

## Factores que influyen en la inseminación artificial con semen fresco en alpacas (*Vicugna pacos*)

### Factors that influence artificial insemination with fresh semen in alpacas (*Vicugna pacos*)

Wilber Garcia Vera<sup>1\*</sup>, Joel Pacheco Curie<sup>1</sup>, Nuvia Catacora Flores<sup>2</sup>,  
Nilton Cardenas Suares<sup>3</sup>

#### RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar factores que afectan la fertilidad de la inseminación artificial (IA) con semen fresco diluido en alpacas. En el Exp. 1 se inseminaron hembras con folículo preovulatorio con diámetros  $\geq 7$ - $\leq 9$  o  $\geq 10$ - $\leq 12$  mm; en el Exp. 2 se inseminaron a las 24, 26, 28 y 30 h pos-inducción de ovulación; en el Exp. 3 se inseminaron con semen en cuatro concentraciones: 15, 25, 35 y  $45 \times 10^6$  espermatozoides/ml; y en el Exp. 4, utilizando los mejores resultados de los experimentos previos se inseminaron 350 alpacas en dos comunidades campesinas. El semen se colectó por el método pos-cópula, utilizando eyaculados con motilidad  $>60\%$ , diluidos en Tris-glucosa-ácido cítrico y yema de huevo. Para la IA se seleccionaron alpacas con folículo preovulatorio  $\geq 7$  mm. La inducción de la ovulación se hizo con un análogo de GnRH y el diagnóstico de gestación se hizo a los 30 días del servicio. La tasa de preñez no se afectó por el tamaño folicular. La IA de 24 a 26 h pos-inducción de la ovulación obtuvo una mayor tasa de preñez (50 y 55%, respectivamente;  $p < 0.05$ ) en comparación con las inseminadas a las 28 y 30 h (35 y

<sup>1</sup> Estación Marangani del Instituto de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA), Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú

<sup>3</sup> Escuela Profesional de Medicina Veterinaria-, Universidad Nacional San Antonio de Abad del Cusco, Perú

\* Autor de correspondencia: Wilber Garcia Vera; [wgarcia@unmsm.edu.pe](mailto:wgarcia@unmsm.edu.pe)

Recibido: 26 de julio de 2023

Aceptado para publicación: 1 de septiembre de 2024

Publicado: 31 de octubre de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

30%). La IA con  $15 \times 10^6$  espermatozoides/ml resultaron en bajas tasas de preñez (30%) en comparación con 35 y  $45 \times 10^6$  espermatozoides/ml (50 y 55%, respectivamente). En las comunidades alpaqueras se obtuvo 55% de preñez. Los resultados sugieren que el éxito de la IA con semen fresco en alpacas depende en gran medida de la dosis de espermatozoides y el momento de la inseminación.

**Palabras clave:** alpaca, inseminación artificial, semen fresco

## ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate factors that affect the fertility of artificial insemination (AI) with fresh diluted semen in alpacas. In Exp. 1, females with preovulatory follicles with diameters  $\geq 7$ - $<9$  or  $\geq 10$ - $\leq 12$  mm were inseminated; in Exp. 2 the females were inseminated at 24, 26, 28 and 30 h after ovulation induction; In Exp. 3, alpacas were inseminated with semen at four concentrations: 15, 25, 35 and  $45 \times 10^6$  sperm/ml; and in Exp. 4, using the best results from the previous experiments, 350 alpacas were inseminated in two peasant communities. Semen was collected by the post-copulatory method, using ejaculates with motility  $\geq 60\%$ , diluted in Tris-glucose-citric acid and egg yolk. Alpacas with preovulatory follicles  $\geq 7$  mm were selected for AI. Ovulation induction was done with a GnRH analogue and pregnancy diagnosis was made 30 days after service. Pregnancy rate was not affected by follicular size. AI 24 to 26 h after ovulation induction obtained a higher pregnancy rate (50 and 55%, respectively;  $p < 0.05$ ) compared to those inseminated at 28 and 30 h (35 and 30%). AI with  $15 \times 10^6$  sperm/ml resulted in low pregnancy rates (30%) compared to 35 and  $45 \times 10^6$  sperm/ml (50 and 55%, respectively). In the peasant communities, 55% pregnancy rate was obtained. The results suggest that the success of AI with fresh semen in alpacas is highly dependent on sperm dose and timing of insemination.

