidae?uc-g-sw=66181351](https://www.academia.edu/55133543/Reproductive_aspects_and_storage_of_semen_in_Camelidae?uc-g-sw=66181351)

23. Reproduccion e inseminacion artificial - Hafez [Internet]. Scribd. [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/394898878/Reproduccion-e-Inseminacion-Artificial-Hafez>
24. Tibary A, Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Estatal de Washington, Pullman, WA, EE. UU. Ultrasonografía testicular: Normal y anormal. En: Técnicas de investigación reproductiva en camélidos. ASOCIACION PERUANA DE REPRODUCCION ANIMAL; 2018. p. 6–18.
25. Lobo MEA, Araque NV, Franco L. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2013 [citado el 3 de junio de 2025];8:108–19. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3214/321428102012.pdf>
26. Banda R J, Evangelista S V, Ruiz G L, Sandoval M R, Rodríguez LI C, Valdivia C 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 Peru [Internet]. 2010 [citado el 3 de junio de 2025];21(2):145–53. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172010000200001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000200001)
27. Tortolero, Arata-Bellabarba G, Osuna J, Gómez R, Regadera J. Estrés oxidativo y función espermática: Revisión. Rev Soc Venez Endocrinol Metab [Internet]. 2005 [citado el 3 de junio de 2025];3(3):12–9. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102005000300003](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102005000300003)
28. Avalos Rodriguez A, Gonzales Santos JA, Vargas Ibarra AK, Herrera Barragan JA. Recoleccion y manipulacion seminal [Internet]. Uam.mx. 2018 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: [https://casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion\\_manipulacion.pdf](https://casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion_manipulacion.pdf)

29. Ribeiro-Peresa A, Munita-Barbosab L, Yumi-Kanazawab M, MelloMartinsc MI, de Souza FF, editores. Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado [Internet]. Vol. 46. versión impresa ISSN 0301-732X; 2014 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2014000100005](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2014000100005)
30. Herrán Barrero GA, Guevara Lozano PM, Vasquez RL. CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS Y EMBRIONES EN ANIMALES DOMÈSTICOS [Internet]. [Colombia ]: UNIVERSIDAD COOPERATIVA DE COLOMBIA ; 2021 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/a43ee98a-2a7b-48f9-afbc-1fe735acc712/content>
31. Raymundo T. F, Huanca L. W, Huanca M. T, Huerta O. S, Cordero R A. Efecto de tres dilutores en la conservación del semen de alpacas. Rev Investig Vet Peru [Internet]. 2006 [citado el 3 de junio de 2025];17(2):125–30. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172006000200007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000200007)
32. Valenzuela-Estrada M, Rippes F, Nuñez H, editores. Estudio Morfológico de Testículo de Híbridos de Alpaca (Lama pacos L.1758) y Animal 3, (Lama glama L. 1758) [Internet]. Vol. 30. 2012 [citado el 3 de junio de 2025]. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022012000300067#:~:text=En20estos20el20tamaC3B1o](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000300067#:~:text=En20estos20el20tamaC3B1o)
33. Solís DC. Estudio comparativo de 3 diluyentes (Tris, Citrato de sodio y Triladyl) en el procesamiento de semen bovino [Internet]. 1Library.co. 2014 [citado el 16 de julio de 2025]. Disponible en: [https://1library.co/document/y6j9vk7q-estudio-comparativo-diluyentestris-citrato-triladyl-procesamiento-bovino.html#google\\_vignette](https://1library.co/document/y6j9vk7q-estudio-comparativo-diluyentestris-citrato-triladyl-procesamiento-bovino.html#google_vignette)

