



Influencia de dos voltajes de electroeyaculación en la calidad seminal de alpacas (*Vicugna pacos*) Influence of two electroejaculation voltages on the seminal quality of alpacas (*Vicugna pacos*)

García-Díaz Juan Ramón^{1*}, Chicaiza Sánchez Luis Alonso² , Garzón Jarrin Rafael Alfonso² ,
Masabanda-Soria Eddy Bryan²

Datos del Artículo

¹Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Carretera a Camajuani Km 5 ½ Santa Clara.
CP 54830, Santa Clara.
Villa Clara, Cuba.

²Universidad Técnica de Cotopaxi.
Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos
Naturales.
Av. Simón Rodríguez s/n Barrio El Ejido Sector
San Felipe.
Tel: (593) 03 2252205/2252307/2252346.
CAREN: 2266164
Latacunga - Ecuador.

*Dirección de contacto:
Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Carretera a Camajuani Km 5 ½ Santa Clara.
CP 54830, Santa Clara.
Villa Clara, Cuba.

Juan Ramón García-Díaz
E-mail address: juanramon@uclv.edu.cu

Palabras clave:

Eyaculado,
volumen,
motilidad,
concentración espermática,
morfología espermática,
alpacas.

J. Selva Andina Anim. Sci.
2022; 9(1):15-22.

ID del artículo: 109/JSAAS/2021

Historial del artículo.

Recibido noviembre 2021.
Devuelto febrero 2022.
Aceptado marzo 2022.
Disponible en línea, abril 2022.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Keywords:

Ejaculate,
volume,
motility,
sperm concentration,
sperm morphology,
alpacas.

Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia de dos voltajes en los protocolos de electroeyaculación en la calidad seminal de alpacas (*Vicugna pacos*). Se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Reproducción, Centro Experimental Académico Salache, Universidad Técnica de Cotopaxi. Se utilizaron 8 alpacas machos y de cada uno se colectaron dos eyaculados con una frecuencia semanal, uno mediante el protocolo EE que usó varios estímulos de 10 V, y en el otro mediante un protocolo donde los estímulos fueron de 12 V. El volumen del eyaculado se determinó por observación directa en probeta graduada, la concentración; motilidad, viabilidad y morfología espermática mediante cámara de Neubauer, microscopio masal DM4B Y DM6B a 10X, tinción Eosina-Nigrosina y observación de la tinción semen-eosina, respectivamente. Se compararon el volumen, la concentración de los eyaculados, motilidad, patologías seminales según el protocolo de EE mediante la prueba de t-Student para muestras independientes. El volumen de los eyaculados fue 0.75±0.20 y 1.10±0.39 mL, la concentración 2.12±1.93 y 2.25±1.89 (x10⁶), la motilidad masal los espermatozoides 81.25±11.81 % y 80.00±14.14 %, la mortalidad 17.50±9.57 y 15.00±10.80 %, las morfoanomalías 12.50±6.45 y 13.50±8.01 % en los animales que recibieron la electroeyaculación con 10 y 12 V, respectivamente. No existieron diferencias significativas (p > 0.05) en los parámetros seminales evaluados según el voltaje utilizado en el protocolo de eyaculación. Se concluye que el incremento del voltaje en el protocolo de electroeyaculación no tuvo influencia en los parámetros de calidad seminal de alpacas.

2022. *Journal of the Selva Andina Animal Science*®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the influence of two voltages in the electroejaculation protocols on the seminal quality of alpacas (*Vicugna pacos*). It was developed in the Reproductive Biotechnology Laboratory, Salache Academic Experimental Center, Technical University of Cotopaxi. Eight male alpacas were used and from each one two ejaculates were collected weekly, one using the electroejaculation protocol that used several 10 volt stimuli, and the other using a protocol where the stimuli were 12 volts. The volume of the ejaculated determined itself for direct observation in measuring glass, the concentration; sperm motility, viability and morphology by Neubauer chamber, DM4B YDM6B mass microscope at 10X, Eosin-Nigrosin staining and observation of semen-eosin staining, respectively. Volume, concentration of ejaculates, motility, seminal pathologies were compared according to the electroejaculation protocol by means of the Student's t test for independent samples. The volume of the ejaculates was 0.75±0.20 and 1.10±0.39 mL, the concentration 2.12±1.93 and 2.25±1.89 (x10⁶), the sperm mass motility 81.25±11.81 % and 80.00±14.14 %, mortality 17.50±9.57 and 15.00±10.80 % and morfoanomalies 12.50±6.45 and 13.50±8.01 % in the animals that received electroejaculation with 10 and 12 volts, respectively. There were no significant differences (p> 0.05) in the seminal parameters evaluated according to the voltage used in the ejaculation protocol. It is concluded that the increase in voltage in the electroejaculation protocol had no influence on the seminal quality parameters of alpacas.