**Key words:** alpaca, artificial insemination, fresh semen

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) se utiliza habitualmente en muchas especies domésticas, como en el vacuno, ovino y equino, ya que ofrece la oportunidad de aumentar la productividad general de los machos genéticamente superiores, aumentando así la tasa de progreso genético (Skidmore *et al.*, 2018). En el caso de los camélidos sudamericanos (CSA), la primera aplicación de la IA en alpacas en Perú fue realizada por Fernández-Baca y Novoa (1968) utilizando semen fresco entero de vicuña (*Vicugna vicugna*) con resultados positivos. Estudios posteriores re-

portaron tasas de gestación con grandes diferencias entre semen fresco y conservado (Burgel *et al.*, 2000; Aller *et al.*, 2003; Alarcón *et al.*, 2012; Giuliano *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2013; Stuart y Bathgate, 2015; García *et al.*, 2017, 2020). Diferencias debidas principalmente a complicaciones asociadas con la recolección de semen, el comportamiento sexual del macho, la calidad del semen producido (bajo volumen, baja concentración y alta viscosidad), conocimiento limitado del tiempo óptimo de inseminación y de la concentración por dosis, así como la falta de una técnica estándar de almacenamiento (Morton *et al.*, 2008; Bravo *et al.*, 2013; Giuliano, 2015).

En este contexto, la IA requiere un tiempo preciso después de la inducción de la ovulación para lograr altas tasas de concepción. En un estudio inicial, la mayor proporción de óvulos fertilizados resultó cuando la IA intrauterina en las alpacas se hizo entre las 35 y 45 horas después de la inducción de la ovulación usando un macho vasectomizado o hCG intramuscular (Calderón *et al.*, 1968). Más recientemente, la IA con semen fresco de 24-36 h después de la inducción de la ovulación ha dado lugar a tasas de concepción aceptables (De la Vega, 1996; Aller *et al.*, 2003; Alarcón *et al.*, 2012; Giuliano *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2013; García *et al.*, 2017, 2020), pero aún se tiene una escasez de detalles con respecto a los métodos empleados para lograr altos porcentajes de preñez.

De igual manera, la dosis de espermatozoides requerida para la fertilización y gestación exitosa no se conoce para los CSA (Brown, 2000). Se han obtenido gestaciones en alpacas y llamas después de la inseminación intrauterina con dosis entre 4 y 52 millones de espermatozoides fresco diluido (Aller *et al.*, 1999, 2003; Giuliano *et al.*, 2006, 2012; Alarcón *et al.*, 2012; Ordóñez *et al.*, 2013; García *et al.*, 2017; García y Alarcón, 2019).

Para facilitar la aplicación con éxito de la IA en alpacas, se debe conocer el diámetro folicular preovulatorio adecuado, el momento y la dosis de IA. El presente estudio tuvo como objetivo investigar el efecto de estos factores en el éxito de la IA en alpacas en un esfuerzo por mejorar las tasas de gestación con semen fresco.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de Estudio y Animales

El presente estudio se llevó a cabo en los meses de la época reproductiva (enero-marzo) de los años 2019, 2020 y 2021 en el Fundo La Raya del Centro de Investigación

IVITA, sede Maranganí, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) y en las comunidades de Occobamba y Quisini, distrito de Maranganí, región Cusco, Perú, a una altitud entre 4350 a 4500 msnm.

Se seleccionaron 475 alpacas hembra de 3 a 7 años sin problemas reproductivos al examen ecográfico transrectal, con descanso posparto mínimo de 20 días y condición corporal de 2.5 a 3.5 (escala de 1 a 5). Se utilizaron 10 machos de cuatro o más años del rebaño de reproductores, previa evaluación del aparato reproductor.

### Colección de Semen

Las muestras de semen fueron colectadas por el método pos-cópula con una frecuencia de 2 veces por semana de cada macho, de acuerdo con lo descrito por García y Alarcón (2019). Las hembras utilizadas para la colección de semen no fueron parte del grupo de las hembras seleccionadas. Brevemente, se realizó el empadre controlado y al término de la cópula se sujetó a la hembra para recolectar el semen introduciendo un espéculo hasta el fondo de la vagina. El semen, mezclado con fluidos vaginales, fue colectado en un tubo colector de 15 ml adosado al espéculo, y mantenido a 30 °C. El semen fue diluido 1:1 a 1:4 (muestra: dilutor) con el dilutor (Tris 3.03 g, fructuosa 1.25 g, ácido cítrico dihidratado 1.70 g, tilosina 10.0 mg, gentamicina 50 mg, lincomicina 180 mg, agua bidestilada 100 ml) y 20% de yema de huevo (García *et al.*, 2017).

