



Theses and Dissertations

2002

Biochemical components of seminal plasma of llamas (*Lama glama*) at three ages

Pedro Angel Delgado Callisaya
Brigham Young University - Provo

Follow this and additional works at: <https://scholarsarchive.byu.edu/etd>



Part of the [Animal Sciences Commons](#)

BYU ScholarsArchive Citation

Delgado Callisaya, Pedro Angel, "Biochemical components of seminal plasma of llamas (*Lama glama*) at three ages" (2002). *Theses and Dissertations*. 5357.
<https://scholarsarchive.byu.edu/etd/5357>

This Thesis is brought to you for free and open access by BYU ScholarsArchive. It has been accepted for inclusion in Theses and Dissertations by an authorized administrator of BYU ScholarsArchive. For more information, please contact scholarsarchive@byu.edu, ellen_amatangelo@byu.edu.

UNIVERSIDAD CATOLICA BOLIVIANA
“SAN PABLO”
UNIDAD ACADÉMICA CAMPESINA TIAHUANACO
CARRERA INGENIERIA ZOOTECNICA



TESIS DE GRADO

**COMPONENTES BIOQUIMICOS DEL PLASMA
SEMINAL DE LLAMA (Lama glama)
EN TRES EDADES**

Presentada por:

PEDRO ANGEL DELGADO CALLISAYA

LA PAZ – BOLIVIA

2002

**UNIVERSIDAD CATOLICA BOLIVIANA
CARRERA INGENIERIA ZOOTECNICA**

**“COMPONENTES BIOQUIMICOS DEL PLASMA
SEMINAL DE LLAMA (Lama glama) EN TRES EDADES”**

**Tesis de grado Presentada a la carrera de Ingeniería Zootécnica
para optar al Título profesional de:**

“INGENIERO ZOOTECNISTA”

Presentada por:

PEDRO ANGEL DELGADO CALLISAYA

ASESORES

Asesor

.....
Lic. Bqmc. Farmc. N. Lourdes Vино Nina

Asesor

.....
Med. Vet. Zoot. Santiago Copa Quispe

TRIBUNAL DE TESIS:

Representante del Rector UCB.

.....
Med. Vet. Ph. D. René Condori Quispe

Representante del Vicerrector regional UCB

.....
Med. Vet. Zoot. Santiago Copa Quispe

Relator

.....
Med. Vet. Zoot. MSc. J. Guido Medina Suca

DEDICATORIA

Con todo cariño y afecto a mis padres Patricio y Domitila que supieron con esfuerzo y abnegación conducirme hasta esta meta de mi vida.

A los pedestales que supieron sostenerme y entenderme en mis horas mas dificiles: a Erick y Karen mi aliento para seguir adelante y en especial a ti Ana mi fuente de vida e inspiración.

A mis hermanos Mateo, Inés, Javier y María por su aliento constante y apoyo incondicional en todo momento.

A la memoria de Ramón Requena mi Padrino.

PEDRO ANGEL

AGRADECIMIENTOS

A La Unidad Académica Campesina Tiahuanaco de la Universidad Católica Boliviana el alma Mater de mis conocimientos.

A la Plana Docente de la Carrera de Ingeniería Zootécnica por su valiosa enseñanza y guía en mi formación profesional.

Al Reverendo Padre Claudio Patty Choque Director General de la UACT- UCB por el apoyo moral y logístico brindado.

Al Sr. M.V.Z. Santiago Copa Quispe por la colaboración y acertada dirección en la realización de este trabajo.

A la Lic. Bqmc. Farm. Lourdes Vino por transmitirme sus conocimientos desinteresadamente para la ejecución de esta investigación.

Un reconocimiento y gratitud a los Señores M.V.Z. M.Sc. Guido Medina Suca y M.V.Z. M.Sc. José Luis Bautista Pampa, por brindarme su conocimiento y amistad de la manera más desinteresada.

A mis amigos Francisco, Melecio, Remigio, Demetrio, Walter, Mario, Cristóbal, Flavio y Magín por haber compartido momentos inolvidables.

A Agustín Choque, Apolinar Quispe, Pablo Copaña y muchos amigos que supieron entenderme y apoyarme siempre.

A todos los compañeros y amigos con los que pude compartir su amistad y que de una manera u otra influyeron en la culminación de esta Tesis.

Y un especial agradecimiento al Instituto BENSON "Agriculture and food Institute" (Brygan Young University) por la ayuda económica brindada para la finalización de este trabajo.

CONTENIDO

| | Página N° |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| 2.1 Generalidades..... | 4 |
| 2.2 Características reproductivas..... | 4 |
| 2.3 Maduración espermática..... | 5 |
| 2.3.1 Plasma seminal como factor de capacitación espermática..... | 6 |
| 2.4 Método de empadre..... | 6 |
| 2.5 Colección y manejo del semen..... | 7 |
| 2.6 Evaluación seminal..... | 7 |
| 2.7 Análisis Químicos usualmente realizados en plasma seminal..... | 8 |
| 2.8 Composición química del plasma seminal..... | 8 |
| 2.8.1 Propiedades componentes químicos del plasma seminal en otras especies. | 8 |
| 2.8.2 Glucosa..... | 9 |
| 2.8.3 Fósforo inorgánico..... | 10 |
| 2.8.4 Creatinina..... | 11 |
| 2.8.5 Proteínas totales..... | 11 |
| 2.8.6 Albúminas..... | 12 |
| 2.8.7 Globulina..... | 13 |
| 2.8.8 Colesterol..... | 13 |
| 2.8.9 Calcio..... | 15 |
| 2.8.10 Potasio..... | 16 |
| 2.8.11 Sodio..... | 16 |
| 2.8.12 Magnesio..... | 17 |
| 3 MATERIALES Y METODOS..... | 18 |
| 3.1 Ubicación | 18 |

| | |
|--|----|
| 3.2 Materiales | 18 |
| 3.2.1 Semovientes..... | 18 |
| 3.2.2 Equipo de Colección de semen..... | 18 |
| 3.2.3 Equipo para obtención de Plasma seminal..... | 19 |
| 3.2.4 Equipo para Análisis de muestras..... | 19 |
| 3.2.5 Reactivos..... | 19 |
| 3.3 Metodología..... | 20 |
| 3.3.1 Selección y adquisición de animales | 20 |
| 3.3.2 Adiestramiento de animales | 20 |
| 3.3.3 Breve cronología del método utilizado para la colección de semen. | 21 |
| 3.3.4 Colección de semen..... | 22 |
| 3.3.5 Obtención de plasma seminal | 22 |
| 3.4 Métodos de análisis bioquímico..... | 23 |
| 3.4.1 Glucosa | 23 |
| 3.4.2 Fósforo inorgánico..... | 24 |
| 3.4.3 Creatinina..... | 25 |
| 3.4.4 Proteínas totales..... | 26 |
| 3.4.5 Albúminas..... | 27 |
| 3.4.6 Globulinas..... | 28 |
| 3.4.7 Colesterol..... | 28 |
| 3.4.8 Calcio..... | 30 |
| 3.4.9 Potasio..... | 31 |
| 3.4.10 Sodio..... | 32 |
| 3.4.11 Magnesio..... | 32 |
| 3.5 Variables de respuesta..... | 34 |
| 3.5.1 Variables bioquímicas | 34 |
| 3.5.2 Variables concomitantes..... | 34 |

| | | |
|------|-----------------------------|----|
| 3.6 | Análisis estadístico | 35 |
| 4 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 37 |
| 4.1 | Glucosa..... | 37 |
| 4.2 | Fósforo inorgánico..... | 41 |
| 4.3 | Creatinina..... | 46 |
| 4.4 | Proteínas totales..... | 50 |
| 4.5 | Albúmina..... | 55 |
| 4.6 | Globulinas..... | 59 |
| 4.7 | Colesterol..... | 63 |
| 4.8 | Calcio..... | 67 |
| 4.9 | Potasio..... | 71 |
| 4.10 | Sodio..... | 75 |
| 4.11 | Magnesio..... | 78 |
| 5 | CONCLUSIONES | 82 |
| 6 | RECOMENDACIONES..... | 85 |
| 7 | BIBLIOGRAFIA..... | 97 |
| | ANEXOS..... | 92 |

INDICE DE CUADROS

| | Página N° |
|---|-----------|
| Cuadro 1. Concentración de glucosa por edad en el plasma seminal de llamas..... | 37 |
| Cuadro 2. Resumen de la concentración de glucosa en plasma seminal de llama..... | 37 |
| Cuadro 3. Concentración de Fósforo inorgánico por edad en el plasma seminal de llamas | 41 |
| Cuadro 4. Resumen de la concentración de Fósforo inorgánico en plasma seminal de llama..... | 42 |
| Cuadro 5. Concentración de Creatinina por edad, en el plasma seminal de llamas . | 46 |
| Cuadro 6. Resumen de la concentración de Creatinina en plasma seminal de llama..... | 46 |
| Cuadro 7. Concentración Proteínas totales por edad en plasma seminal de llamas. | 50 |
| Cuadro 8. Resumen de la concentración de Proteínas totales en plasma seminal de llama..... | 50 |
| Cuadro 9. Concentración de Albúmina por edad en plasma seminal de llamas..... | 55 |
| Cuadro 10. Resumen de la concentración de Albúmina en plasma seminal de llama..... | 55 |
| Cuadro 11. Concentración de globulina por edad en el plasma seminal de llamas.. | 59 |
| Cuadro 12. Resumen de la concentración de globulina en plasma seminal de llama..... | 59 |
| Cuadro 13. Concentración de Colesterol por edad en el plasma seminal de llamas..... | 63 |
| Cuadro 14. Resumen de concentración de Colesterol en plasma seminal de llama.. | 63 |
| Cuadro 15. Concentración de calcio en el plasma seminal de llamas en tres edades..... | 67 |

| | |
|---|----|
| Cuadro 16. Resumen de la concentración de calcio en plasma seminal de llama | 67 |
| Cuadro 17. Concentración de Potasio por edad en el plasma seminal de llamas..... | 71 |
| Cuadro 18. Resumen de la concentración de Potasio en plasma seminal de llama.... | 72 |
| Cuadro 19. Concentración de Sodio por edad en el plasma seminal de llamas | 75 |
| Cuadro 20. Resumen de la concentración de sodio en plasma seminal de llama | 75 |
| Cuadro 21. Concentración de Magnesio por edad en el plasma seminal de llamas .. | 78 |
| Cuadro 22. Resumen de la concentración de Magnesio en plasma seminal de llama. | 78 |

INDICE DE GRÁFICOS

| | Página N° |
|---|-----------|
| Gráfico 1. Concentración de glucosa por cada colección | 39 |
| Gráfico 2. Concentración de glucosa por edad..... | 40 |
| Gráfico 3. Concentración de fósforo inorgánico por colección..... | 44 |
| Gráfico 4. Concentración de fósforo inorgánico por edad..... | 45 |
| Gráfico 5. Concentración de creatinina por colección..... | 48 |
| Gráfico 6. Concentración de creatinina por edad..... | 49 |
| Gráfico 7. Concentración de proteína total por colección..... | 53 |
| Gráfico 8. Concentración de proteína total por edad..... | 54 |
| Gráfico 9. Concentración de albúmina por colección..... | 57 |
| Gráfico 10. Concentración de albúmina por edad..... | 58 |
| Gráfico 11. Concentración de globulina por colección..... | 62 |
| Gráfico 12. Concentración de globulinas por edad..... | 62 |
| Gráfico 13. Concentración de colesterol por colección..... | 65 |
| Gráfico 14. Concentración de colesterol por edad..... | 66 |
| Gráfico 15. Concentración de calcio por colección..... | 69 |
| Gráfico 16. Concentración de calcio por edad..... | 70 |
| Gráfico 17. Concentración de potasio por colección..... | 73 |
| Gráfico 18. Concentración del potasio por edad..... | 74 |
| Gráfico 19. Concentración de sodio por colección..... | 76 |
| Gráfico 20. Concentraciones de sodio por edad..... | 77 |
| Gráfico 21. Concentración de magnesio por colección..... | 80 |
| Gráfico 22. Concentración de magnesio por edad..... | 81 |

INDICE DE FIGURAS

| | Página N° |
|--|-----------|
| Figura 1. Concentración de glucosa en plasma seminal de llama en tres edades..... | 38 |
| Figura 2. Concentración de Fósforo inorgánico en plasma seminal de llama en tres edades..... | 42 |
| Figura 3. Concentración de Creatinina en plasma seminal de llama en tres edades... | 47 |
| Figura 4. Concentración de Proteínas totales en plasma seminal de llama en tres edades..... | 51 |
| Figura 5. Concentración de albúmina en plasma seminal de llama en tres edades..... | 56 |
| Figura 6. Concentración de globulina en plasma seminal de llama en tres edades..... | 61 |
| Figura 7. Concentración de colesterol en plasma seminal de llama en tres edades..... | 64 |
| Figura 8. Concentración de calcio en plasma seminal de llama en tres edades..... | 68 |
| Figura 9. Concentración de Potasio en plasma seminal de llama en tres edades..... | 72 |
| Figura 10. Concentración de Sodio en plasma seminal de llama en tres edades..... | 76 |
| Figura 11. Concentración de Magnesio en plasma seminal de llama en tres edades..... | 79 |

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Unidad Académica Campesina Tiahuanaco de la UCB, ubicada en la comunidad Achaca, tercera sección Municipal de la provincia Ingavi del Departamento de La Paz, a 57 km. de la carretera Internacional La Paz-Desaguadero entre los paralelos $68^{\circ}42'28''$ Latitud Sur y $16^{\circ}35'41''$ longitud Oeste. A una altura de 3856 msnm. durante el periodo comprendido entre octubre del año 2000 y septiembre del 2001.

El estudio consistió en determinar la concentración de los componentes bioquímicos del plasma seminal de llama en tres edades: Glucosa, Fósforo inorgánico, Creatinina, Proteína total, Albúminas, Globulina, Colesterol, Calcio, Potasio, Sodio y Magnesio.

Se seleccionaron y adquirieron 12 llamas machos de la zona de Choquecota de la Provincia Carangas del Departamento de Oruro, entre 3; 4 y 5 años de edad (cuatro Animales por edad), estos fueron sometidos a un periodo de adiestramiento a la colección de semen durante 2 meses con la grupa artificial diseñada para este efecto, de los cuales 6 que mejor respondieron se utilizaron para la investigación.

Se han Obtenido 8 colecciones por animal en todo el ensayo, que fueron empleados para los análisis de laboratorio. Los resultados fueron analizados bajo el diseño Jerárquico factorial que comprendió un análisis mixto (anidado y cruzado) de los factores edades y colecciones (se analizaron las medias de dos colecciones que corresponden a la semana de colección).

Cada promedio de colección semanal por edad, constituyó una unidad experimental, obteniéndose 4 unidades experimentales por edad, utilizándose para el análisis de los datos el paquete estadístico S.A.S. Versión 6.12.

A partir de los análisis realizados se tuvo los siguientes resultados: Las concentraciones de glucosa (6.246 ± 0.716 mg/dl), creatinina (3.459 ± 1.27 mg/dl), colesterol (67.28 ± 18.21 mg/dl), potasio (8.249 ± 1.78 mEq/L) y sodio (123.187 ± 18.39 mEq/L), no presentaron diferencias entre edades ni colecciones ($P > 0.05$). Las concentraciones de calcio (12.138 ± 3.64 mg/dl) y magnesio (1.943 ± 0.52 mEq/L), presentaron diferencia estadística ($P < 0.05$) en edades solamente y no así entre colecciones. La globulina (1.574 ± 0.51 g/dl), presentó diferencias entre colecciones ($P < 0.05$), y no entre edades. La proteína total (3.732 ± 0.45 g/dl), albúmina (2.158 ± 0.46 g/dl) y fósforo inorgánico (9.42 ± 2.42 mg/dl), presentaron diferencias tanto entre edades como entre colecciones ($P < 0.05$).

1 INTRODUCCIÓN

En países como EE. UU. Canadá, Australia, Alemania, y otros del mundo, la producción de camélidos sudamericanos ha tomado mayor importancia en la última década. Este inusitado interés se da tal vez porque esta especie posee cualidades únicas en sus características productivas, como la particularidad de adaptarse en las regiones más inhóspitas, donde otras especies de interés productivo no podrían subsistir.