2022. *Journal of the Selva Andina Animal Science*®. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

Las alpacas son animales domésticos que pertenecen al grupo del nuevo mundo, familia *Camelidae*, habitan principalmente en Sudamérica^{1,2}, su cría constituye una fuente de ingresos para pobladores de comunidades andinas de Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Ecuador³.

Para acelerar su mejoría genética, es necesario utilizar biotecnologías reproductivas, que incluyen entre otras, colección, evaluación y conservación del semen⁴.

Existen diferencias en la composición seminal, y una menor concentración de espermatozoides en los eyaculados recolectados por electroeyaculación (EE) en comparación con la vagina artificial⁵, e incluso la calidad espermática pos descongelación, es menor en el semen colectado por EE⁶. Sin embargo, es un método viable para recolectar eyaculados en machos no entrenados o de especies silvestres⁷.

La EE se basa en la aplicación de estímulos eléctricos en los nervios pélvicos a través de una sonda insertada en el recto, promoviendo así, conseguir la protrusión del pene, erección y, finalmente la eyaculación⁸.

La EE para la colección de semen de alpacas, se usó con resultados muy variables, los eyaculados tenían poco volumen (0.1 a 0.5 mL) y alta concentración⁹. Posteriormente en esta especie fue ampliamente utilizada la EE¹⁰⁻¹², también se emplea en vicuña¹³, llama¹⁴⁻¹⁶.

El voltaje empleado en la EE influye en la calidad espermática, en las alpacas la mayoría de los protocolos empleados utilizan 2 a 10 V, que eviten el estrés en los animales, para obtener eyaculados de buena calidad, según su volumen, concentración y motilidad, siempre que los machos tengan un correcto manejo previo a su aplicación^{10,12,17}.

En otras especies se utilizan diferentes voltajes en la EE, que influyen en el tiempo para inducir la eyaculación y el volumen. En llamas se utilizan de 2 a 10 V y el eyaculado se obtiene a los 6 min^{14,18}, también se utilizaron, con resultados similares, de 3 a 10 V¹⁹. En esta especie, en Bolivia, la eyaculación se produjo con 18 V obteniéndose 0.9 mL de eyaculado²⁰, en Perú, se aplicaron de 2 a 20 V, se produjo la erección del pene a los 15 V, mientras, la eyaculación necesitó 20 V, se colectó 1 mL de eyaculado²¹. En la vicuña se han empleado entre 2 y 12 V, la eyaculación se produjo a los 6 V¹³.

Es escasa la información sobre el efecto del voltaje utilizado en la EE en la calidad seminal de alpacas, debido a que se carece de una metodología confiable y reproducible para la colección de semen. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de dos voltajes en el protocolo de EE en la calidad seminal de alpacas (*Vicugna pacos*).

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló entre mayo y agosto del 2020, en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, situado entre 0° 59' 10" latitud sur (LS) y los 78° 37' 13" longitud oeste (LW), a los 2739 m.s.n.m, con temperatura promedio de 12 °C, humedad relativa de 75 %, precipitaciones promedio anuales entre 500 a 1500 mm, suelo arcilloso²².

Se utilizaron las instalaciones del Centro Experimental Académico Salache (CEASA), laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Carrera de Medicina Veterinaria, Universidad Técnica de Cotopaxi.

Se seleccionaron 8 alpacas machos (*V. pacos*), con una edad comprendida entre los 3 y 5 años, con

64±2.2 kg de peso, sin problemas reproductivos, defectos congénitos, clínicamente sanos, con alimentación a base de pastos naturales y agua ad libitum. De cada uno de estos animales se colectaron dos eyaculados con una frecuencia semanal con igual cantidad de protocolos EE para tal efecto, éstos tenían las mismas características.

Los animales fueron suministrados al proyecto de mejoramiento genético y de la lana de alpacas, de la Universidad Técnica de Cotopaxi por las comunidades indígenas de las provincias de Cañar, Chimborazo, Cotopaxi e Imbabura, de Ecuador.