La viscosidad del semen se disminuyó manualmente a temperatura ambiente mediante pipeteo suave intermitente durante 10 a 20 min, dependiendo de la viscosidad (Morton *et al.*, 2008). En las muestras diluidas se evaluó la motilidad, aceptando eyaculados con motilidad igual o mayor a 60%, de color rojo claro o blanco lechoso. El semen fue mantenido a 30 °C hasta el momento de la inseminación.

## Características del Semen

Se determinaron las siguientes características macroscópicas y microscópicas del semen fresco:

- Volumen. Medido en un tubo graduado.
- Concentración de espermatozoides. Se utilizó de la cámara de Neubauer mejorada. La muestra de semen fue diluida en 1:20 en solución de NaCl al 3%. Se colocó 10  $\mu$ l de la solución a cada lado de la cámara y se realizó el conteo. El resultado se expresó en número de espermatozoides/ml. Resultados con  $\geq 10\%$  de diferencia se repitieron (García y Pacheco 2022).
- Motilidad espermática, Según lo descrito por Evans y Maxwell (1987). Los resultados se expresaron en porcentaje.
- Porcentaje de viabilidad. Se determinó mediante el EasyKit de viabilidad y concentración (IMV Technologies 024708), utilizando el método descrito por García *et al.*, (2022). Las evaluaciones se realizaron mediante el citómetro de flujo Guava easyCyte 12HT (Luminex, EE. UU.) con el programa Guava Clean 3.0.

## Inseminación Artificial

En todas las alpacas seleccionadas, con y sin cría, se evaluó por dos días consecutivos el desarrollo folicular. A los animales que presentaron un folículo preovulatorio  $\geq 7$  mm, identificado mediante un ecógrafo portátil Chison (ECO 6VET- China) y transductor transrectal de 7.5 MHz, se les administró 1 ml de un análogo de GnRH (8.4  $\mu$ g de acetato de busserelina) (Conceptase®, Agrovvet Market, Perú), vía IM, para la inducción de ovulación (Bravo *et al.*, 2013).

La IA se realizó con la técnica reportada por García y Alarcón (2019), en posición de pie sujetadas en un brete o por un ayudante que sujete del cuello y otro de la cola del animal. La región vulvar se limpió con papel toalla y se aplicó vaselina al espéculo equipado con una fuente de luz. Este se introdujo en la vagina hasta localizar el orificio de entrada

al cérvix. Con una pipeta de inseminación de vacunos cargada con 1 ml de semen fresco diluido ( $15-45 \times 10^6$  espermatozoides/ml) (según grupo experimental) se pasó el cérvix depositando el semen dentro de la luz uterina. La gestación se diagnosticó por ultrasonografía transrectal a los 30 días de la inseminación.

## Diseño Experimental

### Experimento 1

Tuvo como objetivo evaluar el efecto del diámetro folicular preovulatorio en el momento de la inducción de la ovulación sobre el porcentaje de gestación. Para la selección de las hembras (madres con y sin cría) se realizaron evaluaciones ecográficas por dos días consecutivos para determinar el estadio de desarrollo folicular (entre  $\geq 7$  a  $\leq 9$  mm y  $\geq 10$  a  $\leq 12$  mm). En base a estas mediciones, los animales fueron asignados a uno de los siguientes grupos:

- A (n=28): madres sin cría con folículo dominante (diámetro  $\geq 7$  a  $\leq 9$  mm).
- B (n=25): madres sin cría con folículo dominante (diámetro  $\geq 10$  a  $\leq 12$  mm).
- C (n=37): madres con cría con folículo dominante (diámetro  $\geq 7$  a  $\leq 9$  mm).
- D (n=25): madres con cría con folículos dominante (diámetro  $\geq 10$  a  $\leq 12$  mm)

La IA se llevó a cabo entre el 24 y 30 h después de la inducción a la ovulación con acetato de busserelina con una dosis de  $30 \times 10^6$  de espermatozoides/ml.