En los camélidos sudamericanos, la llama se constituye en la principal fuente de proteínas, medio de transporte, vestido y combustible del poblador dedicado a su crianza (Garnica, y Fuentes, 1998), a pesar de las difíciles condiciones climáticas en las zonas donde se realiza esta actividad; en Bolivia la población de estos animales está alrededor de 2'398572., según datos de UNEPCA 1997, con un ritmo de crecimiento poblacional muy bajo y deficiente para realizar una explotación intensiva de este recurso, porque generaría la tendencia al exterminio de esta especie, situación actual que se está viviendo en las comunidades donde los productores abastecen la demanda de carne extrayendo sus mejores animales, afectando la calidad genética de su rebaño.

Hay diferentes factores que limitan el crecimiento en su población, uno de los principales es el tipo de reproducción, por sus características muy especiales, por ser la única especie que tiene un tiempo de cópula tan largo (5 a 50 minutos) y un volumen de eyaculación tan pequeño (entre 0.3 a 1.5 ml), además presenta un movimiento del pene que lacera al útero y a los cuernos uterinos, que afecta drásticamente el porcentaje de preñez, porque el tejido endométrico se encuentra lesionado, lo que limita la implantación del nuevo ser.

Por esta razón, es importante desarrollar la técnica de la inseminación artificial para superar el problema del daño a nivel del endometrio, y es necesario realizar diferentes estudios sobre la composición bioquímica del semen eyaculado, para determinar los componentes que lo hacen tan especial, como su alta viscosidad, al grado de hacer casi imposible una evaluación, pues este no se expande en los portaobjetos retrayéndose después de haberlo estirado, al margen de tener una concentración de espermatozoides extremadamente baja, en comparación a otras especies. Estas características hacen muy difícil la dilución de este semen para la crio-preservación e inseminación artificial.

Desde que se fomentó el consumo de carne de llama, la población humana la aceptó favorablemente por las cualidades que presenta. También la mejora de los precios de carne en el mercado ha permitido que los criadores entreguen a los mataderos gran cantidad de sus mejores animales, esta situación ha causado la reducción del potencial genético de su rebaño, perdiéndose así ejemplares con características únicas.

La realización de la investigación sobre la concentración de ciertos componentes bioquímicos del plasma seminal de llama, contribuirá en las bases para mejorar la reproducción y genética en las explotaciones de llamas.

Los objetivos definidos para el presente trabajo fueron:

- Determinar la concentración de Glucosa, Fósforo inorgánico, Creatinina, Proteína total, Albúminas, Globulina, Colesterol, Calcio, Potasio, Sodio y Magnesio en el plasma seminal de llamas de 3, 4 y 5 años de edad.

- Comparar la concentración de Glucosa, Fósforo inorgánico, Creatinina, Proteína total, Albúminas, Globulina, Colesterol, Calcio, Potasio, Sodio y Magnesio del plasma seminal de llamas de 3, 4 y 5 años de edad, en los tres meses de colección.

Las hipótesis planteadas para este trabajo fueron:

- No existen diferencias de concentraciones en los componentes bioquímicos del plasma seminal de llama entre edades.
- No existen diferencias de concentraciones en los componentes bioquímicos del plasma seminal de llama entre colecciones.

2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades

Taxonómicamente esta especie se encuentra ubicada en el orden de los Artiodáctilos, Sub-orden Tilópodos, Familia Camelidae, género Lama y la especie Lama glama.

La llama, “ha sido y es una fuente principal de proteínas de origen animal para las poblaciones que se asentaron y se asientan a lo largo de la cordillera de los Andes. Actualmente sobrepasa estos límites constituyéndose en alimento insustituible para los productores y estratos sociales de bajos recursos económicos”. (Apaza E.; 1996).

La llama constituye la principal fuente de proteínas, medio de transporte, vestido y combustible para beneficio del poblador dedicado a su crianza (Garnica, J. y C. Fuentes in APPA, 1998).

En Bolivia la población de llamas en el año 1989 fue de 2'022.595 animales (Cardozo y Rodríguez, 1989), el año 1992 de 2'022.569. Según últimos datos obtenidos por UNEPCA en 1997 la población de llamas es de 2'398.572, que representa el 61.078 % de la población total de llamas en el mundo, (Bonavia, D. 1996).

2.2 Características Reproductivas

La función reproductiva en el macho es producir espermatozoides; combinarlos con el plasma seminal y eyacular el semen en el tracto reproductivo femenino. En esta función participan los testículos, el epidídimo, conducto deferente, glándulas accesorias y pene (Novoa, Leyva, 1996).

Las llamas no poseen un ciclo estrual definido, la receptividad de las llamas hembras esta dada por el tamaño del folículo (mayor a 7 mm de diámetro) y el estímulo de la cópula. (Bravo et al, 2000)

El tipo de cópula que realizan los camélidos andinos difiere de otras especies por las características únicas de posición (decúbito ventral) y tiempo de cópula (entre 5 a 50 minutos), (Bustinza, 2001).

En las llamas el volumen de eyaculación es considerablemente pequeño (entre 0.5 a 1.5 ml por eyaculación), con la característica de su alta viscosidad y la motilidad individual que presentan sus espermatozoides en este fluido. (Bravo, 1998).

2.3 Maduración espermática.

La capacitación espermática consiste en el desarrollo funcional que sufre el espermatozoide, cuando ocurren una serie de cambios o modificaciones estructurales y funcionales como resultado de su unión con las secreciones de la mucosa del aparato reproductor femenino. Este proceso es necesario y provee al espermatozoide las condiciones adecuadas para que se efectúe la fertilización. En estas modificaciones se incluyen cambios bioquímicos y fisiológicos que se alteran y eliminan sustancias integradas en la membrana plasmática del espermatozoide cuando pasan por el epidídimo. (Pellicer, 1995).

2.3.1 Plasma seminal como factor de capacitación espermática.

El rol del plasma seminal en la capacitación es importante, el tiempo en el que se realiza la capacitación es diferente entre el espermatozoide del epidídimo y del eyaculado en especies menores, los cambios fisiológicos en el espermatozoide son mediados en el plasma seminal, o los cambios en sí del plasma seminal. (Rivera, Villanueva, 2000).

La inhibición enzimática del plasma seminal protege al aparato acrosomal del espermatozoide hasta que alcanza las vías genitales femeninas, donde se recuperan las propias enzimas que son necesarias para fertilización. (Rivera, Villanueva, 2000).

2.4 Método de Empadre

El empadre alternado libre consiste en formar dos grupos de machos que trabajarán alternadamente de tal manera que cada grupo trabajará con las hembras por 7 días y separado por un lapso igual. El grupo que sale es reemplazado por el otro, de tal forma que se rompe la asociación continua manteniéndose activo el interés sexual de los machos, (Novoa, Leyva, 1996).

El empadre se realiza en los meses de enero a marzo que son los mas abrigados del año, de mayor precipitación pluvial y por lo tanto de máxima producción forrajera, lo recomendable para el empadre es a mediados de la estación de lluvias y extenderla por un lapso de 2.5 meses, (Novoa, Leyva, 1996).

Se recomienda que la duración del empadre sea de 2 a 2.5 meses, de manera que toda hembra que retorna en celo pueda ser servida repetidamente, además se usa del 4 al 6% de machos sobre el total de hembras a ser empadradas, (Novoa, Leyva, 1996).

2.5 Colección y manejo del semen

En camélidos sudamericanos se utilizaron diferentes métodos de colección de semen resultando la más eficiente la del maniquí de hembra con una vagina artificial con sus diferentes accesorios para una obtención de semen óptima, (Bravo et al, 2000).

“El macho después de ponerse en posición de cópula, (decúbito ventral), su momento de inicio de la eyaculación fue detectado desde un costado del animal copulando. Al término de la cópula (se tomo este criterio de termino de la copula, porque el macho se retiraba del maniquí), el semen colectado fue llevado al laboratorio protegido en todo ese trayecto para mantenerlo en baño maría en una caja de tecnoport”. (Quispe, 1986).

2.6 Evaluación seminal

Un análisis seminal completo nos informa sobre las propiedades del semen en su conjunto, tanto de la producción de espermatozoides como de la función de las glándulas sexuales accesorias, aspectos que son analizados a continuación.

“Para llegar a conclusiones se recomienda realizar al menos 2 análisis seminales, con no menos de 15 días ni más de 90 días de separación entre ambos, además es recomendable una abstinencia sexual de 3 a 5 días, que nunca debe ser menor de 2 días ni mayor de 7”. (WHO, 1992. Padrón, 1985)

“Si cualquiera de los indicadores es normal en uno de los exámenes se considera que ese indicador es normal, pero si está alterado en ambos se concluye como anormal. Si los resultados de estos 2 análisis seminales son marcadamente diferentes debe repetirse un tercer examen antes de hacer conclusiones pues la producción de espermatozoides

puede variar considerablemente, tanto en algunos hombres normales como en ciertas circunstancias anormales” (WHO 1992).

2.7 Análisis Químicos usualmente realizados en plasma seminal

De acuerdo a trabajos realizados por Bravo (1998), los parámetros tomados para el análisis químico fueron: Cloro, Calcio, Fósforo, Glucosa, Fructuosa, Lípidos, Fosfolípidos, Nitrógeno total, Proteínas totales, Albúmina, Globulina y Ácido cítrico.

Otros autores como Garnica, y Fuentes (1998), toman solo algunos parámetros tales como pH, Extracto seco, Cenizas, Nitrógeno total, Proteína total, Lípidos totales, Glucosa, Fructosa, Cloro y Fósforo inorgánico.

2.8 Composición química del plasma seminal

El total de sustancias que acompañan a los espermatozoides en el semen eyaculado se denomina plasma seminal y contiene una serie de compuestos peculiares en una base líquida, cuya lista es compleja, y lo más notable del caso es que a pesar de ser tan específicos, sus funciones de participación son dudosas o poco definidas (De Alba, 1985) en muchas especies sirve como tampón que contiene una fuente de energía que es la fructosa, además contienen ácido cítrico, glucosa, ácido fosfórico (Derivaux , 1982).

2.8.1 Propiedades y componentes químicos del plasma seminal en otras especies

La composición química del plasma seminal procedente de las diversas especies de los animales domésticos, muestran diferencias cualitativas y cuantitativas; por desgracia se desconoce la significancia fisiológica de muchas de ellas. (Dukes y Swenson, 1981).

“Los componentes dependen de la secreción de testosterona por el testículo y puede variar en diferentes muestras de semen o en diferentes porciones de la misma eyaculación sí varía la contribución de las diversas glándulas accesorias”. (Cole y Cupps, 1984)

Aparte del efecto de la sub-alimentación sobre la producción de esperma, su efecto principal puede ejercerse sobre los órganos accesorios afectando la composición y propiedades biológicas del líquido seminal, todo lo cual es consecuencia de la disminución de la secreción de testosterona. (Rivera, Villanueva, 2000).

La composición del semen varía según las especies, entre individuos de la misma especie, y entre eyaculaciones del mismo individuo, las muestras de semen pueden modificarse por enfermedad, edad, frecuencia de eyaculaciones, nutrición y otros factores domésticos, estación del año, grado de preparación sexual, método de colección, procedimientos de manipulación del semen durante la colección y después de la misma, técnicas analíticas y variaciones entre las mismas, agentes farmacológicos y variaciones fisiológicas. (Mc Donald, 1981).

Entre los elementos de interés fisiológico están:

2.8.2 Glucosa

En el metabolismo del semen, el proceso respiratorio sigue los mismos pasos del ciclo de Krebs en presencia de oxígeno utilizando para ello azúcares (glucosa, fructosa y manosa en el toro) y en el semen humano también se observa la utilización de glucógeno y maltosa (De Alba, 1985).

En la fisiología reproductiva el producto de la secreción de la vesícula seminal contiene hexosas de gran importancia (glucosa entre otros) para la conservación de la motilidad de los espermatozoides. La secreción prostática también contiene hexosas, y entre ellas la glucosa. (Kolb, 1979).

La glucosa puede tener una acción estimuladora o inhibitoria en la capacitación, este es un punto controversial y aparentemente independiente de las especies. El efecto inhibitorio en la capacitación es por el aumento de la fosforilación de la proteína cinasa observado en los espermatozoides al ser incubados en presencia de la heparina. (Rivera, Villanueva, 2000)

Las concentraciones de glucosa en plasma seminal de alpacas de 3 años es significativamente superior a la de alpacas de 6 años (7.0 ± 0.4 y 5.0 ± 0.3 mg/dl. respectivamente) (Garnica et al., 1992).

Dentro de los constituyentes carbohidratos del plasma seminal se encuentra trazas de glucosa. La glucosa sanguínea es precursor de la fructosa seminal. (Dukes y Sswenson, 1981).

2.8.3 Fósforo inorgánico.

“Entre los constituyentes orgánicos e inorgánicos del semen de toro, están los compuestos fosforados. El semen de toro contiene niveles relativamente altos de fósforo, la mayor parte del cual se halla en forma orgánica, el valor total indicado es de 82 mg/dl., de los cuales 9 mg/dl. es fósforo inorgánico” (Salisbury y Van Demark, 1978).

El fósforo inorgánico no se encuentra en grandes cantidades en el semen, aunque juega papel importante en el metabolismo de los espermatozoides (Dukes y Sswenson, 1981).

2.8.4 Creatinina

La creatinina es formada en gran parte en los músculos, por deshidratación irreversible no enzimática de la fosfocreatina, (Salisbury y col., 1978). La fosfocreatina, es sintetizada por el esperma del toro a partir de la creatinina y del ácido fosfopirúvico (Murray y col., 1988).

Estudios realizados usando el método colorimétrico basado en la reacción de Jaffe determinaron el contenido de creatina y creatinina en el semen de toro y garañón. Los valores promedio para creatina y creatinina en mg/dl. son de 3 y 12.1 en el toro y 6.2 y 3.7 en el garañón. En el verraco, el contenido de creatinina fue establecido en plasma sanguíneo 2.4, en semen total 0.3 y en la secreción de la vesícula seminal 5.3 mg/dl., la distribución de estos dos fosfagenos (creatina y creatinina) en las gónadas y secreciones glandulares accesorias se abren a mas investigaciones (Mann, 1954).

2.8.5 Proteínas totales

Las proteínas y aminoácidos del plasma seminal ejercen acción protectora sobre los espermatozoides, neutralizando el efecto perjudicial de los metales pesados y previniendo la aglutinación de sus células. El semen de toro y carnero contiene niveles relativamente altos de proteínas y aminoácidos libres (Derivaux, 1982). Los valores de Proteína en el semen de toro son de 7.3 (6.3-8.4) g/dl. y en el carnero de 4.9 (4.1-6.2) g/dl.. (Dukes y Swenson, 1981).

“Por lo menos del 30 al 39 % de las proteínas del plasma seminal son distintas a cualquiera de los presentes en la sangre” (Salisbury y col., 1978).

La remoción y adsorción de proteínas de la superficie espermática es generalmente reconocida como un prerrequisito para la capacitación. La unión de ciertas proteínas a la superficie se ha asociado con la maduración epididimal o a la eyaculación, y ocurre durante la capacitación. *In vivo* estas sustancias pueden prevenir la capacitación premadura y la hiperactivación en la movilidad y/o que la reacción acrosomal ocurra sin estar en contacto con el ovocito. Existen datos de que en la capacitación *in vitro* con los lavados solo remueven una parte de estas proteínas, por lo que solo se logra una disminución. (Rivera, Villanueva, 2000).

2.8.6 Albúminas

“Las albúminas son sintetizadas en el hígado y están constituidas por una sola cadena de 610 aminoácidos. Contribuye a la presión osmótica coloidal, actúa como molécula transportadora para bilirrubina, ácidos grasos, oligoelementos y numerosos medicamentos” (Murray y col., 1988).

Se cree que la función de las albúminas séricas durante la capacitación *in Vitro* es la eliminación del colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide. Algunos experimentos han demostrado que el colesterol unido a otras proteínas de transferencia de lípidos que están presentes en el líquido folicular o los fluidos de las trompas de Falopio, pueden ser reemplazados por las albúminas en la fertilización *in Vitro*; estos resultados sugieren el desarrollo en la activación en el colesterol (Dragilva, 1999).