34. Montezuma C, Gabriel A. Evaluación de dos diluyentes comerciales para la congelación de semen bovino en condiciones de campo [Internet]. Universidad de Panamá; 2025 [citado el 16 de julio de 2025]. Disponible en: [https://up-rid.up.ac.pa/9106/?utm\\_source=](https://up-rid.up.ac.pa/9106/?utm_source=)
35. Murphy EM, O'Meara C, Eivers B, Lonergan P, Fair S. Comparison of plant- and egg yolk-based semen diluents on in vitro sperm kinematics and in vivo fertility of frozen-thawed bull semen. *Anim Reprod Sci* [Internet]. 2018;191:70–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.010>
36. Torres PJC. Evaluación de pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey utilizando optixcell más glicerol al 6 y 8 [Internet]. [Loja – Ecuador]: Universidad Nacional de Loja; 2025 [citado el 16 de julio de 2025]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/items/799f6440-41db-40d7-ab9d-a4a5dc9922a2>
37. Sieme H, Oldenhof H. Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2015;1257:277–87. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5\\_10](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5_10)
38. Carretero MI, Neild DM, Ferrante A, Caldevilla M, Arraztoa CC, Fumuso FG, et al. Effect of cryoprotectant and equilibration temperature on cryopreservation of Lama glama spermatozoa. *Andrologia* [Internet]. 2015;47(6):685–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/and.12319>
39. Sharma A, Sood P, Chaudhary J. Effect of different concentrations of glycerol in cryopreservation of gaddi goat semen [Internet]. *IVIS*. 2020 [citado el 16 de julio de 2025]. Disponible en: [https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-ofveterinary-andrology-vol-51-jan-jun-2020/effect-of-differentconcentrations-of-glycerol-cryopreservation-of-gaddi-goatsemen?utm\\_source=](https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-ofveterinary-andrology-vol-51-jan-jun-2020/effect-of-differentconcentrations-of-glycerol-cryopreservation-of-gaddi-goatsemen?utm_source=)
40. Küçük N, Aksoy M, Uçan U, Ahmad E, Naseer Z, Ceylan A, et al. Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. *Cryobiology* [Internet]. 2014;68(3):327–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.04.009>

41. Carretero MI, Neild DM, Ferrante A, Caldevilla M, Arraztoa CC, Fumuso FG, et al. Effect of cryoprotectant and equilibration temperature on cryopreservation of Lama glama spermatozoa. *Andrologia* [Internet]. 2015;47(6):685–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/and.12319>
42. Sharma A, Sood P, Chaudhary J. Effect of different concentrations of glycerol in cryopreservation of gaddi goat semen [Internet]. *IVIS*. 2020 [citado el 16 de julio de 2025]. Disponible en: [https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-ofveterinary-andrology-vol-51-jan-jun-2020/effect-of-differentconcentrations-of-glycerol-cryopreservation-of-gaddi-goatsemen?utm\\_source=](https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-ofveterinary-andrology-vol-51-jan-jun-2020/effect-of-differentconcentrations-of-glycerol-cryopreservation-of-gaddi-goatsemen?utm_source=)
43. Küçük N, Aksoy M, Uçan U, Ahmad E, Naseer Z, Ceylan A, et al. Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. *Cryobiology* [Internet]. 2014;68(3):327–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.04.009>
44. Dávila Newman G, El razonamiento inductivo y deductivo dentro del proceso investigativo en ciencias experimentales y sociales. *Lauro* [Internet]. 2006;12(Ext):180-205. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=76109911>
45. Cucho H. Efecto de la papaína en la cinética de los espermatozoides deAnimal 3, (Lama glama). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [Internet]. 2020 [citado el 16 de julio de 2025];31(4):1609–9117. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172020000400023&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172020000400023&script=sci_abstract&tlng=pt)
46. Rodriguez-Martinez H. Semen evaluation: can we forecast fertility? [Internet]. *Core.ac.uk*. 2006 [citado el 22 de julio de 2025]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/224979891.pdf>
47. Parker HM, McDaniel CD. The immediate impact of semen diluent and rate of dilution on the sperm quality index, ATP utilization, gas exchange, and ionic balance of broiler breeder sperm. *Poult Sci* [Internet]. 2006;85(1):106–

16. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/ps/85.1.106>
48. Brown BW. A review on reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci* [Internet]. 2000;58(3–4):169–95. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320\(99\)00081-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320(99)00081-0)
49. Singh AK, Kumar A, Honparkhe M, Kaur S, Kaur H, Ghuman S, et al. Comparison of in vitro and in vivo fertilizing potential of buffalo bull semen frozen in egg yolk-, soya bean lecithin- and liposome-based extenders. *Reprod Domest Anim* [Internet]. 2018;53(1):195–202. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/rda.13092>
50. Hameed N, Zubair M, Ahmad N, Durrani AZ, Khan MI-U-R. Effects of extender type and storage time on sperm quality parameters of Kail ram semen stored at 5 °C. *Trop Anim Health Prod* [Internet]. 2023;55(3):171. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-023-03594-4>
51. Agarwal A, Sharma RK, Gupta S, Boitrelle F, Finelli R, Parekh N, et al. Vitalidad espermática y necrozoospermia: Diagnóstico, tratamiento y resultados de una encuesta global de práctica clínica. *World J Mens Health* [Internet]. 2022;40(2):228–42. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5534/wjmh.210149>
52. Menon AG, Thundathil JC, Wilde R, Kastelic JP, Barkema HW. Validating the assessment of bull sperm morphology by veterinary practitioners. *Can Vet J*. 2011;52(4):407–8.
53. Davidson AP. El examen de solidez reproductiva en perros y gatos [Internet]. *Manual veterinario MSD*. 2025 [citado el 23 de julio de 2025]. Disponible en: <https://www.msdevetmanual.com/management-and-nutrition/management-of-reproduction-dogs-and-cats/the-breeding-soundness-examination-in-dogs-and-cats>
54. Andrology laboratory review: evaluation of sperm morphology [Internet]. *Clinicaltheriogenology.net*. [citado el 23 de julio de 2025]. Disponible en: <https://clinicaltheriogenology.net/index.php/CT/article/download/10600/17557?inline=1>

55. Khalil WA, El-Harairy MA, Zeidan AEB, Hassan MAE, Mohey-Elsaeed O. Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultrastructural insights. *Int J Vet Sci Med* [Internet]. 2018;6(Suppl):S49–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.11.001>
56. Bravo PW, Skidmoreb JA, Zhao XX. Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae [Internet]. Scispace.com. 2000 [citado el 22 de julio de 2025]. Disponible en: <https://scispace.com/pdf/reproductive-aspects-andstorage-of-semen-in-camelidae-p2vvs3x2d6.pdf>
57. Huanca M, Villanueva M. JC, Willian F, Hilari O. F, Uchuari P. M, Rodríguez G. F, et al. Efecto de la estación sobre las características seminales de alpacas (*Vicugna pacos*) criadas a nivel del mar. *Rev Investig Vet Peru* [Internet]. 2018 [citado el 22 de julio de 2025];29(2):559–64. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172018000200019](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000200019)
58. Pacheco Curie JI. Métodos de colección de semen en camélidos sudamericanos - Methods of semen collection in south american camelids [Internet]. Redalyc.org. 2008 [citado el 22 de julio de 2025]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63611397005.pdf>
59. Von Baer L. Hellemann C. Variables seminales en llama (*Lama glama*) [Internet]. Scielo.cl. 1998 [citado el 22 de julio de 2025]. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X1998000200019](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000200019)
60. The jamovi project (2024). *jamovi*. (Version 2.6) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>.
61. R Core Team (2024). *R: A Language and environment for statistical computing*. (Version 4.4) [Computer software]. Retrieved from <https://cran.r-project.org>. (R packages retrieved from CRAN snapshot 2024-08-07).
62. Fox, J., & Weisberg, S. (2023). *car: Companion to Applied Regression*. [R package]. Retrieved from <https://cran.r-project.org/package=car>.

63. Lenth, R. (2023). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*. [R package]. Retrieved from <https://cran.rproject.org/package=emmeans>.
64. Revelle, W. (2023). *psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research*. [R package]. Retrieved from <https://cran.rproject.org/package=psy>