### Experimento 2

Tuvo como objetivo evaluar la fertilidad en alpacas inseminadas con semen fresco diluido a 24, 26, 28 y 30 h pos-inducción de la ovulación. Se utilizaron 80 hembras adultas con presencia de folículo preovulatorio  $\geq 7$  mm de diámetro detectado por ecografía transrectal ovárica por dos días consecutivos. La inducción de la ovulación se hizo con acetato de busserelina. La inseminación se realizó con semen fresco diluido ( $30 \times 10^6$

espermatozoides/ml); a las 24 h (n = 20), 26 h (n = 20), 28 h (n = 20) y 30 h (n = 20) pos-inducción de la ovulación.

### *Experimento 3*

Tuvo como objetivo evaluar la fertilidad en alpacas inseminadas con semen fresco a cuatro concentraciones de espermatozoides. Se seleccionaron 80 hembras adultas con folículo preovulatorio ( $\geq 7$  mm) de diámetro. Las hembras fueron inseminadas entre 24 y 26 h después de la inducción a la ovulación con acetato de buserelina. Se utilizó semen fresco diluido (1 ml) a concentración de:  $15 \times 10^6$  (n = 20),  $25 \times 10^6$  (n = 20),  $35 \times 10^6$  (n = 20),  $45 \times 10^6$  (n = 20) de espermatozoides/ml.

### *Experimento 4*

Tuvo como objetivo evaluar la fertilidad en alpacas inseminadas con semen fresco en dos comunidades alpaqueras. La colección de semen se realizó de 10 machos por el método de pos-cópula. Para la IA se utilizaron 200 hembras adultas de las comunidades de Occobanba (100) y Quisini (100). Las alpacas con folículo preovulatorio ( $\geq 7$  mm) de diámetro identificado por ultrasonografía transrectal ovárica se inseminaron entre 24 y 26 h después de la inducción a la ovulación con la administración de acetato de buserelina. Se utilizó una dosis de 35-45 x  $10^6$  de espermatozoides/ml por animal que se depositó en el cuerpo del útero.

### **Análisis Estadístico**

Se utilizó estadística descriptiva para el volumen del eyaculado y la concentración espermática. Los porcentajes de motilidad, viabilidad e integridad de membrana plasmática fueron transformados a valores angulares con el arc-sen para acercar los datos a la distribución normal. Para evaluar el porcentaje de gestación de los experimentos 1, 2 y 3 se utilizó una regresión logística con el procedimiento Genmod del SAS v 9.1. En el experimento 4 se empleó la prueba de

Chi cuadrado para determinar diferencias en el porcentaje de gestación.

## RESULTADOS

La evaluación seminal del semen fresco de 10 machos que se utilizaron para inseminar a las alpacas en los experimentos indicó (promedio  $\pm$  DE) un volumen de  $3.1 \pm 2.5$  ml, motilidad de  $63.8 \pm 10.5\%$ , viabilidad de  $65.3 \pm 11.2\%$ , integridad funcional de membrana plasmática de  $52.4 \pm 9.5\%$ , concentración de  $95.3 \pm 25.8$  millones de espermatozoides/ml.

### *Experimento 1*

No se observó un significativo efecto del tamaño folicular sobre la tasa de preñez (Cuadro 1), habiendo un mayor porcentaje de preñez (56%) en el grupo D (folículo de 10 a 12 mm y sin diferencias significativas entre los demás grupos).

### *Experimento 2*

En las alpacas inseminadas en cuatro momentos pos-inducción de la ovulación (Cuadro 2) se encontró una mayor tasa de preñez (50 y 55%;  $p < 0.05$ ) en las que fueron inseminadas a las 24 y 26 h de la inducción de la ovulación en comparación con las inseminadas 28 y 30 h (35 y 30%) pos-inducción de la ovulación.

### *Experimento 3*

La tasa de preñez fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en hembras inseminadas con semen fresco diluido a  $45 \times 10^6$  espermatozoides/ml (55%) respecto a las concentraciones de 15 y  $25 \times 10^6$  espermatozoides/ml (30 y 40%, respectivamente). Por otra parte, no hubo diferencias en la tasa de preñez ( $p > 0.05$ ) entre las concentraciones de 15 a 25 y  $35 \times 10^6$  espermatozoides/ml, ni entre 35 a  $45 \times 10^6$  espermatozoides/ml (Cuadro 3).