“La concentración de albúminas en el plasma seminal de la alpaca es de 1 ± 0.1 y 2 ± 0.2 g/dl. para 3 y 6 años respectivamente” (Garnica et al., 1992).

2.8.7 Globulina

Las globulinas son moléculas proteínicas insolubles en agua pura, pero solubles en soluciones salinas. Las globulinas séricas, son una mezcla heterogénea, compleja de moléculas proteínicas a las que con frecuencia se designa como globulina alfa, beta y gama basado en su movilidad electroforética (Murray y col., 1988).

El producto de la secreción prostática contiene globulinas de gran importancia, para la conservación y motilidad de los espermatozoides (Kolb, 1979).

Las concentraciones de globulinas en alpacas de 3 y 6 años, son de 1.23 y 2.01 g/dl. respectivamente (Garnica et al., 1992),.

2.8.8 Colesterol

La síntesis del colesterol ocurre virtualmente en todas las células siendo esta capacidad mucho mayor en el hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos de reproducción que incluyen los ovarios, testículos y la placenta (Villavicencio, 1996).

El colesterol es una sustancia de muy baja solubilidad en el agua, y de alta solubilidad en el plasma sanguíneo gracias a la presencia de lipoproteínas (principalmente LDL y VLDL) que se unen al colesterol y que la concentración en plasma es de 150 a 200 mg/dl. (Murray y col., 1988).

El colesterol es importante por presentarse en diferentes procesos biológicos, como precursor de ácidos biliares, precursor de hormonas esteroideas, tales como la progesterona, testosterona, estrógeno, cortisol, corticosterona y aldosterona pero su principal función es ser parte constituyente de todas las membranas celulares e intracelulares (Bohinski, 1998).

Los lípidos tienen la característica de promover el flujo de la membrana, la permeabilidad y la difusión. La presencia de altos niveles de colesterol y esteril sulfatos en la membrana durante la capacitación es probablemente requerida en la prevención de la capacitación prematura y para promover la reacción acrosomal en un tiempo apropiado. (James, 1999, Wolfe, 1998).

El colesterol puede actuar para sensibilizar a la membrana haciéndola menos permeable, con menos flujo y susceptible a la fusión. En suma, estos efectos directos sobre la bicapa lipídica y alteración en las propiedades físicas de la membrana, pueden influir en la movilidad, conformación y activación de las enzimas de la membrana y el transporte molecular. (Cross, 1998).

Se ha puesto atención en el colesterol de la membrana del espermatozoide, ya que ocasiona una variedad de efectos profundos en las características biológicas de la membrana (por ejemplo, la permeabilidad iónica activa y pasiva) por la orientación reguladora y en el flujo de la membrana lipídica (Cross, 1998).

Se ha propuesto una eliminación gradual del colesterol por medio de la albúmina u otros componentes del fluido del tracto genital femenino, ácidos grasos y lisofosfolípidos. (Marin-Briggiler, 1999).

“El producto de la secreción de la vesícula seminal contiene lípidos de gran importancia para la motilidad y conservación de los espermatozoides” (Kolb, 1979).

Las células pierden lípidos en el plasma seminal como consecuencia de su almacenamiento prolongado en la cola del epidídimo y ampolla del conducto deferente. (Mc Donald, (1981).

2.8.9 Calcio

El rol del calcio en la iniciación y/o regulación de la capacitación es un punto controversial. Se observa que no hay un cambio intracelular de calcio en los eventos de la maduración. En los espermatozoides de ratón se ha visto al calcio como un requerimiento en la capacitación, sin embargo no se han medido la concentración intracelular de calcio. La acción del calcio en los niveles de enzimas efectores desarrollan en el espermatozoide una señal de transducción (por ejemplo adenilciclase, nucleótido fosfodiesterasa cíclica). (Dragilva, 1999).

El calcio y los iones bicarbonatos tienen una forma común de activación en la estimulación de iones de la adenilciclase del espermatozoide maduro, dado que posee enzimas con propiedades únicas. (Herrero, 1999, Mandal, 1999, Viscont, 1998).

En diversos trabajos se han presentado algunos de los cambios fisiológicos producidos en el espermatozoide que se requieren para la reacción acrosomal. Por ejemplo en la capacitación espermática en ausencia de calcio, la reacción acrosomal no se realiza de forma adecuada, si subsecuentemente se le adiciona calcio la reacción acrosomal se realiza de forma sincronizada. (Frase, 1998).

En particular, el calcio y el pH son involucrados en la capacitación y en la reacción acrosomal. El aumento del calcio y de protones en la capacitación, tienen como resultado un decremento en la longevidad con reacción acrosomal prematura (Rivera, y col., 2000).

La concentración anormal de calcio, pH y/o AMPc pueden inhibir la fertilización por alteración de la capacitación y la reacción acrosomal, ocasionando defectos intracelulares en la movilidad espermática, (Mortimer, 1998, Zabludovsky 1999).

2.8.10 Potasio

El potasio se encuentra principalmente dentro de las células (aproximadamente 90 % del potasio corporal es intracelular y se intercambia fácilmente con el líquido extracelular (Church, 1990).

El potasio esta principalmente dentro de las células, y por medio de un sistema que necesita energía se relaciona con el movimiento del sodio, es importante en el equilibrio osmótico y para las relaciones enzimáticas relacionadas con la fosforilación de la creatina y se necesita para la activación de la piruvatoquinasa (Harper, 1980).

El potasio facilita la captación celular de los aminoácidos neutrales, e influye en el metabolismo de los glúcidos al intervenir en la captación celular de la glucosa. (Harper, 1980).

2.8.11 Sodio

Este elemento tiene gran importancia como electrolito que juntamente con el potasio mantienen la presión osmótica de los líquidos extracelulares e intracelulares y en el

balance ácido-básico, El sodio se encuentra principalmente en el líquido extracelular con menos de un 10 % dentro de las células. (Church, 1990).

Este elemento actúa como un componente extracelular a través de una bomba de sodio que depende de la energía junto con el potasio y el magnesio, también ejerce influencia sobre la presión osmótica y el balance ácido básico (Harper, 1990).

2.8.12 Magnesio

El Magnesio se distribuye en todo el organismo y se encuentra en grandes cantidades aproximadamente esta distribuido en un 25 % en el suero sanguíneo (1.1 a 2.0 mEq/L.), y de estos el 35% del Mg sérico se encuentra ligado a proteínas. El Mg se necesita en la activación de enzimas que dividen y transfieren las fosfatasas y en muchas reacciones que interviene el ATP. El Mg es un cofactor en la decarboxilación y se necesita para activar ciertas peptidasas. (Church, 1990).

El magnesio es el componente esencial en muchas reacciones enzimáticas bien sea como metaloenzima o como activador intermediario. Este es el más importante en aquellas reacciones implicadas en transferencia de fosfatos y síntesis de proteínas. (Stanbio, 2001).

En el l anexo No. 1 se muestra los valores reportados sobre la composición bioquímica del plasma seminal de camélidos sudamericanos obtenidos por diferentes autores.

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones y en el Laboratorio de Bioquímica y Nutrición Animal de la Unidad Académica Campesina Tiahuanaco de la UCB, ubicada en la comunidad de Achaca, tercera sección Municipal de la provincia Ingavi del Departamento de La Paz, a 57 km. de la carretera Internacional La Paz-Desaguadero geográficamente ubicada entre 68°42'28'' Latitud Sur y 16°35'41'' Longitud Oeste, a una altura de 3856 msnm.

3.2 Materiales

3.2.1 Semovientes

Para el ensayo se utilizó 6 llamas con edades comprendidas entre 3, 4 y 5 años

3.2.2 Equipo de Colección de semen

Maniquí de Grupa de llama

Vaginas artificiales para camélidos

Fundas látex para colección de semen

Tubos colectores

Termo de agua

Termómetro clínico y ambiental

Pipeta pasteur

3.2.3 Equipo para obtención de Plasma seminal

Centrifugadora eléctrica.

Tubos de centrifugadora graduados.

Viales de plástico de 1.5 ml.

Refrigerador Congelador.

3.2.4 Equipo para Análisis de muestras

Espectrofotómetro UV-1601PC

Estufa.

Pipetas graduadas y micro pipetas automáticas.

Tubos de prueba.

Viales Eppendorf

3.2.5 Reactivos

Kits enzimáticos para determinación de:

- Glucosa
- Fósforo inorgánico
- Creatinina
- Proteína total
- Albúmina
- Globulina
- Colesterol
- Calcio

- Potasio
- Sodio
- Magnesio

3.3 Metodología

3.3.1 Selección y adquisición de animales

Se adquirió 12 animales de la zona de Choquecota de la Provincia Carangas del Departamento de Oruro, tomando los siguientes criterios:

- a) Edad: Animales comprendidos entre 3, 4, y 5 años los mismos que se determinaron por su cronología dentaria y por información de los comunarios.
- b) Aparato reproductor: Ausencia de adherencias pene-prepuciales, testículos homogéneos y desarrollados.
- c) Condición del animal: buena salud y buen estado corporal

3.3.2 Adiestramiento de animales

Esta etapa se inició en el mes de enero, preseleccionando y adquiriendo 12 llamas de rebaños de los comunarios.

Luego se sometió a una nueva selección de las llamas con la finalidad de identificar las llamas que acepten a la monta en la grupa artificial de llama con vagina artificial.

3.3.3 Breve cronología del método utilizado para colección de semen

El trabajo de colección de semen, comenzó probando sistemas de colección empleadas por diferentes investigadores que utilizaron maniquís de llama con una vagina artificial como dispositivo de colección.

El primer mes resultó un fracaso, porque sólo dos animales durante todo este período aceptaron la monta a los maniquís de llama que se diseñaron en función a los reportes sobre colección de semen en alpacas.

Gracias a estos vanos intentos se sugirió utilizar hembras vivas para la colección de semen, cavando debajo de ellas una fosa (con una dimensión de 0.8 x 0.7 x 0.8 mts.) desde donde un operador manipula la introducción del pene dentro de la vagina artificial colocada en la parte ventral de las hembras (para mantener la temperatura se cubrió con bolsas de agua caliente a temperatura corporal de 38 °C).

Pero este método al margen de tener mayor aceptabilidad de monta (aún no de cópula) por los machos, fue difícil y riesgoso, pues algunas veces los machos introdujeron sus patas traseras a la fosa, dañando al operador y a sí mismas. Además de ser extremadamente incomodo y cansador no resulto ser muy eficiente para la colección del semen.

Después de dos meses de intenso trabajo se diseño finalmente un maniquí de grupa de llama, con todas las características de una grupa verdadera (medidas de ancho, largo, forma de vértebras, etc.)(Ver anexo No. 14), a la cual se incorporó una vagina artificial rediseñada en tamaño y forma (ver anexo No. 15). Para mantener la temperatura se

utilizó una frazadilla eléctrica preparada a partir de un calentador de cabello para damas, (ver anexo No. 16).

Esta nueva técnica adaptada para la colección de semen resultó ser eficiente, pues casi todos los machos aceptaron la monta y cópula sin percatarse de la grupa artificial. Obteniéndose máximos volúmenes de eyaculación en los animales adultos (hasta 7 ml por cópula de 30 minutos por animal).

3.3.4 Colección de semen

Esta actividad se realizó cuando el macho montó a la llama con la grupa artificial y copuló en la vagina artificial donde depositó su semen.

El período de colección de semen duró 3 meses con intervalos de una semana con la finalidad de simular un sistema de empadre dirigido, durante la semana se colectó semen dos veces; los días martes y viernes (ver anexo No. 13)

3.3.5 Obtención de plasma seminal

Una vez colectado el semen, se trasladó estas muestras al laboratorio, donde fueron centrifugadas a 3,000 r.p.m. por 40 minutos. El sobrenadante (el plasma seminal), fue succionado mediante una jeringa de 2 ml de capacidad, y depositados en viales Eppendorf debidamente identificados, y seguidamente fueron congelados a -15°C .

3.4 Métodos de análisis bioquímico

Para iniciar cada análisis se preparó previamente la cantidad de tubos necesarios en un porta tubos, donde se incluyó: un blanco (reactivo sin muestra), un estándar (reactivo con un patrón conocido) y las muestras.

El protocolo de análisis de cada variable fue estrictamente seguido de acuerdo a las recomendaciones adjuntas en los kits de análisis.

Se realizó la determinación de los componentes que según la revisión bibliográfica intervienen en la nutrición, protección y capacitación de los espermatozoides, que a continuación se describen:

3.4.1 Glucosa

Se empleó el método colorimétrico glucosa oxidasa propuesto por TECO diagnostics(2000).

Procedimiento: disponer en tres tubos de ensayo blanco (B), estándar (St) y muestra (M) los siguientes reactivos:

| REACTIVOS | B | St | M |
|---------------------|----|----|----|
| Reactivo de glucosa | 2 | 2 | 2 |
| Standard (ul) | -- | 20 | -- |
| Muestra (ul) | -- | -- | 2 |

Incubar por 20 minutos a 37 °C dentro de 60 minutos leer a 510 nm. de longitud de onda.

Cálculo:

$$\text{Cmg/dl.} = \text{C estándar} \times \frac{\text{Abs M}}{\text{Abs St}} \times 100$$

3.4.2 Fósforo inorgánico

La cuantificación de fósforo inorgánico se realizó por el método espectrofotométrico, propuesto por (Fiske et al., 1970).

Fundamento.

El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con el molibdato de amonio, formando un complejo de color amarillo de fosfomolibdato de amonio, el cual es reducido por el ácido alfaamino - sulfónico, formando un complejo de color azul que es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico.

Procedimiento.

Se preparó una batería de tubos ensayo de prueba, marcando el blanco, estándar y muestras, luego se adicionaron los siguientes reactivos como se indica en el cuadro.

| REACTIVOS | BLANCO | ESTANDAR | MUESTRA |
|--------------------------------------|--------|----------|---------|
| Reactivo de F. inorgánico (ml) | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Reactivo de estándar μl . | --- | 10.0 | --- |
| Muestra μl . | --- | --- | 10.0 |

Mezclar e incubar por 5 minutos a una temperatura de 25°C inmediatamente medir la absorbancia del estándar (S) y la muestra (M) contra el reactivo blanco (B) a 340 nm de longitud de onda.

Calculo.

$$C \text{ mg/dl.} = \frac{\text{Abs. Muestra} - \text{Abs. Blanco}}{\text{Abs. Estándar} - \text{Abs. Blanco}} \times C.$$

Donde: Abs = Absorbancia

3.4.3 Creatinina

La cuantificación de creatinina se realizó por el método propuesto por Hare, R.s. (1950)

Fundamento

La creatinina reacciona con el ácido pícrico en condiciones alcalinas forma un color complejo cuya absorbancia esta en 510 nm, el rango de formación de color es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

Creatinina + Picrato de sodio + Alcali > creatinina – complejo picrato
(Amarillo naranja)

Se determinó mediante el método indicado por TECO diagnostics(2000).

Donde los Reactivos utilizados fueron:

- Solución de ácido pícrico con una concentración de 10 mM.

- Hidróxido de sodio
- Solución estándar (5 m/dl)

Procedimiento:

Combinar igual volumen del ácido pícrico regente e hidróxido de sodio (esta solución se llamara luego mezcla 1), luego calentar las cubetas del espectrofotómetro a 37 C. Pipetear 1 ml de mezcla 1, dentro de cada tubo. Seguidamente colocar a 510 nm el lente del espectrofotómetro estandarizando con la lectura del blanco. Adicione 50 ul de muestra a los tubos con regente (mezcla 1), mezclar e inmediatamente coloque en la cubeta de lectura. Finalmente después de exactamente 30 segundos lea la absorbancia (A1). Lea otra vez a 60 segundos (A2), de la primera lectura y haga la diferencia de los dos.

Cálculo

$$\frac{A2 - A1 \text{ de la muestra}}{\text{Abs estandar}} = \text{mg/dl.}$$

3.4.4 Proteínas totales

Se utilizó el método de Biuret (UBC) el cual se basa en el método colorimétrico directo para la determinación de proteínas totales.

Fundamento

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan en un medio alcalino, con el ión cúprico de reactivo Biuret, estabilizado por tartrato, para formar un complejo de color violeta cuya máxima absorción se da a 555nm.