La EE (Figura 1) se realizó según los principios básicos de la técnica descrita por Director et al.¹⁸, al que se le hicieron los siguientes ajustes. i) se usaron varios estímulos de 10 V, con periodos de estimulación eléctrica de 4 s, 1 s con intervalos de reposo de 1 s, durante 4-8 min ii) los estímulos fueron de 12 V, con iguales intervalos y duración. Para este procedimiento se empleó un electroeyaculador ElectroJac 5[®] (Ideal Instruments[®], Lansing, EE. UU).

Figura 1 Aplicación de la EE a las alpacas en esta investigación



Los eyaculados se recolectaron en tubos falcón de 50 mL (Figura 2), protegidos por una funda externa que mantuvo una temperatura de 37 °C y se transportaron al laboratorio de Biotecnología de la Reproducción del CEASA en menos de 1 h desde su recogida. No se procesaron las muestras contaminadas con orina. El volumen del eyaculado se determinó por observación directa utilizando una probeta graduada. La concentración seminal, mediante la cámara de Neubauer y la motilidad mediante un microscopio masal DM4B Y DM6B (Leica Microsystems AG, EE. UU), a 10X. Ambos parámetros se determinaron según los procedimientos descritos por Allauca et al.²³. La viabilidad espermática se determinó por tinción Eosina-Nigrosina, los espermatozoides muertos no

toman colorante y aparecen rosados, en cambio, los vivos aparecen traslúcidos²⁴.

La morfología espermática se evaluó mediante la observación de la tinción semen-eosina en un microscopio electrónico de barrido, el número de espermatozoides morfológicamente normales y anormales de acuerdo a las recomendaciones de Pérez et al.²⁵.

Procesamiento estadístico. Se obtuvieron los estadígrafos descriptivos de cada variable. Se compararon el volumen, concentración de los eyaculados, motilidad y las patologías del semen según el protocolo de electroeyacuación mediante la prueba de t-Student para muestras independientes. En todos los procesamientos se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurion²⁶.

Figura 2 Colección del eyaculado



Resultados

En la Tabla 1 se exponen las variables seminales evaluadas de la EE con 10 y 12 V.

No existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los parámetros seminales evaluados según el voltaje utilizado en el protocolo de eyaculación. Sin embargo, el volumen fue mayor numéricamente cuando el voltaje fue 12 V. En este grupo hubo tendencia a disminuir la mortalidad y las morfoanomalías (Tabla 2).

Tabla 1 Estadígrafos descriptivos de las variables seminales de las alpacas estudiadas

Estadígrafos	Volumen (mL)		Concentración ($\times 10^6$)		Motilidad masal (%)		Mortalidad (%)		Morfo anomalías (%)	
	10 V	12 V	10 V	12 V	10 V	12 V	12 V	12 V	12 V	12 V
□	0.75	1.10	2.12	2.25	81.25	80.00	17.50	15.00	12.50	13.75
DE	0.20	0.39	1.93	1.89	11.81	14.14	9.574	10.80	6.45	8.01
CV	27.75	35.59	90.87	84.13	14.54	17.67	54.71	72.00	51.63	58.29
Mínimo	0.50	0.60	1.00	1.00	65.0	60.00	10.00	5.00	5.00	6.00
Máximo	1.00	1.50	5.00	5.00	90.00	90.00	30.00	30.00	20.00	25.00
Rango	0.50	0.90	4.00	4.00	25.00	30.00	20.00	25.00	15.00	19.00

DE: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación

Tabla 2 Parámetros seminales (\bar{x}) de alpacas con dos voltajes utilizado en el protocolo de electroeyaculación

Parámetros	Grupos		± EE	p-value
	10 V	12 V		
Volumen (mL)	0.75	1.10	0.15	0.16
Concentración ($\times 10^6$)	2.12	2.25	0.95	0.92
Motilidad masal (%)	81.25	80.00	6.51	0.89
Mortalidad (%)	17.50	15.00	5.10	0.74
Morfoanomalías (%)	12.50	13.75	3.63	0.81

Discusión

El volumen de los eyaculados, concentración espermática, motilidad masal de los espermatozoides, mortalidad y morfoanomalías son menores que los obtenidos en alpacas de Perú²⁷.