Cuadro 1. Efecto del diámetro folicular preovulatorio en el momento de la inducción de la ovulación sobre el porcentaje de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco

Grupos	Tamaño folicular (mm)	Alpacas inseminadas (n)	Alpacas preñadas	
			n	%
A (con cría)	7 a 9	28	14/28	50.0 <sup>al</sup>
B (Sin cría)	10 a 12	25	13/35	52.0 <sup>a</sup>
C (Con cría)	7 a 9	37	18/37	48.6 <sup>a</sup>
D (Sin cría))	10 a 12	25	14/25	56.0 <sup>a</sup>
Total		115	59/115	51.3

<sup>a</sup> Letras iguales en la misma columna indican ausencia de diferencia significativa ( $p > 0.05$ )

Cuadro 2. Porcentaje de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco a cuatro tiempos pos-inducción de ovulación

Inseminación pos-inducción (h)	Alpacas inseminadas <sup>1</sup> (n)	Alpacas preñadas	
		n	%
24	20	10	50 <sup>b</sup>
26	20	11	55 <sup>b</sup>
28	20	7	35 <sup>a</sup>
30	20	6	30 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Dosis:  $30 \times 10^6$  espermatozoides/ml

<sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma columna representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Cuadro 3. Porcentaje de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco en cuatro diluciones a las 24-26 h pos-inducción de ovulación

Dosis de semen ( $\times 10^6$ )	Alpacas inseminadas (n)	Alpacas preñadas	
		n	%
15	20	6	30 <sup>a</sup>
25	20	8	40 <sup>a</sup>
35	20	10	50 <sup>ab</sup>
45	20	11	55 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma columna representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

#### Experimento 4

Los resultados de la IA en las alpacas en los meses de enero, febrero y marzo de 2020 y 2021 fueron similares en las comunidades de Occobamba y Quisini (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de preñez en alpacas inseminadas con semen fresco diluido en las comunidades alpaqueras de Occobamba y Quisini del distrito de Marangani (Cusco, Perú)

Comunidades alpaqueras	Inseminadas (n)	Preñadas (n)	
		n	%
Occobamba	100	54/100	54 <sup>a</sup>
Quisini	100	56/100	56 <sup>a</sup>
Total	200	165/200	55 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Letra igual en la misma columna indica ausencia de diferencia significativa ( $p > 0.05$ )

## DISCUSIÓN

Los parámetros de calidad seminal fueron similares a otros reportes en colecciones seminales obtenidos por pos-cópula (Murillo *et al.*, 2018; García *et al.*, 2017, 2020, 2022).

Sin embargo, los valores de volumen, motilidad y viabilidad fueron superiores a los reportados en semen colectado por vagina artificial y electroeyaculación (Morton *et al.*, 2008; Gonzáles *et al.*, 2011; Ordóñez *et al.*, 2013; Choez *et al.*, 2017). Por otro lado, se conoce que estos parámetros presentan alta variabilidad entre alpacas, entre eyaculados del mismo reproductor, duración de la cópula, época del año, edad, y frecuencia y método de colección (Aller *et al.*, 2003; Tibary y Vaughan, 2006; Giuliano *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2013; Stuart y Bathgate, 2015; Tibary y Anouassi, 2018).

No se encontró diferencias significativas en el porcentaje de preñez entre alpacas con y sin cría (Cuadro 1) por efecto del diámetro folicular preovulatorio. Contrariamente, Skidmore *et al.* (1996) aplicando 20 µg un análogo de GnRH en camellas obtuvieron 80 y 85% de ovulación con folículos preovulatorio de 10 y 19 mm de diámetro, disminuyendo a 12.5% con folículos de 20 a 29 mm. Estudios más recientes en dromedarios (*Camelus dromedarius*) indican que el mejor momento para inseminar es cuando el folículo mide entre 12 y 18 mm de diámetro (Skidmore y Billah, 2006; Anouassi y Tibary, 2010), alcanzando tasas de preñez de 7 a 58%. Estas respuestas ovulatorias y de fertilidad de las alpacas y camellos dromedarios indican un comportamiento reproductivo diferente entre estas especies con ondas foliculares de 11 a 12 días y 7 a 12 mm de tamaño folicular preovulatorio en la alpaca (Bravo *et al.*, 1990) y de 17 a 25 días y 10 a 30 mm de tamaño folicular preovulatorio en la camella (Skidmore *et al.*, 1996).