Procedimiento

Preparar una batería de tubos, blanco (B), estándar (St) y muestras (M), adicionar los reactivos como indica el cuadro:

| REACTIVOS | B | St | M |
|-----------------------------|----|------|------|
| Sol. Fisiológica 0.85% (ml) | 1 | 0.95 | 0.95 |
| Sol. Estándar (ul) | -- | 50 | -- |
| Muestra suero (ul) | -- | -- | 50 |
| Reactivo Biuret (ml) | 4 | 4 | 4 |

Mezclar en el vortex; dejar en reposo por 30 min. A temp. Ambiente, Leer 540 nm.

Cálculo:

$$\text{Proteína total (g/dl.)} = \frac{\text{Abs. Muestra}}{\text{Abs. Estándar}} \times C \text{ estándar}$$

3.4.5 Albúminas

Se empleó el método colorimétrico directo propuesto por Peters et al., (1982) con reactivos TECO Diagnostics (2000).

Procedimiento:

En un porta tubos coloque tubos para: blanco, estándar, control y muestras a analizarse, pipetee 1 ml de regente en cada tubo. Transfiera 0.01 ml de muestra a los tubos respectivos y mezcle seguidamente deje reposar a temperatura ambiente por 5 minutos. Estandarizar el espectrofotometro a 630 nm tomando como base cero el blanco y lea las absorbancias de cada tubo.

Cálculo

$$\text{Albúmina (g/dl.)} = \frac{\text{Abs. Muestra}}{\text{Abs. Estándar}} \times \text{Concentración del estándar}$$

3.4.6 Globulinas

La determinación de globulinas se obtuvo por diferencia de la concentración de proteínas totales menos la concentración de albúminas.

$$\text{Globulinas (g/dl.)} = \text{Proteína total} - \text{albúminas}$$

3.4.7 Colesterol

Método de fenol libre

Es colesterol es una sustancia grasosa encontrada en la sangre, bilis y líquido tisular, sirve como un precursor de ácidos grasos biliares, esteroides, y vitaminas D. La determinación de colesterol sérico es una mayor ayuda en la diagnosis y clasificación de Lipemias. Otras

condiciones como la deficiencia Tiroidea Hepática influenciada por los niveles de colesterol.

Fundamento

La secuencia de la reacción enzimática empleada en este análisis de colesterol es:

Esteres de Colesterol $\xrightarrow{\text{Colesterol Esterasa}}$ Colesterol + Ácidos grasos

Colesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{Colesterol oxidasa}}$ Colesterol-3-ona + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4-Aminoantipyrina + p-HBS $\xrightarrow{\text{H.Peroxidasa}}$ Quinoneimina + 2 H₂O
(rojo pálido)

Los ésteres de colesterol son hidrolizados para producir colesterol. Peroxido de hidrógeno es producido de la oxidación de colesterol por colesterol oxidasa. La absorción en 520 nm de la solución de esta opacidad es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

Procedimiento

Preparar el reactivo de acuerdo a las instrucciones del precinto del vial, preparar tubos: blanco, estándar, control, muestras; 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Pipetear 1 ml de reactivo a todos los tubos y precalentar a 37°C por unos 2 minutos. Adicionar 0.01 ml (10 ul) de muestra a cada respectivo tubo, mezclar. Incubar todos los tubos a 37°C por 10 minutos. Nivelar el espectrofotómetro con el reactivo blanco a 520 nm. (Rango de Longitud de onda de 500 – 550nm). Leer y grabar absorbancias de todos los tubos.

Cálculos:

$$\frac{\text{Absorbancia (muestra)}}{\text{Absorbancia (estándar)}} \times \text{concentración del estándar} = (\text{mg/dl.})$$

3.4.8 Calcio

Fundamento

El calcio reacciona con el complejo cresolfaelin en 8-hydroxiquinolina, para formar un complejo colorado (color púrpura), leída a 570 nm de absorbancia (550 a580 nm) la intensidad del color es proporcional a la concentración de calcio, la intensidad del color y su estabilidad se muestran con una mínima interferencia por otros iones metálicos.

El método utilizado fue el colorimétrico utilizando la metodología descrita por TECO Diagnostics (2000).

Procedimiento

Marcar los tubos blanco, estándar, control y muestras, transferir 1 ml de regente de trabajo dentro de cada tubo. Adicione 20 ul de muestra a los tubos respectivos y mezcle, deje reposar por un mínimo de 60 segundos a temperatura ambiente, coloque el espectrofotómetro a 570 nm y lea las absorbancias.

Cálculo:

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del estándar}} \times \text{concentración del estándar (mg/dl.)}$$

3.4.9 Potasio

La cantidad de calcio es determinada usando tetrafenil-boro en una mezcla preparada específicamente que produce una suspensión coloidal la turbidez del cual es proporcional la concentración de Potasio esta en el rango de 2 a 7 mEq/L..

El método utilizado fue el colorimétrico utilizando la metodología descrita por TECO Diagnostics (2000).

El potasio es el principal catión del fluido intracelular y es un importante constituyente del fluido extracelular.

Procedimiento

En un porta tubos colocar tubos para: blanco, estándar, control y muestras. Pipetear 1 ml de regente de potasio a todos los tubos, adicione 0.01 ml de muestra a los tubos respectivos mezcle con cuidado y deje a temperatura ambiente por 3 minutos, después de este tiempo lleve a la lectura en espectrofotómetro a 500 nm. El espectrofotómetro debe colocarse a cero con el regente blanco, lea y anote la absorbancia de los tubos.

Cálculo:

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del estándar}} \times \text{concentración del estándar (mEq/L.)}$$

3.4.10 Sodio

El método utilizado fue el colorimétrico utilizando la metodología descrita por TECO Diagnostics (2000).

El sodio es el principal catión del fluido extracelular y es un importante constituyente del fluido intracelular.

Procedimiento

Marcar tubos blanco, estándar, control y muestras pipetear un 1 ml de regente de potasio a todos los tubos, adicionar 0.01 ml de muestra a los tubos respectivos mezclar con cuidado y dejar a temperatura ambiente por 3 minutos, después de 3 minutos lleve a la lectura en espectrofotómetro a 500 nm el espectrofotómetro debe colocarse a cero con el regente blanco, lea y anote la absorbancia de los tubos.

Cálculo:

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del estándar}} \times \text{concentración del estándar (mEq/L.)}$$

3.4.11 Magnesio

Fundamento

En este procedimiento el magnesio y el 1- azul xylidil combinados bajo condiciones alcalinas y solubles en agua reaccionan como un quelato rojo púrpura con una absorción

máxima a 520 nm. La interferencia de calcio es impedida por la presencia de EDTA, el cual oculta al quelato de calcio pareado. El quelato de magnesio es de un color estable y el ensayo no esta sujeto a interferencias por otros iones orgánicos.

El magnesio se determino por calorimetría con el método propuesto por STANBIO Laboratory (2001).

Procedimiento

1.- Pipetee a cada tubo los siguientes volúmenes (ml) y mezcle bien:

| REACTIVOS | Blanco (RB) | Estándar (s) | Muestra (u) |
|----------------------|-------------|--------------|-------------|
| Reactivo p/ magnesio | 1 | 1 | 1 |
| Estándar | -- | 0.01 | -- |
| Muestra | -- | -- | 0.01 |

2.- Incubar las cubetas a 37 °C por 3 minutos o incubar a temperatura ambiente por 10 minutos.

3.- Lea el estándar y la muestra contra Blanco a 520 nm antes de 3 horas.

Cálculo:

Abs de la muestra

----- x concentración del estándar (mEq/L.)

Abs del estándar

3.5 Variables de respuesta

3.5.1 Variables bioquímicas

| | | |
|---|--------------------|----------|
| - | Glucosa | (mg/dl.) |
| - | Fósforo inorgánico | (mg/dl.) |
| - | Creatinina | (mg/dl.) |
| - | Proteína total | (g/dl.) |
| - | Albúmina | (g/dl.) |
| - | Globulinas | (g/dl.) |
| - | Colesterol | (mg/dl.) |
| - | Calcio | (mg/dl.) |
| - | Potasio | (mEq/L.) |
| - | Sodio | (mEq/L.) |
| - | Magnesio | (mEq/L.) |

3.5.2 Variables concomitantes

| | |
|---|---|
| - | Peso de animal (kg) |
| - | Época de colección de semen (marzo a mayo del 2001) |

3.6 Análisis estadístico

Para encontrar las diferencias estadísticas se utilizó el Diseño Jerárquico factorial, con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \lambda_i + \beta_{j(i)} + \gamma_f + \lambda\gamma_{if} + \beta\gamma_{j(i)f} + \epsilon_{m(ijf)}$$

Donde:

| | |
|-----------------------|---|
| Y_{ijf} | = Variable dependiente |
| μ | = Es el promedio general del experimento |
| λ_i | = Efecto de la i-ésima edad |
| $\beta_{j(i)}$ | = Efecto de la j-ésima llama anidada en la edad |
| γ_f | = Efecto de la f-ésima colección semanal |
| $\lambda\gamma_{if}$ | = Efecto de la i-ésima edad con la f-ésima colección semanal |
| $\beta\gamma_{j(i)f}$ | = Efecto de la j-ésima llama con la f-ésima colección semanal |
| $\epsilon_{m(ijf)}$ | = Error debido al muestreo |

| | |
|--------|---|
| Donde: | $i = 1, 2 \text{ y } 3 \text{ edades}$ |
| | $j = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ y } 6 \text{ llamas}$ |
| | $f = 1, 2, 3 \text{ y } 4 \text{ colecciones}$ |
| | $m = 1-24 \text{ repeticiones}$ |

El arreglo espacial se dio de la siguiente manera:

| | | SEMANAS DE COLECCION | | | |
|-------------|-----------------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| EDAD | ANIMALES | 1ra. | 2da. | 3ra. | 4ta. |
| 3 años | Col claro | A ₁ | B ₁ | C ₁ | D ₁ |
| | Col obs. | A ₂ | B ₂ | C ₂ | D ₂ |
| 4 años | Manchas | A ₃ | B ₃ | C ₃ | D ₃ |
| | LM | A ₄ | B ₄ | C ₄ | D ₄ |
| 5 años | Pinta | A ₅ | B ₅ | C ₅ | D ₅ |
| | Negro | A ₆ | B ₆ | C ₆ | D ₆ |

Donde:

A = Promedio de los resultados de colección de la 1ra semana, para 3, 4 y 5 años edad

B = Promedio de los resultados de colección de la 2da semana, para 3, 4 y 5 años edad

C = Promedio de los resultados de colección de la 3ra semana, para 3, 4 y 5 años edad

D = Promedio de los resultados de colección de la 4ta semana, para 3, 4 y 5 años edad

Los datos luego de ser obtenidos fueron introducidos al paquete estadístico S.A.S. Versión 6.12 para el respectivo análisis estadístico.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentan a continuación los resultados de la evaluación de datos obtenidos.

4.1 Glucosa

Los cuadros No. 1 y 2 muestran el resumen de los resultados obtenidos para la concentración de Glucosa en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 1. Concentración de glucosa por edad en plasma seminal de llamas (mg/dl.).

| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 6,3360 | 6,035 | 7,4515 |
| Col 2 | 6,1015 | 7,167 | 6,733 |
| Col 3 | 5,3015 | 6,545 | 6.452 |
| Col 4 | 6,2005 | 4,959 | 5,6655 |
| Promedio | 5,985 | 6,177 | 6.576 |
| SD | 0,466 | 0,934 | 0.738 |

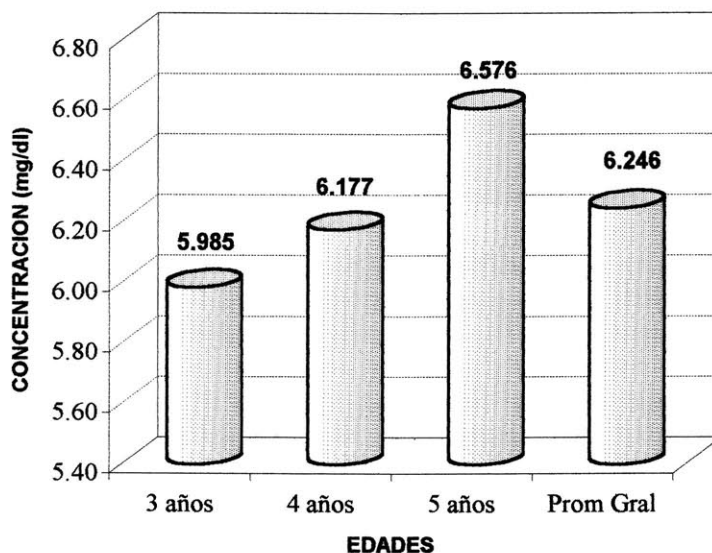
Cuadro No. 2. Resumen de la concentración de glucosa en plasma seminal de llama.

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|------|
| 3, 4 y 5 años | 23 | 6.246 | 0.716 | 10.53 | 4,959 | 7,45 |

La concentración media de glucosa en plasma seminal de llamas es de 6.246 mg/dl., observándose un ligero incremento de concentración de glucosa en animales de 5 años

(6.576 mg/dl.) respecto a los machos de 3 y 4 años con 5.985 mg/dl. y 6.177 mg/dl. respectivamente (Figura No. 1).

Figura No. 1. Concentración de glucosa en plasma seminal de llama en tres edades.

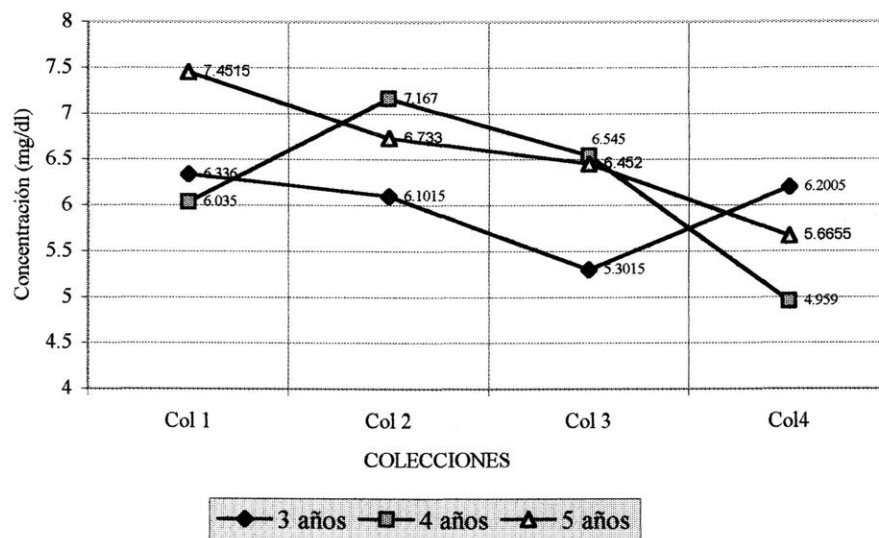


El análisis de varianza para la glucosa (anexo No. 2), determina que no existen diferencias estadísticas: entre edades ($p > 0.05$), ni entre animales de cada edad ($p > 0.05$), ni colecciones ($p > 0.05$), El coeficiente de variabilidad es de 10,53 %. Aceptándose las dos hipótesis planteadas.

Los resultados de concentración promedio de $6,246 \pm 0,716$ mg de glucosa/dl en el plasma seminal son similares a los obtenidos por Bravo, Skidmore y Zhao (2000) quienes determinaron una concentración de glucosa de $6,0 \pm 0,3$ mg/dl. en llamas adultas. Garnica y Fuentes (1998) que reportan una concentración de glucosa de $5,59 + 0,21$ y $6,43 + 0,38$ mg/dl., para llamas de 3 y 6 años respectivamente. Achata (1989), determina una concentración de 6.16 mg/dl.. En alpacas estos autores indican que los rangos de presentación de la glucosa están entre 4.0 a 8.0 mg/dl. del plasma seminal.

El gráfico No. 1, muestra la concentración de glucosa de cada colección, donde puede observarse que los promedios por edades en cada colección no se separan mucho en todas las colecciones, manteniéndose un rango constante en todas estas, mostrando esto que no hay influencia de la edad ni del número de colecciones en la concentración de glucosa.