El volumen fue inferior al señalado por Trujillo Bravo²⁸, quien obtuvo 1.48 a 1.91 en machos de la Raza Huacaya de 3 a 5 años de edad. Este trabajo corrobora que las alpacas tienen bajo volumen en sus eyaculados²⁹.

Aunque las alpacas tienen baja concentración espermática²⁹, la obtenida en esta investigación indica, que los eyaculados tienen calidad para realizar la inseminación artificial y a partir de ellos se podrán obtener más dosis seminales, parámetro que dependerá la tasa de dilución a utilizar²¹.

La motilidad individual en la alpaca no es un indicador de la calidad del semen, fresco o crio preservado²⁷, no obstante, según los criterios de Allauca *et al.*²³, en esta investigación la motilidad masal e indi-

vidual califican a los eyaculados como buenos y corroboran que los camélidos sudamericanos tienen poca, o ausencia de movilidad individual²⁹.

Las morfoanomalías están relacionadas con el tamaño de los espermatozoides, afectan la capacidad de fertilización, pueden encontrarse en cualquier segmento del espermatozoide^{30,31}. El porcentaje de espermatozoides con formas anormales no difirió según el voltaje utilizado en la EE, lo que está motivado porque estas células presentan gran polimorfismo y varían morfológicamente interindividualmente en cada macho de los camélidos sudamericanos^{32,33}.

La mortalidad fue inferior a la obtenida en un estudio, la colección de semen en alpacas, se hizo mediante aspiración vaginal y vagina artificial, el porcentaje de zoospermos muertos fue 24.7 y 29.2 %, respectivamente³⁴. Cualquier protocolo de EE debe mantener la viabilidad de la mayor cantidad de espermatozoides posibles, ya que esta se relaciona positivamente con la integridad acrosomal *in vivo* e *in vitro*³⁵.

Las causas de las diferencias de los parámetros seminales determinados en este trabajo con los consultados pueden estar motivadas por las diferencias en las condiciones edafoclimáticas, fisiológicas y de producción⁸.

El volumen, concentración, motilidad, las morfoanomalías espermáticas varían según el estado fisiológico del macho, edad, raza, alimentación, frecuencia de colección y separación psicosexual³⁶.

Se concluye que el incremento del nivel de voltaje de 10 a 12 V en el protocolo de EE no tuvo influencia en sobre el eyaculado y los parámetros de calidad seminal de alpacas (*V. pacos*).

Fuente de financiamiento

Debemos recalcar que el financiamiento de la investigación Influencia de dos voltajes en los protocolos de electroeyacuación en la calidad seminal de alpacas

(*V. pacos*), se lo realizó con recursos propios de los investigadores.

Conflictos de intereses

Los autores declaramos no tener conflictos de intereses potenciales con respecto a la autoría y/o publicación de este artículo.

Agradecimientos

Damos nuestros sinceros agradecimientos al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Carrera de Medicina Veterinaria, en especial al Director del Centro Experimental Salache (CEASA) y personal que labora.

Consideraciones éticas

Los protocolos utilizados en el estudio se ciñen a las normas europeas indicada en https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm para el uso de animales en investigación.

Limitaciones en la investigación

No se logra establecer y validar una metodología para la obtención de semen esta especie por electroeyacuación pues no se procesaron la cantidad de muestras necesarias para ello.

Aporte de los autores en el artículo

Luis Alonso Chicaiza Sánchez, búsqueda de información, diseño del estudio, toma de muestras, redacción del borrador. *Rafael Alfonso Garzón Jarrin*, búsqueda de información, toma de muestras, escritura y redacción del documento. *Eddy Bryan Masabanda Soria*, procesamiento y análisis de muestras en el la-

boratorio. Juan Ramón García Díaz, escritura y redacción del documento, revisión, edición y revisión del manuscrito.