El experimento 2 demostró una mayor tasa de preñez cuando las alpacas fueron inseminadas a las 24 y 26 h pos-inducción de la ovulación en comparación con inseminaciones a las 28 y 30 h (Cuadro 2;  $p < 0.05$ ). La razón principal de esta diferencia en los resultados del presente estudio se debería al intervalo entre el apareamiento y la ovulación o la administración de hormonas exógenas como el agonista de la hormona

liberadora de gonadotropina (GnRH), buserelina (Ratto *et al.*, 2005), gonadotropina coriónica humana (Bourke *et al.*, 1992), LH (Adams y Ratto, 2013) o GnRH (Huanca *et al.*, 2001) quienes promedian el intervalo de ovulación a las 30 h, pero van desde 26 h (San-Martin *et al.*, 1968) hasta 72 h (Adam *et al.*, 1992). Sin embargo, en un estudio más reciente donde los ovarios de las alpacas fueron monitoreados mediante ultrasonografía transrectal a intervalos regulares de 2 h, desde las 20 a 45 horas después de la inducción de la ovulación con acetato de Buserelina o el factor de crecimiento nervioso tipo  $\beta$  purificado ( $\beta$ -NGF) hasta el momento de la ovulación; demostraron que el intervalo medio general es de  $26,2 \pm 1,0$  h (Stuart y Bathgate, 2015). Complementado a las diferencias en el manejo del semen, cantidad y calidad de espermatozoides por dosis y el sitio de inseminación (Morton *et al.*, 2008; Giuliano *et al.*, 2012; Skidmore *et al.*, 2018). El presente estudio ha demostrado que la IA debe realizarse 24 – 26 h después de la inducción a la ovulación cuando se utiliza semen pos-cópula.

La dosis seminal necesaria para una fecundación y preñez satisfactoria no se conoce en los CSA (Brown, 2000). Las ovejas requieren 100 millones de espermatozoides frescos usando IA cervical, pero solo 20 millones de espermatozoides descongelados cuando se utiliza inseminación intrauterina (Evans y Maxwell, 1987). En el presente estudio, la tasa de preñez se vio afectada por el número de espermatozoides usados para la inseminación (Cuadro 3), lográndose una mejor respuesta al inseminar con dosis de  $35$  a  $45 \times 10^6$  espermatozoides/ml (50 y 55%, respectivamente). Estudios previos en alpacas y llamas han reportado dosis que varían entre 12 y 52 millones de espermatozoides frescos en IA por vía transcervical logrando obtener tasas de preñez de 0 a 75% (Aller *et al.*, 1999, 2003; Giuliano *et al.*, 2006, 2012; Alarcón *et al.*, 2012; Ordóñez *et al.*, 2013; García *et al.*, 2017; García y Alarcón, 2019). Estos resultados estarían influenciados por el número de espermatozoides móviles inseminados, como por el sitio y momento de inse-

minación (Bravo *et al.*, 2013; Bashawat *et al.*, 2021). El número mínimo de espermatozoides para la inseminación en alpacas fue estudiado por Bravo *et al.* (1999), al utilizar semen fresco diluido y tratados con tripsina o colagenasa para reducir la viscosidad y realizando IA intrauterina profunda, logrando tasas de preñez de 53.3% con 4 millones de espermatozoides/ml, 66.7% con 8 millones y 61.5% con 12 millones. Desafortunadamente, estos resultados no han sido replicados por ningún otro investigador.

La inseminación a 200 alpacas en las comunidades del sur del Perú dio como resultado 55% de preñez. En este sentido, Apaza *et al.* (2001), inseminando 207 alpacas en comunidades de la región Puno, Perú, con semen fresco diluido obtuvieron 51% de preñez, en tanto que García (2015) en comunidades peruanas de la región Cusco y Arequipa reportó tasas de preñez de 50.2 y 41.5%, respectivamente. Los mejores resultados obtenidos en el presente estudio se deberían a la calidad del semen colectado, al tiempo de inseminación en relación con la inducción de la ovulación y la dosis de inseminación (Giuliano *et al.*, 2006, 2012; Bravo *et al.*, 2013; Bashawat *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONES

- Los resultados sugieren que el diámetro del folículo preovulatorio en la alpaca al momento de la inseminación artificial no afecta el porcentaje de preñez en las alpacas, siempre y cuando sean superiores a 7 mm.
- La inseminación con semen fresco en concentración de 35 a 45x10<sup>6</sup> espermatozoides/ml permitió obtener tasas de preñez mayores de 50%, pero realizando el servicio a las 24-26 h pos-inducción de la ovulación.