Gráfico No. 1. Concentración de glucosa por colección

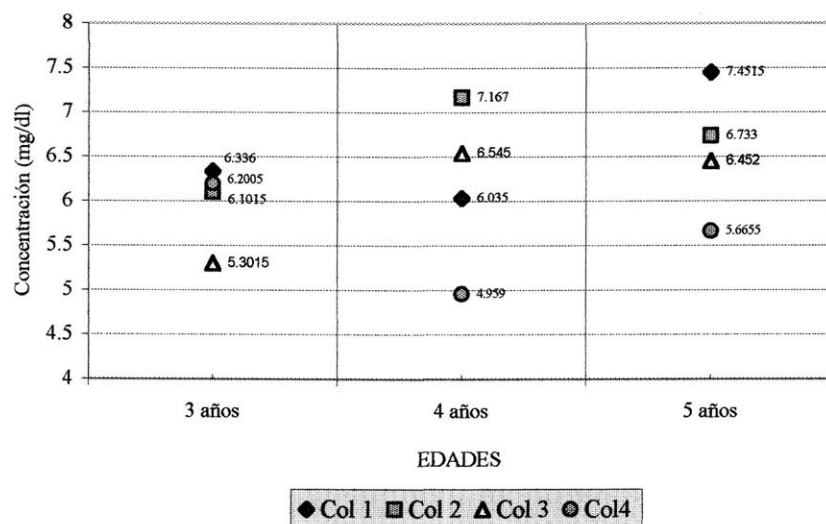


El gráfico No. 2, muestra la concentración de glucosa por edad; los animales de 3 años presentan uniformidad de concentración de glucosa en las diferentes colecciones, mientras que los de 4 años de edad tienen mayor variabilidad sin embargo estadísticamente no son diferentes.

Los niveles de concentración de glucosa más baja se presenta en la cuarta colección en todos los animales; este comportamiento se atribuye al efecto de eyaculaciones anteriores y algún factor no controlado.

El grupo de animales de 5 años presentó una variación en la concentración de glucosa, encontrando una concentración mas elevada en la 1ra. colección, bajando correlativamente su concentración en las demás colecciones, debido tal ves a las necesidades de los espermatozoides para movilización, o un factor externo que ha fomentado su uso por estos. También podría deberse al estado físico del animal aunque no fue manifiesto.

Gráfico No. 2. Concentración de glucosa por edad



La glucosa es considerada como la principal fuente de energía para el metabolismo de los espermatozoides en los camélidos sudamericanos, por no poseer vesícula seminal que en otras especies aporta la Fructosa, principal metabolito energético mayormente utilizado por los espermatozoides. Según ciertas investigaciones, se ha concluido que los espermatozoides de los camélidos sudamericanos como la Alpaca presentan mayor afinidad por la glucosa (Bravo y col, 2000).

De acuerdo a los resultados del trabajo y las afirmaciones de otros investigadores los niveles de concentración de glucosa en el semen de llamas es muy importante, pues de ello penderá en gran medida el tiempo de vida de los espermatozoides. Por lo que se concluye que a mayor concentración mayor tiempo de vida y motilidad de espermatozoides y viceversa.

Los resultados obtenidos en este trabajo; nos indica que las concentraciones de glucosa no incrementan ni disminuyen con la edad significativamente, estadísticamente sus medias son similares.

Tanto en las tres edades y en diferentes colecciones, la concentración de glucosa en el momento del eyaculado es similar, dándole a los espermatozoides de cada edad la misma posibilidad de nutrirse.

4.2 Fósforo inorgánico

En los cuadros No. 3 y 4, se muestra los datos obtenidos por edades de la concentración de Fósforo inorgánico en el plasma seminal de llama, que estadísticamente son diferentes.

Cuadro No. 3. Concentración de fósforo inorgánico por edad en el plasma seminal de llamas (mg/dl.).

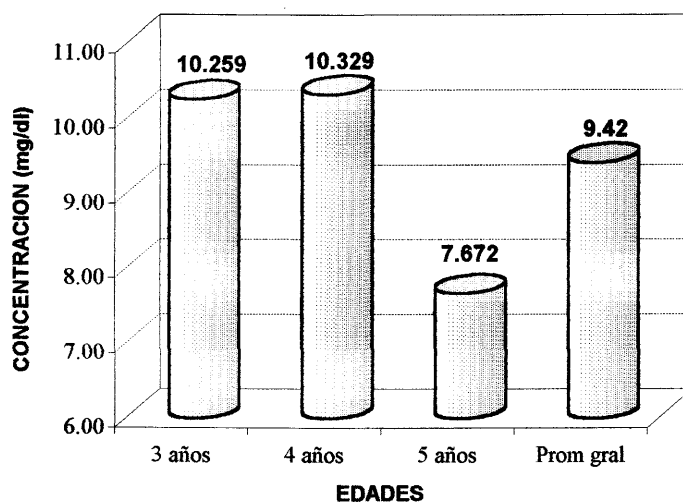
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 14,996 | 13,3500 | 7,1285 |
| Col 2 | 9,9320 | 9,6430 | 8,1785 |
| Col 3 | 7,7975 | 8,5420 | 7,7615 |
| Col 4 | 8,3100 | 9,7825 | 7,6185 |
| Promedio | 10,259 | 10,329 | 7,672 |
| SD | 3,287 | 2,089 | 0,433 |

Cuadro No. 4. Resumen de la concentración de fósforo inorgánico en plasma seminal de llama

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|-----------|-------------------|---------|-------|----------|-------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 9.42 | 2.42 | 14.41 | 7.13 | 14.99 |

La concentración media de fósforo inorgánico en plasma seminal de llamas es de 9.42 mg/dl., observándose menor concentración en animales de 5 años (7,672 mg/dl.) respecto a los machos de 3 y 4 años con 10,259 mg/dl. y 10.329 mg/dl. respectivamente (Figura No.2).

Figura No. 2. Concentración de fósforo inorgánico en plasma seminal de llama en tres edades.



La concentración de Fósforo inorgánico de las diferentes edades fueron evaluadas mediante un análisis de varianza, encontrando los resultados que se muestran en el anexo No. 3, donde se observa que existe diferencia significativa en la concentración

entre edades ($p < 0.05$), también entre colecciones y entre la interacción edad por colección ($p < 0.05$). Rechazándose las dos hipótesis planteadas.

Para contrastar las diferencias entre edades, se utilizó la Prueba múltiple de Duncan la cual mostró que los animales de 4 años de edad poseen el mayor promedio en concentración de fósforo inorgánico (10,329 mg/dl.), siguiéndole el promedio de concentración de los animales de 3 años de edad (10,259 mg/dl.), teniendo el promedio mas bajo en concentración los de 5 años de edad (7,672 mg/dl.).

De igual forma se realizó la prueba de Duncan, para encontrar las diferencias entre colecciones al ser estas significativas en el ANVA, en la cual muestra que en la primera colección se obtuvo la mayor concentración de Fósforo inorgánico (11,825 mg/dl.), disminuyendo secuencialmente la concentración en la segunda, la cuarta y la tercera colección con 9,300; 8,570; 8,033 mg/dl. respectivamente, estadísticamente presentan diferencia significativa.

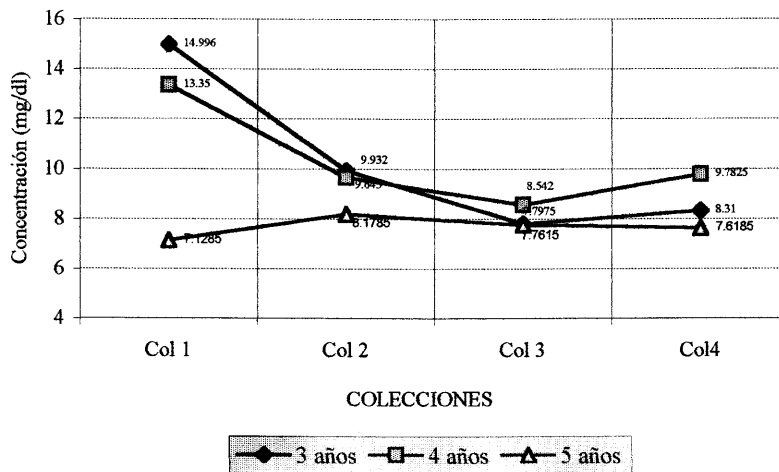
Fuentes (1990), muestra resultados de concentración de Fósforo inorgánico en llamas, con los valores de $11,25 \pm 0,89$ y $12,79 \pm 0,71$ mg/dl. para 3 y 6 años de edad respectivamente. Bravo, Skidmore y Zhao (2000) presentan los resultados de concentración de Fósforo inorgánico de $10,0 \pm 0,2$ mg/dl. en llamas adultas y $12,0 \pm 2,0$ $8 \pm 0,4$ mg/dl. en alpacas de 3 y 6 años respectivamente. Garnica y Fuentes (1998) dan resultados de concentración de Fósforo inorgánico de 9,52 mg/dl., para alpacas de 3 y 6 años respectivamente.

Bravo (2000), indica que los rangos de presentación de Fósforo inorgánico en llama están entre 7.0 a 17.0 mg/dl. de plasma seminal.

El gráfico No. 3, muestra que la concentración de fósforo inorgánico es alta en primera colección, luego disminuye significativamente en la segunda colección estandarizándose en la tercera y cuarta colección en llamas de 3 y 4 años de edad; mientras que en los animales de 5 años de edad la concentración de fósforo inorgánico son similares en todas las colecciones.

La pronunciada separación de concentraciones en las 3 edades en la primera colección no se observa en las demás colecciones, este comportamiento se puede atribuir al factor de manejo de semen en la primera colección ó a que los espermatozoides utilizaron muy rápidamente este fósforo inorgánico en los animales de 5 años.

Gráfico No. 3. Concentración de fósforo inorgánico por colección

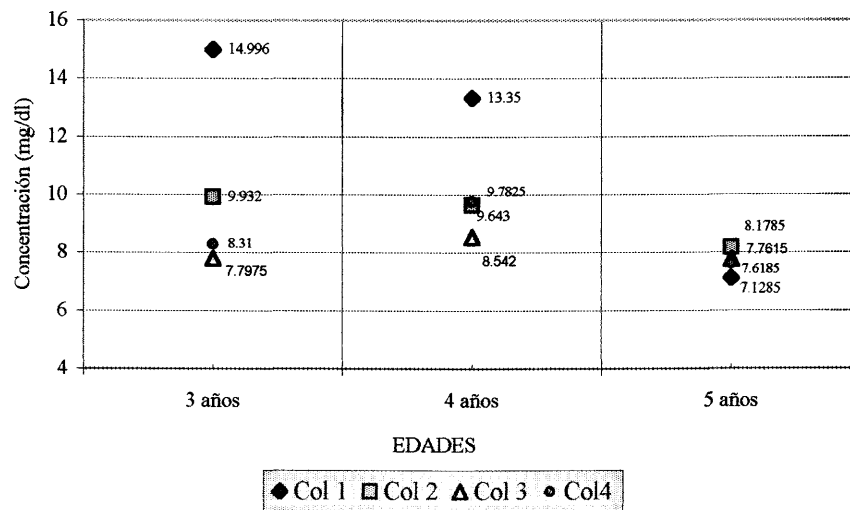


El gráfico No. 4, muestra que la concentración de fósforo inorgánico en los animales de 3 años varían considerablemente entre las colecciones, donde en la primera colección se presenta la mayor concentración y en la tercera colección la menor concentración resultado que se atribuye a factores no controlados en la primera colección. Se puede observar también que los animales de 5 años de edad en todas las colecciones presentan

una relativa estabilidad en concentración, evidenciándose que son bajas con respecto a las otras edades.

En general se puede decir que no existe variabilidad de concentración de fósforo inorgánico en llamas de las 3 edades.

Gráfico No. 4. Concentración de fósforo inorgánico por edad



Conociendo que el fósforo participa en el metabolismo y como reservorio de energía disponible, formando mono, di y trifosfátidos en las células, su importancia es fundamental para la movilidad y vigor del espermatozoide.

Los resultados encontrados nos indican que la concentración de fósforo inorgánico baja solamente cuando los animales son mayores de edad, manteniéndose constante en los animales relativamente jóvenes, probablemente la formación de ATP's es mayor en animales de mayor edad, que activa en menor tiempo la capacidad de movimiento,

metabolismo y lapso de vida de los espermatozoides por la utilización mas rápida de este compuesto.

La viabilidad de los espermatozoides de los animales jóvenes, indicarían que tienen un tiempo mayor de reacción, por no utilizar rápidamente el fósforo inorgánico que existe en el plasma seminal, debido talvez a la acción de otro compuesto que conforma este plasma.

4.3 Creatinina

En los cuadros No. 5 y 6 se muestra los resultados de la concentración de creatinina en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 5. Concentración de creatinina por edad, en plasma seminal de llamas (mg/dl.).

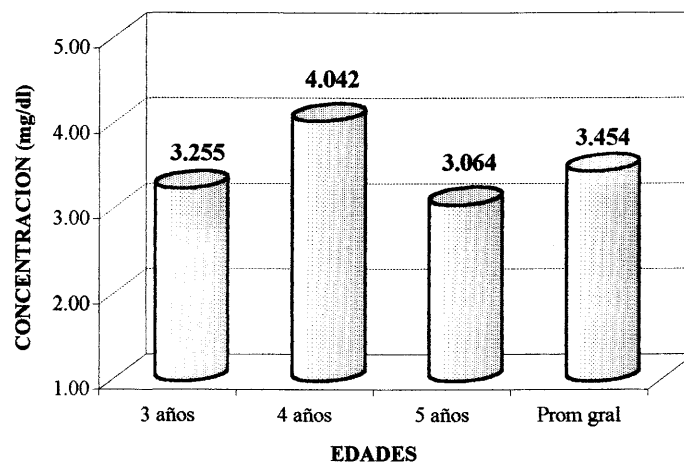
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 4,4305 | 4,7985 | 3,5885 |
| Col 2 | 3,9920 | 3,5885 | 5,1981 |
| Col 3 | 2,1770 | 4,6775 | 2,5400 |
| Col 4 | 2,4195 | 3,1050 | 0,9275 |
| Promedio | 3,255 | 4,042 | 3,064 |
| SD | 1,123 | 0,829 | 1,795 |

Cuadro No. 6. Resumen de la concentración de creatinina en plasma seminal de llama

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD + | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 3,454 | 1,27 | 56,25 | 2,17 | 5,19 |

La concentración media de creatinina en plasma seminal de llamas es de 3,454 mg/dl., observándose un ligero incremento en su concentración en animales de 4 años (4,042 mg/dl.) respecto a los machos de 3 y 5 años con 3,225 mg/dl. y 3,064 mg/dl. respectivamente (Figura No. 3).

Figura No. 3. Concentración de creatinina en plasma seminal de llama en tres edades.



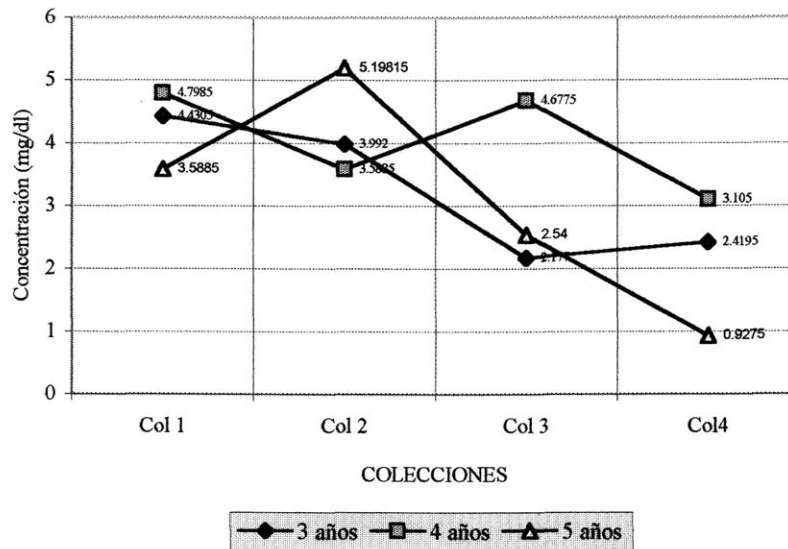
Los resultados de concentración de creatinina de las diferentes edades en estudio, en el análisis de varianza (anexo No. 4) muestra que no existen diferencias significativas entre edades ($p > 0.05$), ni entre colecciones ($p > 0.05$), ni entre las demás interacciones del modelo estadístico ($p > 0.05$). Aceptándose las dos hipótesis planteadas.