Literatura citada

1. Quispe Peña E. Adaptaciones hematológicas de los camélidos sudamericanos que viven en zonas de elevadas altitudes. *Rev Complut Cienc Vet* 2011;5(1):1-26.
2. Avilés Esquivel DF, Montero-Recalde MA, Barros-Rodríguez M. Los camélidos sudamericanos: Productos y subproductos usados en la Región Andina. *Actas Iberoam Conserv Anim* 2018;11: 30-8.
3. Vilá B, Arzamendia Y. Camélidos sudamericanos: sus valores y aportes a las personas. *Sustain Sci* 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11625-020-00874-y>
4. Singh B, Mal G, Gautam SK, Mukesh M. Reproduction biotechnology in camelids. In: Singh B, Mal G, Gautam SK, Mukesh M, editors. *Advances in Animal Biotechnology*. Switzerland: Springer Nature Switzerland AG; 2019. p. 145-53. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-21309-1_13
5. Marco-Jiménez F, Vicente JS, Viudes-de-Castro MP. Seminal plasma composition from ejaculates collected by artificial vagina and electroejaculation in Guirra Ram. *Reprod Domest Anim* 2008;43(4):403-8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00923.x>
6. Jiménez-Rabadán P, Ramón M, García-Álvarez O, Maroto-Morales A, del Olmo E, Pérez-Guzmán MD, et al. Effect of semen collection method (artificial vagina vs. electroejaculation), extender and centrifugation on post-thaw sperm quality of Blanca-Celtibérica buck ejaculates. *Anim Reprod Sci* 2012;132(1-2):88-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.04.005>
7. Santiago-Moreno J, Coloma MA, Dorado J, Pulido-Pastor A, Gómez-Guillamon F, Salas-Vega R, et al. Cryopreservation of Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) sperm obtained by electroejaculation outside the rutting season. *Theriogenology* 2009;71(8):1253-60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.019>
8. Abraham MC, Verdier K, Båge R, Morrell JM. Semen collection methods in alpacas. *Vet Rec* 2017; 180(25):613-4. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.104074>
9. Rodríguez J, Huanca W, Ramos M, Vásquez M, Espinoza J. Biophysical and biochemical characteristics of alpaca semen after collection by electroejaculation. *Reprod Fertil Dev* 2012;25(1):272. DOI: <https://doi.org/10.1071/RDv25n1Ab249>
10. Ordoñez C, Ampuero E, Alarcón V, Franco E, Hanzen C, Cucho, H. Three extenders evaluation in cryopreservation of alpaca (*Vicugna pacos*) semen in pellets. *Spermova* 2015;5(1):119-23. DOI: <http://doi.org/10.18548/aspe/0002.27>
11. Choez K, Arriaga I, Terreros M, Condori R, Arroyo G, Huanca W. Characteristics of the alpaca semen obtained by electroejaculation and motility during cooling. *Spermova* 2015;5(1):42-6. DOI: <http://doi.org/10.18548/aspe/0002.9>
12. Masabanda Soria EB. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por electroeyaculador ajustado a 2 voltajes [tesis licenciatura]. [Latacunga]: Universidad Técnica de Cotopaxi; 2020 [citado 26 de mayo de 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6740>
13. Pacheco JI, Mamni RH, Deza HW. Collection of semen by electroejaculation held captive in vicuñas. *Spermova* 2011;1(1):131-3.
14. Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the