## LITERATURA CITADA

1. **Adam CL, Bourke DA, Kyle CE, Young P, Mcevoy TG 1992.** Ovulation and embryo recovery in the llama. In: Proc First International Camel Conference. Dubai,
2. **Adams G, Ratto M. 2013.** Ovulation-inducing factor in seminal plasma: a review. *Anim Reprod Sci* 136: 148-156. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.004
3. **Alarcón V, García W, Bravo, W. 2012.** Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Rev Inv Vet Perú* 23: 58-64.
4. **Aller J, Cancino A.K, Rebuffi G.E, Alberio R.H, 1999.** Inseminación artificial en llamas en la Puna. In: Actas II Congreso Mundial sobre Camélidos, Cusco, Perú.
5. **Aller J, Rebuffi G, Cancino A, Alberio R. 2003.** Influencia de la criopreservación sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*). *Arch Zootec* 52: 15-23.
6. **Anouassi A, Tibary A. 2010.** Effect of volume and timing of induction of ovulation on conception rate following deep horn insemination in camels (*Camelus dromedarius*). *Clin Theriogenology* 2: 392.
7. **Apaza N, Sapana R, Huanca T, Huanca W. 2001.** Inseminación artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. *Rev Inv Vet Perú* 1: 435-438.
8. **Bashawat M, Hensel B, Müller K, Schulze M. 2021.** Cooled storage of semen from livestock animals (Part II): Camelids, goats, and sheep. *Anim Reprod Sci* 234: 106855. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106855
9. **Bourke DA, Adam CL, Kyle CE, McEvoy TG, Young P. 1992.** Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: Proc 12th International Congress on Animal Reproduction. The Hague.

10. **Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH. 1990.** Endocrine response in the llama to copulation. *Theriogenology* 33: 891-899. doi: 10.1016/0093-691x(90)-90824-d
11. **Bravo W, Pacheco C, Quispe G, Vilcapaza L, Ordonez C. 1999.** Degelification of alpaca semen and the effect of dilution rates on artificial insemination outcome. *Arch Andrology* 43: 239-246. doi: 10.1080/014850199262562
12. **Bravo W, Alarcon V, Baca L, Cuba Y, Ordoñez C, Salinas J, Tito F. 2013.** Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American camelids. *Anim Reprod Sci* 136: 157-163. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.005
13. **Brown BW. 2000.** A review on reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 58: 169-195.
14. **Burgel H, Erhardt G, Gaulty M. 2000.** Cryopreservation of llama (*Lama glama*) semen. *Reprod. Domest Anim* 35: 95-96. doi: 10.1111/j.1439-0531.-1999.tb01390.x
15. **Calderón W, Sumar J, Franco E. 1968.** Avances en la inseminación artificial de las alpacas. *Rev Fac Med Vet. UNMSM* 22: 19-35.
16. **Choez K, Ruiz L, Sandoval R, Evangelista S, Santiani A. 2017.** Determinación de la concentración óptima de tres crioprotectores para la criopreservación de espermatozoides epididimarios de alpaca. *Rev Inv Vet Perú* 28: 619-628 doi: 10.15381/rivep.v28i3.13367
17. **De la Vega D. 1996.** Efecto de la concentración espermática y la hora de inseminación artificial con semen fresco sobre el porcentaje de gestación en alpacas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Puno, Perú: Univ. Nacional del Altiplano.
18. **Evans G, Maxwell W.M.C. 1987.** Artificial insemination of sheep and goats. Sydney, Australia: Butterworths. 194 p.
19. **Fernández-Baca S, Novoa C. 1968.** Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña (*Vicugna vicugna*). *Rev Fac Med Vet. UNMSM-Lima* 22: 9-18.
20. **García W. 2015.** Nueva metodología de colección de semen e inseminación artificial en alpacas y llamas. En: VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. Puno, Perú.
21. **García W, Alarcón V, Bravo W. 2017.** Inseminación artificial de alpacas con semen refrigerado y con inclusión de dos tipos de yema de huevo. *Rev Inv Vet Perú* 28: 337-344. doi: 10.15381/rivep.-v28i2.13080
22. **García W, Alarcón B. 2019.** Efecto de la inseminación artificial con semen fresco, con uno y dos servicios, en la fertilidad y natalidad de las alpacas. *Rev Inv Vet Perú* 30: 760-767. doi: 10.15381/rivep.v30i2.16072
23. **García W, Maxi E, Macedo V, Mendoza E, Cardenas N, Malaga J. 2020.** Efecto de dos métodos de criopreservación sobre la calidad seminal y tasa de preñez en alpacas inducidas a ovulación con plasma seminal. *Spermova* 10: 74-80. doi: 10.18548/asp/0008.11
24. **García W, Macedo V, Mendoza E, Catacora N, Malaga M. 2022.** Efecto del tipo de crioprotector y temperatura de equilibrio en la criopreservación de los espermatozoides de alpaca (*Vicugna pacos*). *Spermova* 12: 14-20. doi: 10.18548/asp/0010.03
25. **García W, Pacheco J. 2022.** Manual de inseminación artificial en alpacas. Lima, Perú: CONCYTC-BANCO MUNDIAL. 72 p
26. **Giuliano S. 2015.** Nuevos avances en la congelación de semen de camélidos sudamericanos. En: VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. Puno-Perú.
27. **Giuliano S, Chaves M, Director A, Trasorras V, Miragaya M. 2006.** Inseminación artificial con semen refrige-