Salisbury y Col. (1978) en su trabajo, señalan que la fosfocreatina es sintetizada por el esperma del toro a partir de la creatinina y del ácido fosfopirúvico. Los valores reportados sobre concentración de creatinina para toros son de 12,1 mg/dl. y para garañones de 3,7 mg/dl. (Mann 1954).

El resultado encontrado de la concentración de creatinina de $3,454 \pm 1,27$ mg/dl. en el plasma seminal de llama, se asemeja bastante al de los garañones (3,7 mg/dl.), reportado por Mann (1954), sin embargo sus estudios se realizan en semen y no así en plasma seminal.

El gráfico No. 5, muestra la concentración de creatinina por colección, donde se observa que las concentraciones de cada colección son bastante diferentes entre edades, solamente en la primera colección son ligeramente homogéneas en relación a las demás colecciones, esto puede deberse a diferentes factores fisiológicos del animal, que influyen directamente sobre la producción de este componente por cada animal de cada edad.

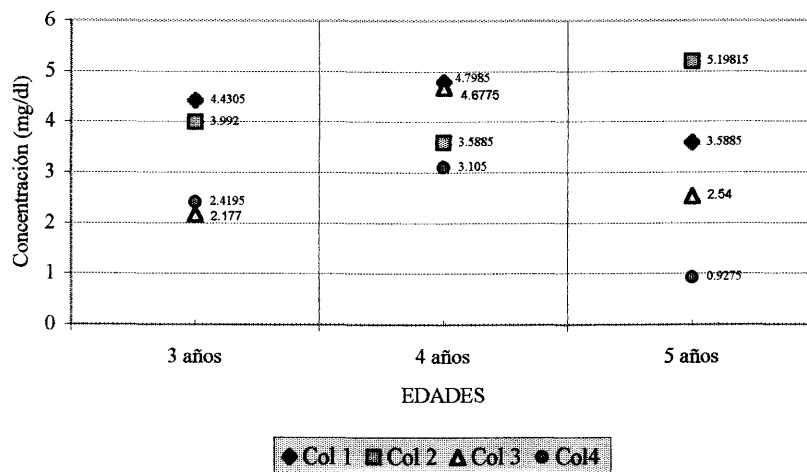
Gráfico No. 5. Concentración de creatinina por colección



El gráfico No. 6, muestra la concentración de creatinina por edad, donde los animales de 3 y 4 años de edad, son los que mantienen una cierta homogeneidad en las

concentraciones, a diferencia de los animales de 5 años de edad que no presentaron similitud, siendo mayor las que corresponden a la segunda y primera colección y considerablemente menor en la cuarta colección.

Gráfico No. 6. Concentración de creatinina por edad



Estadísticamente no existen diferencias entre colecciones de la misma edad de llamas, ésta no significancia posiblemente se deba a que las concentraciones encontradas varían altamente (CV = 56,252).

No se ha encontrado reportes sobre concentraciones de creatinina en la especie camélida, sin embargo estas variaciones son atribuidas a algún efecto medioambiental o alimentario; pues se sabe que la creatinina sirve como reservorio para la conversión a ATP en los músculos. Siendo en este caso importante su concentración en el plasma seminal para la activación del movimiento de los espermatozoides.

4.4 Proteínas totales

En los cuadros No. 7 y 8 se muestra un resumen de los resultados obtenidos para la concentración de proteínas totales en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 7. Concentración de proteínas totales por edad en el plasma seminal de llamas (g/dl.).

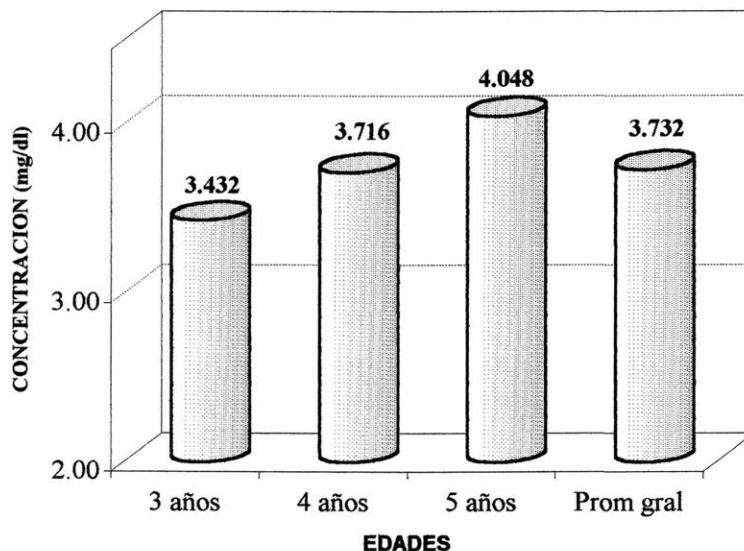
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 3,6385 | 3,6045 | 4,278 |
| Col 2 | 3,004 | 2,9785 | 3,7315 |
| Col 3 | 3,285 | 4,004 | 4,0685 |
| Col 4 | 3,802 | 4,276 | 4,115 |
| Promedio | 3,432 | 3,716 | 4,048 |
| SD | 0,358 | 0,564 | 0,229 |

Cuadro No. 8. Resumen de la concentración de proteínas totales en plasma seminal de llama

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|-------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 3,732 | 0,45 | 7.39 | 2.978 | 4.276 |

La concentración media de proteínas totales en plasma seminal de llamas es de 3.732 mg/dl., observándose la mayor concentración en animales de 5 años (4.048 g/dl.), respecto a los machos de 4 y 3 años con 3,716 g/dl. y 3,432 g/dl. respectivamente (Figura No. 4).

Figura No. 4. Concentración de proteínas totales en plasma seminal de llama en tres edades.



La concentración de proteínas totales al análisis de varianza (anexo No. 5), nos indica que existe diferencias significativas entre edades ($p < 0.05$), pero no así entre animales de cada edad ($p > 0.05$), mostrándose también diferencias significativas entre colecciones ($p < 0.05$), la interacción edad por colección no muestra diferencia estadística ($p > 0.05$). Rechazándose las dos hipótesis planteadas.

Estas diferencias detectadas entre edades fueron analizadas mediante la Prueba Múltiple de Duncan; mostrando que los animales de 5 años de edad poseen el mayor promedio en concentración de proteínas totales (4,0483 g/dl.), siguiéndole los dos promedios de las edades de 4 y 3 años, siendo estos dos últimos similares estadísticamente.

Las diferencias entre colecciones también fueron analizadas por la prueba de comparación de medias de Duncan. La cuarta, la primera y la tercera colección,

presentaron la mayor concentración de proteínas totales, las cuales son similares estadísticamente; la segunda colección tiene la menor concentración de proteínas totales.

Autores como Fuentes (1990), reportan una concentración de 3.79 ± 0.14 g/dl. de proteínas totales en plasma seminal de llama. Bravo, Skidmore y Zhao (2000) determinaron una concentración de proteínas totales de 4.0 ± 0.1 g/dl. en llamas adultas. Garnica y Fuentes (1998) obtienen la concentración de este componente en 3.53 ± 0.14 y 4.04 ± 0.17 g/dl., para llamas de 3 y 6 años respectivamente. Achata (1989) muestra que los resultados de concentración de proteínas totales en alpacas alcanza a 3,74 g/dl..

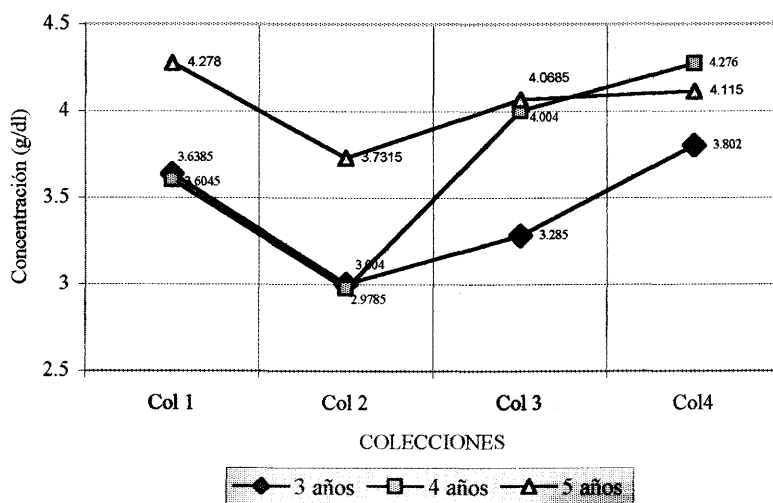
Los rangos de concentración de proteínas totales están entre 3,0 a 4,33 g/dl. de plasma seminal en llamas y de 2,49 a 4,36 g/dl. en alpacas.

El gráfico No. 7, muestra la concentración de proteína total por colección. Los animales de 5 años tienen la mayor concentración en la primera y segunda colección en comparación a las otras edades. Los animales de 3 y 4 años, mostraron una concentración similar en la primera y segunda colección. En todas las edades existe una disminución de concentración de proteína total de la primera a la segunda colección, situación atribuible a un manejo inadecuado de las muestras de semen en temperatura o tiempo de conservación.

A partir de la tercera colección se observa que la concentración de proteínas totales incrementan siendo menor este incremento en los animales de 3 años. Este comportamiento podría deberse a que estos animales secretan una cantidad inferior de proteínas al plasma seminal por su desarrollo corporal que continúa a esta edad, como consecuencia los espermatozoides tienen protección contra algunos agentes (Derivaux,

1982), y posiblemente existe una menor aglutinación en estas edades ya que el factor causante de la viscosidad del semen de llama es una glicoproteína.

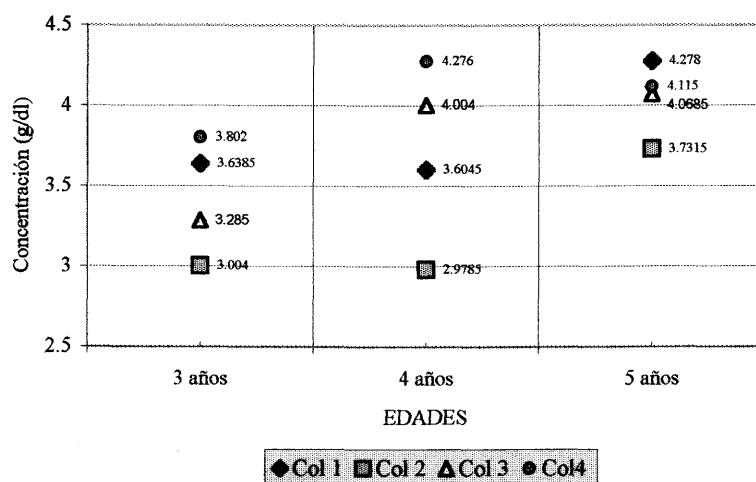
Gráfico No. 7. Concentración de proteína total por colección.



El gráfico No. 8, muestra la concentración de proteína total por edad, donde se observa que los animales de 5 años son los que mantienen una estabilidad aparente en la concentración de este componente, el grupo de 4 años tiene mayor variabilidad en cada colección, la gran dispersión de las concentraciones de proteína total se puede atribuir a la influencia de factores no medidos como el manejo y la libido que presentaron los animales de ésta edad.

Los animales de tres años tienen una concentración de proteínas relativamente más baja corroborando a lo explicado en la gráfica No.7.

Gráfico No. 8. Concentración de proteína total por edad.



Los resultados obtenidos sobre la concentración de proteínas totales ($3,732 \pm 0.45$ g/dl. de plasma seminal), está dentro de los rangos de trabajos anteriores en llamas y alpacas.

En este trabajo se ha determinado que los animales adultos, son los que poseen una concentración superior de proteína total (4,048 g/dl. a los 5 años de edad), en comparación a las otras edades en estudio (3 y 4 años de edad); por lo tanto, en llamas de 5 años los espermatozoides tienen mayor protección y menor posibilidad de capacitación prematura evitándose la reacción acrosomal sin que esté en contacto con el ovocito o esté en las condiciones adecuadas que le brinda el útero de la hembra.

Fuentes (1990), indica que no hay diferencias estadísticas entre edades, que difiere con el resultado de este trabajo. Es posible que la diferencia se deba al tamaño de muestra, o al tipo de alimentación que recibieron los animales.

4.5 Albúmina

En los cuadros No. 9 y 10; se muestra un resumen de los resultados de la concentración de Albúmina determinada en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 9. Concentración de albúmina por edad en plasma seminal de llamas (g/dl.).

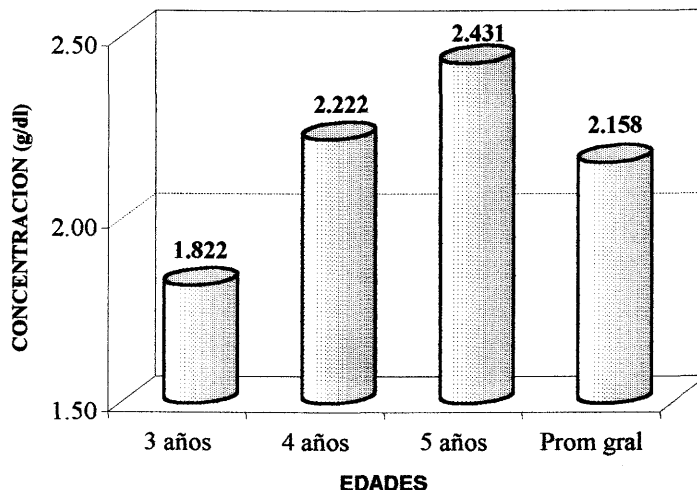
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 1,984 | 2,234 | 2,784 |
| Col 2 | 1,984 | 2,4085 | 2,446 |
| Col 3 | 1,0005 | 1,9855 | 2,6245 |
| Col 4 | 2,3205 | 2,259 | 1,8685 |
| Promedio | 1,822 | 2,222 | 2,431 |
| SD | 0,570 | 0,175 | 0,399 |

Cuadro No. 10. Resumen de la concentración de albúmina en plasma seminal de llama (g/dl.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral.. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------------|-------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 2,158 | 0,46 | 11.52 | 1,0005 | 2,784 |

La concentración media de albúminas en plasma seminal de llamas es de 2,158 g/dl., observándose la mayor concentración en animales de 5 años (2,431 g/dl.) respecto a los machos de 4 y 3 años con 2,222 g/dl. y 1,822 g/dl. respectivamente (Figura No. 5).

Figura No. 5. Concentración de albúmina en plasma seminal de llama en tres edades.



El análisis de varianza para la concentración de albúmina (anexo No. 6), muestran diferencias significativas entre edades ($p < 0.05$), entre colecciones ($p < 0.05$), y entre la interacción edad por colección ($p < 0.05$); pero no así entre animales de cada edad ($p > 0.05$), Rechazándose las dos hipótesis planteadas.

Según la comparación de medias por la Prueba múltiple de Duncan, muestra que los animales de 5 y 4 años forman un grupo con concentraciones de albúmina similares (2,43 y 2,22 g/dl. de plasma seminal respectivamente), los cuales son superiores al promedio de concentración presentado en la edad de 3 años (1,822 g/dl.).

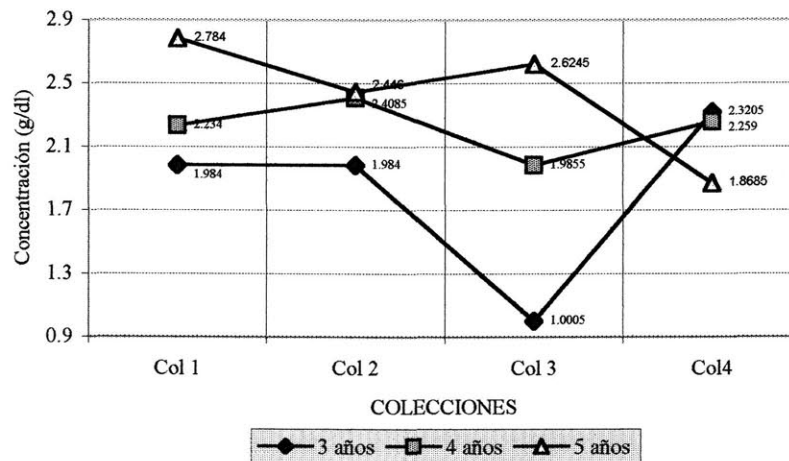
Las diferencias significativas entre colecciones encontradas en el ANVA, al comparar las medias por la prueba de Duncan, muestran que la primera, segunda y cuarta colección poseen promedios similares estadísticamente (2,33; 2,27 y 2,14 g/dl. de plasma seminal respectivamente), mientras que en la tercera colección la media (1,87 g/dl.) es diferente de las otras colecciones.