- llama (*Lama glama*). Anim Reprod Sci 2008;104(2-4):359-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.016>
15. Giuliano S, Carretero M, Gambarotta M, Neild D, Trasorras V, Pinto M, et al. Improvement of llama (*Lama glama*) seminal characteristics using collagenase. Anim Reprod Sci 2010;118(1):98-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.06.005>
16. Giuliano SM, Chaves MG, Trasorras VL, Gambarotta M, Neild D, Director A, et al. Development of an artificial insemination protocol in llamas using cooled semen. Anim Reprod Sci 2012;131(3-4):204-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.03.010>
17. Abril-Sánchez S, Freitas-de-Melo A, Giriboni J, Santiago-Moreno J, Ungerfeld R. Sperm collection by electroejaculation in small ruminants: A review on welfare problems and alternative techniques. Anim Reprod Sci 2019;205:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.03.023>
18. Director A, Giuliano S, Carretero M, Pinto M, Trasorras V, Miragaya M. Electroejaculation and seminal characteristics in llama (*Lama glama*). J Camel Pract Res 2007;14 (2):203-6.
19. Gallegos Ibarra ML. Determinación de las características macroscópicas, microscópicas y subpoblaciones espermáticas del semen de llama (*Lama glama*) colectado por electroeyaculación y vagina artificial [tesis licenciatura]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [citado 16 de septiembre de 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.concytec.gob.pe/handle/20.500.12390/1494>
20. Valle Zapata EM. Evaluación de dos técnicas de colección de semen en llamas (*Lama glama*) en la estación experimental de Choquenaira [tesis licenciatura]. [La Paz]: Universidad Mayor de San Andrés; 2013 [citado 16 de octubre de 2021]. Recuperado a partir de: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/4259?show=full>
21. Ccoiso Aguila R. Estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de llama (*Lama glama*). por dos métodos de colección [tesis licenciatura]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [citado 6 de octubre de 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3790?locale-attribute=en>
22. Datos meteorológicos del parque nacional Cotopaxi, Ecuador [Internet]. Instituto nacional de meteorología e hidrografía. 2021 [citado 5 de octubre de 2021]. Recuperado a partir de: <https://www.inamhi.gob.ec>
23. Allauca P, Ugarelli A, Santiani A. Determinación del potencial de membrana mitocondrial mediante citometría de flujo durante el proceso de criopreservación de espermatozoides epididimarios de alpacas. Rev Investig Vet Perú 2019;30(1):288-98. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15677>
24. Juárez J, Santiani A. Determinación del porcentaje de viabilidad espermática mediante citometría de flujo durante el proceso de criopreservación en espermatozoides obtenidos de epidídimo de alpaca. Rev Investig Vet Perú 2019;30(3):1175-83. DOI: <http://doi.org/10.15381/rivep.v30i3.16608>
25. Pérez MG, Zevallos J, Pérez UH. Recovery of alpaca sperm from vas deferens during the breeding season. Spermova 2014;4(2):139-44.
26. Centurion XVI Novedades y mejoras [Internet]. Statgraphics. 2018 [citado 5 de marzo de 2021]. Recuperado a partir de: <https://statgraphics.net/centurion-xvi-novedades-y-mejoras/>
27. Flores NH, Cucho H, Carretero MI, Ciprián R, Quispe H, Calderón N, et al. Dimethylformamide cryoprotectant effect on cryopreserved alpaca

- sperm motility (*Vicugna pacos*) evaluated by analysis system ISAS®. *Spermova* 2015;5(1):47-50. DOI: <https://doi.org/10.18548/aspe/0002.10>
28. Trujillo Bravo J. Estudio histológico del espermatozoide de alpacas y su correlación con las características microscópicas de calidad seminal en el fundo Ucrucancha-Cerro de Pasco 2019 [tesis licenciatura]. [Cerro de Pasco]: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 2019 [citado 6 de octubre de 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/1490>
29. Miragaya M, Martínez Sarrasague M, Casaretto M, Rubin de Celis E, Carretero I, Giuliano S. Assessment of apparent viscosity and analysis of rheological profiles in llama ejaculates. En: 16th International Congress on Animal Reproduction (ICAR); 2008; July 13-17; Budapest. Hungary.
30. Peña FJ, Saravia F, García-Herreros M, Núñez-Martínez I, Tapia JA, Johannisson A, et al. Identification of sperm morphometric subpopulations in two different portions of the boar ejaculate and its relation to postthaw quality. *J Androl* 2005;26(6):716-23. DOI: <https://doi.org/10.2164/jandrol.05030>
31. Gontarz A, Banaszewska D, Gryzińska M, Andrasz K. Differences in drone sperm morphology and activity at the beginning and end of the season. *Turk J Vet Anim Sci* 2016;40(5):598-602. DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-1511-6>
32. Casaretto C, Lombardo DM, Giuliano S, Gambarratta M, Carretero MI, Miragaya MH. Morphometric analysis of llama (*Lama glama*) sperm head. *Andrologia* 2012;44(Suppl 1):424-30. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01200.x>
33. Soler C, Sancho M, García A, Fuentes M, Núñez J, Cucho H. Ejaculate fractioning effect on llama sperm head morphometry as assessed by the ISAS® CASA system. *Reprod Domest Anim* 2014;49(1):71-8. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12226>
34. Alarcón V, García W, Bravo W. Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Rev Investig Vet Perú* 2012;23(1):58-64.
35. Pérez-Rosales M, Román B, Santiani A. Efecto de la criopreservación en la integridad acrosomal de espermatozoides viables de alpaca evaluada mediante citometría de flujo. *Rev Investig Vet Perú* 2020;31(3):e18172. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18172>
36. Juyena NS, Vencato J, Pasini G, Vazzana I, Stelletta C. Alpaca semen quality in relation to different diets. *Reprod Fertil Dev* 2013;25(4):683-90. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD12050>

Nota del Editor:

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