- rado en llamas. Resultados preliminares. En: IV Congreso Mundial sobre Camélidos, Santa María, Argentina.
28. **Giuliano S, Chavez M, Trasorras V, Gambarotta M, Neild D, Director A, Pinto M, Miragaya M. 2012.** Development of an artificial insemination protocol in llamas using cooled semen. *Anim Reprod Sci* 131: 204-210. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.03.010
  29. **González M, Huanca T, Cárdenas O. 2011.** Evaluación de la fertilidad en alpacas inseminadas con semen refrigerado a diferentes tiempos post inducción de ovulación. *Spermova* 1: 102-103.
  30. **Huanca W, Cardenas O, Olazabal C, Ratto M, Adams G. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev Inv Vet Perú* 1: 462-463.
  31. **Morton K, Vaughan J, Maxwell W. 2008.** The continued development of artificial insemination technology in alpacas. Australia; Rural Industries Research and Development Corporation. [Internet]. Available in: [https://www.alpacaconsultingusa.com/library/artificial\\_insemination.pdf](https://www.alpacaconsultingusa.com/library/artificial_insemination.pdf)
  32. **Murillo Y, Calsin B, Huanca T. 2018.** Tasa de fertilidad a la inseminación artificial y mérito económico en alpacas huacaya. *Rev Inv Escuela Posgrado UNA* 7: 717-727. doi: 10.26788/riepg.-2018.3.94
  33. **Ordóñez C, Cucho H, Ampuero E, Antezana W, Cayo S. 2013.** Inseminación artificial de alpacas con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por electroeyaculación. *Spermova* 3: 65-66.
  34. **Ratto M, Huanca W, Singh J, Adams G. 2005.** Comparison of the effect of natural mating, LH, and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Anim Reprod Sci* 91: 299-306. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.03.015
  35. **San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodriguez R, Bustinza G, Acosta L. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 16: 395-399. doi: 10.1530/jrf.0.0160395
  36. **Skidmore J, Billah M, Allen W. 1996.** The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non-mated onehumped camel (*Camelus dromedarius*). *J Reprod Fertil* 106: 185-192. doi: 10.1530/jrf.0.1060185
  37. **Skidmore J, Billah M. 2006.** Comparison of pregnancy rates in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) after deep intrauterine versus cervical insemination. *Theriogenology* 66: 292-296. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.-11.013
  38. **Skidmore J, Malo C, Crichton E, Morrell J, Pukazhenthil B. 2018.** An update on semen collection, preservation and artificial insemination in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Anim Reprod Sci* 194: 11-18. doi: 10.1016/j.anireprosci.2018.03.013
  39. **Stuart C, Bathgate R. 2015.** Advancing assisted reproductive technologies in camelids (especially the alpaca). In: *AgriFutures Australia*. [Internet]. Available in: <https://agrifutures.com.au/wp-content/uploads/publications/15-067.pdf>
  40. **Tibary A, Anouassi A. 2018.** Challenges in the development of artificial insemination in the dromedary camel. *Rev Mar Sci Agron Vt* 6: 178-188.
  41. **Tibary A, Vaughan J. 2006.** Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: a review and clinical observations. *Small Ruminant Res* 61: 283-298. doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.07.018