No se pudo obtener datos sobre concentraciones de albúmina para llamas pero se tiene referencia de las alpacas. Bravo, Skidmore y Zhao (2000) en sus publicaciones presentan una concentración de Albúminas de 2.0 ± 0.3 y 2.0 ± 0.2 g/dl. para alpacas de 3 y 6 años de edad respectivamente. Achata (1989), para alpacas reporta la concentración de albúmina de 2.12 g/dl. en plasma seminal.

El rango de presentación de la albúmina en plasma seminal de alpaca fluctúa de 1,0 a 3,0 g/dl. de plasma seminal.

El Gráfico No. 9, muestra la concentración de albúmina por colección, observándose la gran dispersión de concentración en todas las colecciones. La bibliografía afirma que la albúmina, es utilizada para la eliminación del colesterol durante la capacitación, por lo que se puede deducir, que en los animales de 4 años la capacitación se efectúa homogéneamente en sucesivas eyaculaciones. En las edades de 3 y 5 años, por su alta variabilidad en concentración afectaría la fertilidad del macho.

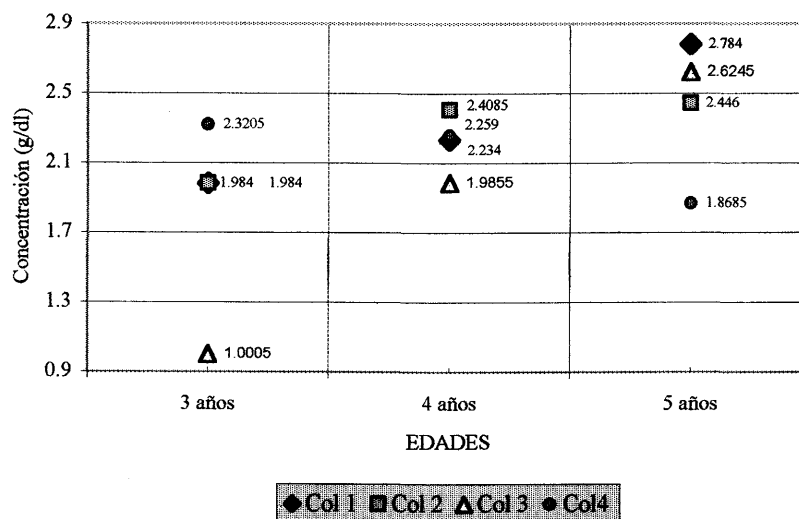
Gráfico No. 9. Concentración de albúmina por colección.



En el Gráfico No. 10, se observa la concentración de albúmina por edad, donde los animales de 4 años, son los que poseen una cierta homogeneidad en la concentración de albúminas en el plasma seminal. Se puede afirmar que los animales de esta edad lo producen y los espermatozoides utilizan este componente de una forma uniforme. Los animales de 3 años tienen mayor dispersión en la concentración de este componente, debido tal vez al potencial de capacitación de sus espermatozoides que se vería reducido por la baja concentración de este componente, o por el mayor libido que mostraron en las cópulas.

Los animales de 5 años son los que presentaron mayor concentración de albúmina, excepto en la 4ta colección. Este nivel más alto de albúminas en esta edad con respecto a las otras edades, da lugar a una mayor posibilidad para que los espermatozoides eliminen colesterol de su membrana acrosomal y la capacitación espermática sea más efectiva.

Gráfico No. 10. Concentración de albúmina por edad.



La presencia de Albúmina es importante en el eyaculado porque protegen a los espermatozoides, neutralizando el efecto perjudicial de los metales pesados y previniendo la aglutinación de estos, tal como lo expresan Dukes y Swenson (1981).

4.6 Globulinas

Los cuadros No. 11 y 12 muestran un resumen de la concentración de globulinas determinadas en el plasma seminal de llama, en sus características más sobresalientes.

Cuadro No. 11. Concentración de globulina por edad en el plasma seminal de llamas (g/dl.).

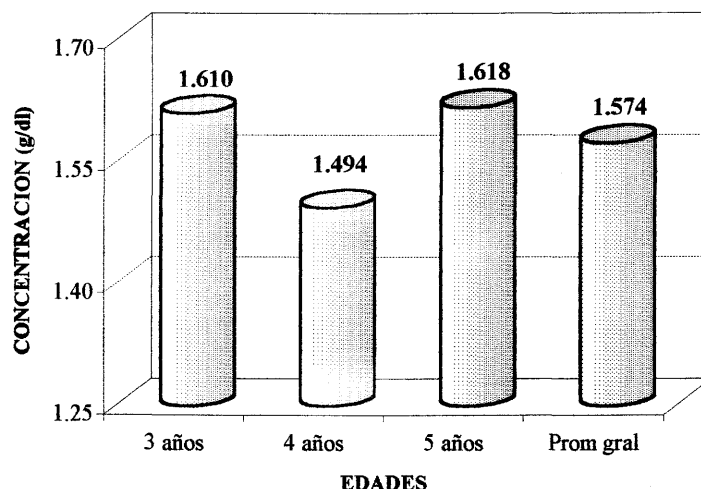
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 1,6545 | 1,3705 | 1,494 |
| Col 2 | 1,02 | 0,57 | 1,2855 |
| Col 3 | 2,2845 | 2,0185 | 1,444 |
| Col 4 | 1,4815 | 2,017 | 2,2465 |
| Promedio | 1,610 | 1,494 | 1,618 |
| SD | 0,523 | 0,687 | 0,429 |

Cuadro No. 12. Resumen de la concentración de globulina en plasma seminal de llama (g/dl.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD + | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|-------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 1,574 | 0,51 | 25.68 | 0,57 | 2,246 |

La concentración media de globulina en plasma seminal de llamas es de 1,574 g/dl., observándose un ligero incremento de concentración en animales de 5 años (1,618 g/dl.) respecto a los machos de 3 y 4 años con 1,610 g/dl. y 1,494 g/dl. respectivamente (Figura No. 6).

Figura No. 6. Concentración de globulina en plasma seminal de llama en tres edades.



El resultado de análisis de varianza para globulinas se presenta en el anexo 7, el cual nos indica que no existe diferencia entre edades ($p>0.05$), ni entre animales de cada edad ($p>0.05$), pero sí entre colecciones ($p<0.05$), no hay significancia entre la interacción edad por colección ($p>0.05$). Rechazándose las dos hipótesis planteadas.

La cantidad de globulina, estadísticamente es similar en las edades estudiadas ($p>0.05$), con lo que podemos suponer que la actividad de globulinas transportadoras se inicia desde una etapa joven, y posiblemente en las tres edades estudiadas sean igual de eficientes en su actividad.

Al ser significativas las diferencias entre colecciones de acuerdo al ANVA, se procedió a analizar sus promedios mediante Duncan, el cual denota que la tercera, cuarta y primera colección poseen promedios similares estadísticamente (1,915, 1,915 y 1,506 g/dl. de plasma seminal respectivamente), diferenciándose de la segunda colección todas ellas (0,958 g/dl.

Como promedio general para la segunda semana de colección en el grupo de animales), esto debido tal vez al tipo de manejo que se realizó después de la colección, afectando a las globulinas en su concentración pues de acuerdo al análisis de Duncan, por la variación en concentración de este componente no presenta un patrón definido.

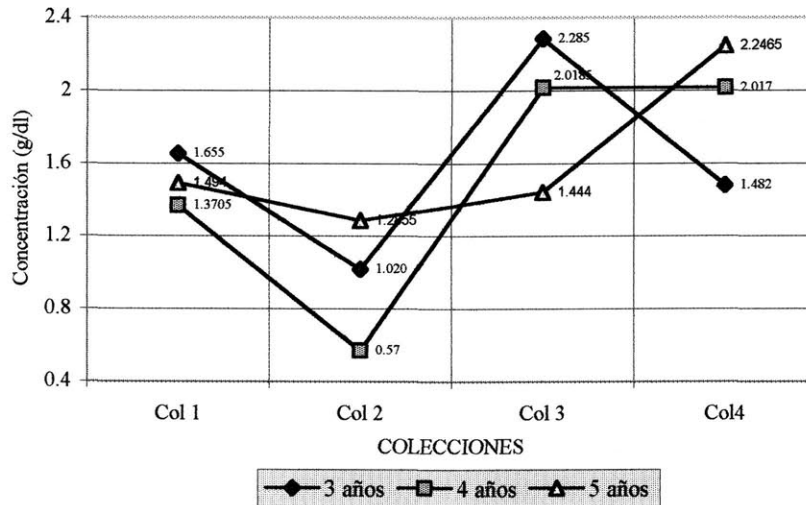
Bravo, Skidmore y Zhao (2000) presentan una concentración de globulinas de $1,0 \pm 0,1$ y $2,0 \pm 0,2$ g/dl. para alpacas de 3 y 6 años de edad respectivamente. Achata (1989), en los resultados de su trabajo en alpacas obtiene una concentración de globulinas de 1,62 g/dl. en plasma seminal.

No existen datos sobre concentraciones de globulina para llamas pero podríamos compararlos con los obtenidos para alpacas, tampoco se encuentra datos bibliográficos del análisis de este componente en otras especies. Así que los podríamos tomar como promedios de concentración normales en llamas.

Las globulinas alfa y beta en el plasma sanguíneo se unen a muchas sustancias como las hormonas, lípidos, aminoácidos, bilirrubina y drogas para transportarlas. Es posible que tenga también esta función en el plasma seminal pues su concentración no es despreciable y debe de cumplir algún fin en el eyaculado (Kolb, 1979).

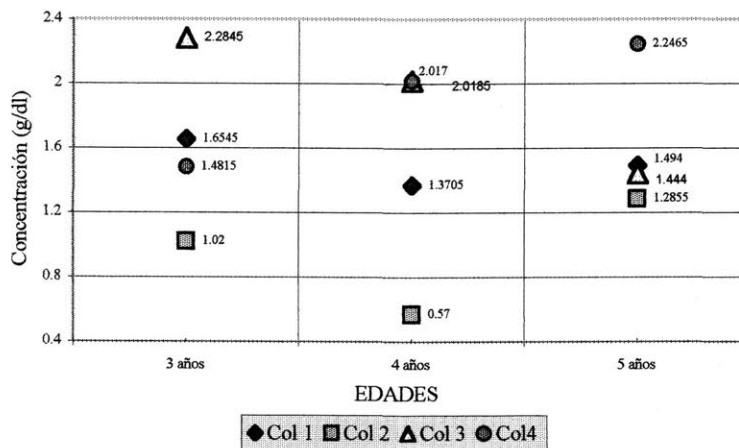
El Gráfico No. 11, presenta la concentración de globulina en plasma seminal de llama por colección, del cual podemos decir que entre colecciones hubo bastante diferencia para todo el grupo de animales en estudio, encontrándose las menores concentraciones en la segunda colección y las más dispersas en la cuarta.

Gráfico No. 11. Concentración de globulina por colección.



El Gráfico 12, muestra la concentración de globulinas por edad, donde observamos que en todas las edades su presentación es similar, debiéndose tal vez a que la cantidad de globulinas no es afectada por la edad o sea que la globulina se presenta con una concentración estadísticamente no diferente en todas las edades.

Gráfico No. 12. Concentración de globulina por edad.



El elevado CV (25,68) de este análisis puede deberse a diferentes factores como las variaciones en los constituyentes entre individuos de la misma especie y entre eyaculados del mismo individuo, frecuencia de eyaculación, estado nutricional, enfermedades, estación del año, edad, grado de estimulación sexual antes de la colección de la muestra, y variaciones fisiológicas (Mc Donald,1981).

4.7 Colesterol

Los cuadros 13 y 14, muestran un resumen de la concentración de colesterol determinada en el plasma seminal de llama, en sus características mas sobresalientes.

Cuadro No. 13. Concentración de colesterol por edad en el plasma seminal de llamas (mg/dl.).

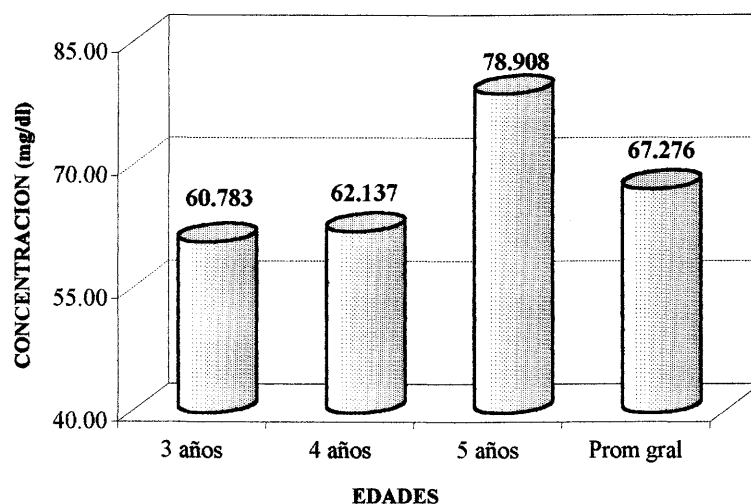
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 57,2515 | 62,5955 | 83,588 |
| Col 2 | 64,504 | 69,0835 | 106,4505 |
| Col 3 | 37,7865 | 61,145 | 76,355 |
| Col 4 | 83,588 | 55,7255 | 49,237 |
| Promedio | 60,783 | 62,137 | 78,908 |
| SD | 18,932 | 5,494 | 23,575 |

Cuadro No. 14. Resumen de la concentración de colesterol en plasma seminal de llama (mg/dl.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|--------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 67,276 | 18,21 | 26.78 | 37,78 | 106,45 |

La concentración media de colesterol en plasma seminal de llamas es de 67,76 mg/dl., observándose la mayor concentración en animales de 5 años (78,908 mg/dl.) respecto a los machos de 4 y 3 años con 62,137 mg/dl. y 60,783 mg/dl. respectivamente (Figura No. 7).

Figura No. 7. Concentración de colesterol en plasma seminal de llama en tres edades.



El resultado de análisis de varianza para colesterol se presenta en el anexo 8, el cual nos indica que no existe diferencia entre edades ($P>0.05$), tampoco entre colecciones ($P>0.05$), e interacciones ($P>0.05$). Aceptándose las dos hipótesis planteadas.

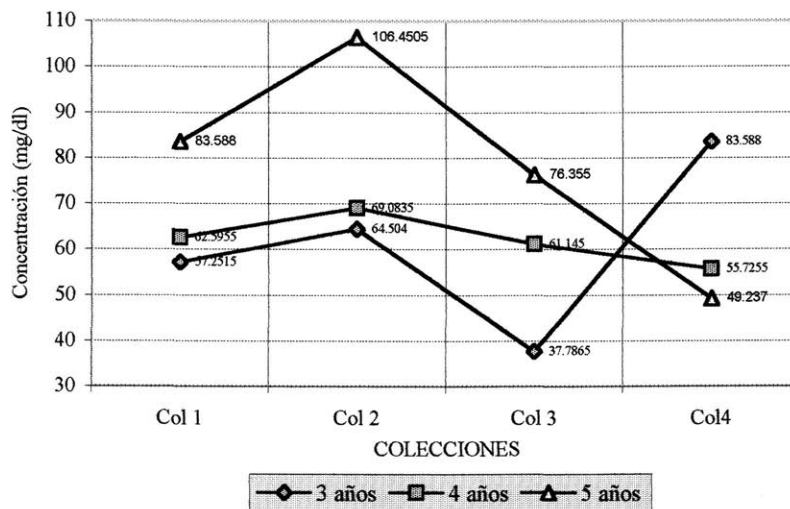
El Gráfico No. 13, nos da referencia a la concentración de colesterol por colección, mostrando que los animales de 3 años, presentaron en 3 colecciones sucesivas los niveles mas bajos, subiendo bruscamente en la 4ta colección, debido tal vez a que los espermatozoides en las primeras colecciones no pudieron haber estado listos para su capacitación, teniendo tanto en su membrana como en su plasma seminal bajas

concentraciones, en otras palabras los espermatozoides, pudieran haber estado muy maduros o viejos, por tal razón se encontró un nivel bajo entre colecciones.

Pero en la cuarta colección se nota que la concentración se eleva bruscamente mostrando esta situación, que probablemente aquí se presentan también espermatozoides inmaduros.

Similarmente sucede esta situación con animales de 4 años pero estos mantienen a lo largo de las 4 colecciones un nivel muy estable como si indicaran que su capacitación es igual en cualquier colección.

Gráfico No. 13. Concentración de colesterol por colección.



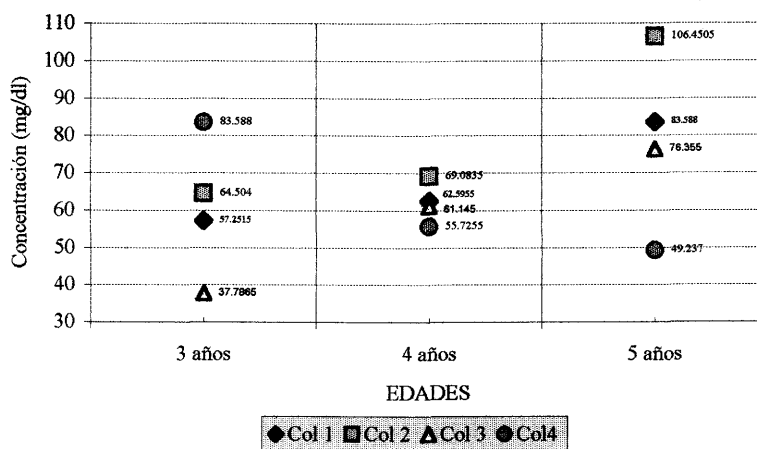
El Gráfico No. 14, muestra la concentración de colesterol por edad, se puede apreciar en éste gráfico que los animales de 5 años, en las 4 colecciones mostraron la frecuencia más variable en presentación de colesterol debido talvez a que estos animales eyacularon

diferentes volúmenes en todas las colecciones. Además, estas edades presentaron la mayor libido con respecto a los otros grupos.

La edad de 4 años fue más estable en presentación de colesterol, los machos de 3 años muestran que sus concentraciones son similares a los animales de 4 años.

Los animales de 5 años muestran en las 3 primeras colecciones que su concentración de colesterol es alta, dándonos tal vez a entender que los espermatozoides fueron eyaculados con estado inmaduro, o en otras palabras que el colesterol encontrado en la membrana plasmática esta en mayor concentración impidiendo su capacitación, solamente en la 4 colección se nota que baja esta concentración asemejándose a la edad de 4 años.

Gráfico No. 14. Concentración de colesterol por edad.



La cantidad de colesterol en el plasma seminal, al ser estadísticamente similar entre edades, nos da a entender que este componente se encuentra presente en cantidades que necesita y que no cambian con la edad.

En la bibliografía, el colesterol es citado como un factor importante en la capacitación de los espermatozoides, influyendo en su movilidad, conformación y activación de las enzimas de su membrana, puesto que niveles altos de colesterol indican directamente que el espermatozoide tiene una resistencia y longevidad mayor, mientras que niveles bajos de este componente, muestran una respuesta acrosomal rápida y por ende un menor tiempo de vida y esta característica es dada generalmente en espermatozoides seniles o deteriorados (Cross,1998).

4.8 Calcio

Los cuadros 15 y 16, muestran un resumen de la concentración de calcio en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 15. Concentración de calcio en el plasma seminal de llamas en tres edades (mg/dl.).

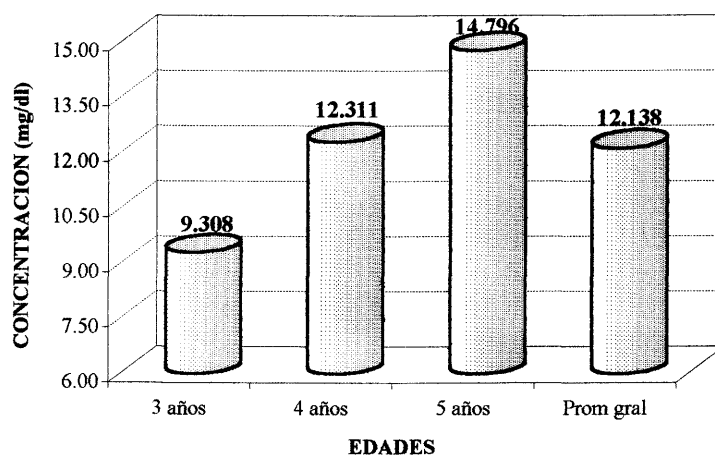
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 9,3080 | 11,2575 | 18,6790 |
| Col 2 | 8,5535 | 14,9055 | 18,6165 |
| Col 3 | 9,6855 | 12,8930 | 13,4595 |
| Col 4 | 9,6855 | 10,1890 | 8,42750 |
| Promedio | 9,308 | 12,311 | 14,796 |
| SD | 0,534 | 2,056 | 4,900 |

Cuadro No.16. Resumen de la concentración de calcio en plasma seminal de llama (mg/dl.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|--------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 12,138 | 3,64 | 28.3906 | 8,5535 | 18,679 |

La concentración media de calcio en plasma seminal de llamas es de 12,138 mg/dl., observándose un ligero incremento de concentración en animales de 5 años (14,796 mg/dl.) respecto a los machos de 4 y 3 años con 12,311 mg/dl. y 9,308 mg/dl. respectivamente (Figura No. 8).

Figura No. 8. Concentración de calcio en plasma seminal de llama en tres edades.



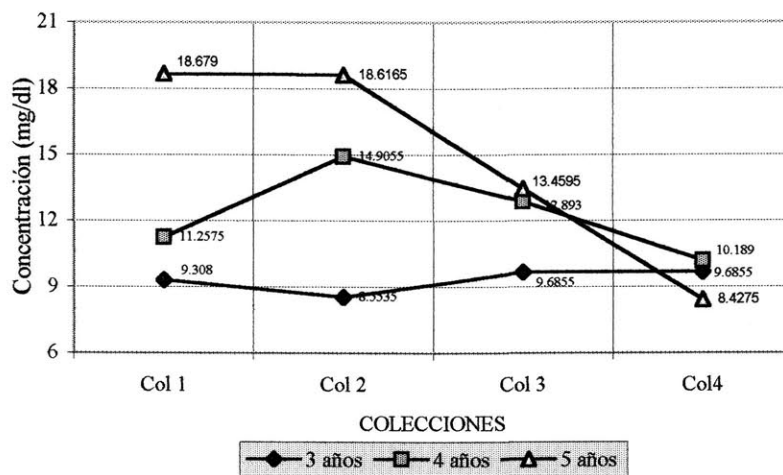
El análisis de varianza para calcio se presenta en el anexo No. 9, en él se observa que existen diferencias estadísticas entre edades y entre animales por edad ($p < 0.05$), no encontrándose diferencias significativas para las diferentes colecciones y para la interacción edad por semana ($p > 0.05$). Aceptándose la hipótesis planteada para edades y rechazándose la hipótesis planteada para colecciones.

Este resultado indica que las concentraciones de calcio se ven influenciadas por la edad ($p < 0.05$), de igual forma los animales de la misma edad presentan diferencias en concentración ($p < 0.05$).

Las concentraciones promedio obtenidas en el presente trabajo 12.138 ± 3.64 mg. de calcio /dl. en el plasma seminal, están en el rango reportado por Garnica y Fuentes (1998), para llamas de 3 y 5 años de edad en 9,62 a 14,61 mg/dl. de calcio. Estos mismos autores indican que los rangos de presentación de calcio en alpacas están entre 12,78 a 31 mg/dl. de plasma seminal, que también es similar a los rangos encontrados en alpacas por Bravo, Skidmore y Zhao (2000) los cuales fluctúan entre 13,0 a 31,0 mg/dl.).

El gráfico No. 15, muestra la concentración de calcio muy heterogénea en las 2 primeras colecciones de las 3 edades. Los niveles más altos se presentan en los animales de 5 años y los más bajos en los animales de 3 años. En la tercera y cuarta colección existe una similitud de concentraciones con la particularidad de que disminuye el contenido de calcio en los animales de 4 y 5 años de edad, situación que incrementa la longevidad de los espermatozoides en relación a las 2 primeras. Los animales de 3 años muestran más homogeneidad en la concentración del calcio en todas las colecciones, por lo tanto la longevidad de los espermatozoides será; similar en colecciones sucesivas.

Gráfico No. 15. Concentración de calcio por colección.

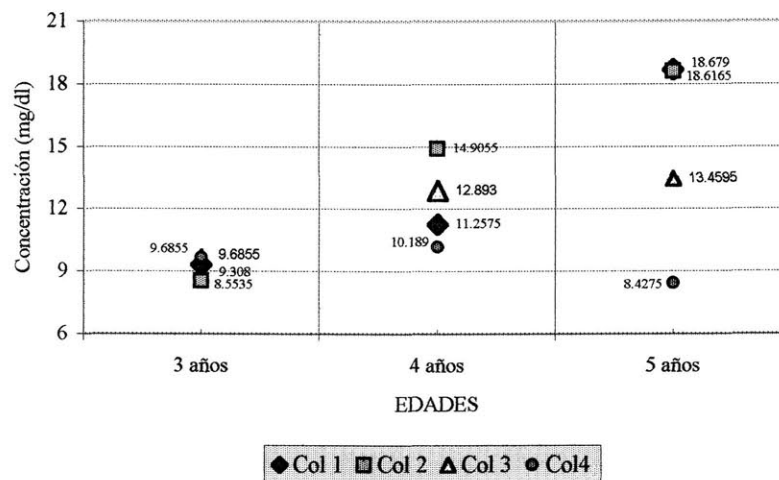


En el Gráfico No. 16, referente a la concentración de calcio por edad, se observa que los animales de 3 años tienen un nivel uniforme y menor concentración de calcio, es decir en estos animales existirá una mayor longevidad de los espermatozoides. En los animales de 4 años las concentraciones fluctúan de una forma moderada permitiendo una capacitación estable del espermatozoide.

Los animales de 5 años de edad presentaron mayor dispersión de la concentración de calcio en el plasma seminal desde niveles más altos en las primeras colecciones que disminuyen sucesivamente en las últimas colecciones.

Este comportamiento indica que existe una reacción acrosomal rápida y menor tiempo de vida espermática en las 2 primeras colecciones, y una reacción acrosomal cada vez más lenta e incremento de tiempo de vida de los espermatozoides. Se observa una tendencia de disminución de concentración de calcio a mayor número de colecciones, hecho que afectaría en la fertilidad, por la reacción acrosomal de forma no adecuada.

Gráfico No. 16. Concentración de calcio por edad



Garnica y Fuentes (1998), muestran la misma característica de mayor concentración de calcio pero no mencionan si sus datos son estadísticamente diferentes. Lo mismo sucede con los resultados publicados por Bravo (2000), donde también muestra que el calcio varía en función a la edad.

Convendría profundizar en el tema de la relación entre la concentración de calcio en el plasma con la longevidad y reacción acrosomal del espermatozoide pues como menciona Rivera y Villanueva (2000), este factor juntamente con el pH, si se encuentran en una concentración mayor a lo normal, afecta negativamente en la longevidad de espermatozoides humanos, propiciando una reacción acrosomal prematura.

4.9 Potasio

En los cuadros No. 17 y 18, se muestra un resumen de los resultados de la concentración de Potasio obtenida en el plasma seminal de llama en tres edades.

Cuadro No. 17. Concentración de potasio por edad en el plasma seminal de llamas (mEq/L.).

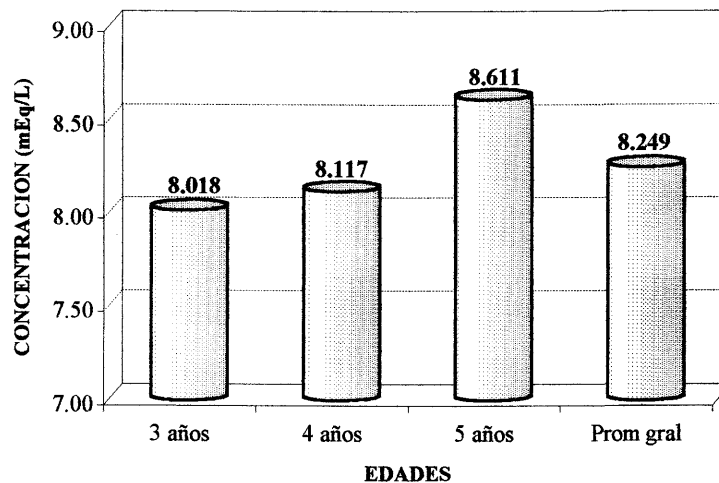
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 10,8865 | 8,5845 | 9,7270 |
| Col 2 | 4,8460 | 9,8135 | 7,7020 |
| Col 3 | 7,9790 | 6,9230 | 6,5080 |
| Col 4 | 8,3595 | 7,1480 | 10,5055 |
| Promedio | 8,018 | 8,117 | 8,611 |
| SD | 2,477 | 1,349 | 1,833 |

Cuadro No. 18. Resumen de la concentración de potasio en plasma seminal de llama (mEq/L.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|-----------|-------------------|---------|-------|----------|--------|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 8,249 | 1,78 | 24,07 | 4,846 | 10,886 |

La concentración media de potasio en plasma seminal de llamas es de 8,249 mEq/L., observándose un ligero incremento de concentración en animales de 5 años (8,611 mEq/L.) respecto a los machos de 4 y 3 años con 8,117 mEq/L. y 8,018 mEq/L. respectivamente (Figura No. 9).

Figura No. 9. Concentración de potasio en plasma seminal de llama en tres edades.



En el análisis de varianza para la concentración de Potasio en el plasma seminal (anexo 10), se observa que las diferencias no son significativas entre edades y colecciones ($p > 0.05$). Aceptándose las dos hipótesis planteadas para este trabajo.

El potasio es el principal catión en el fluido intracelular. También es un constituyente importante del fluido extracelular. El potasio tiene su influencia en la actividad

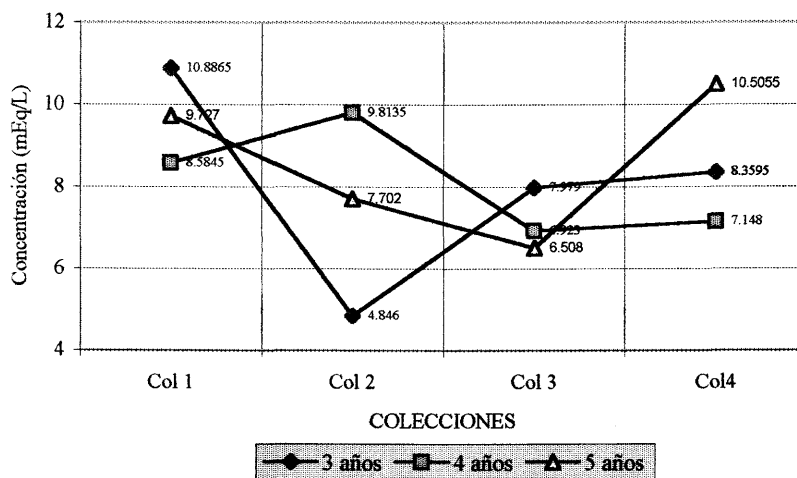
muscular, participa en el balance ácido-básico y en la presión osmótica incluyendo la retención de agua. (Henry, 1974).

Elevados niveles de potasio (hyperkalemia), están a menudo asociados con fallas renales, shock por deshidratación o insuficiencia adrenal. Niveles bajos de potasio (hipokalemia) son asociados con malnutrición, balance negativo de nitrógeno, e hiperactividad de la corteza adrenal. (Henry, 1974).

En el Gráfico No. 17, se observa que la concentración de potasio por colección, son bastante diferentes entre edades, presentándose esta característica en todas las colecciones. La mayor y menor concentración se observa en animales de 3 años en la primera y segunda colección respectivamente.

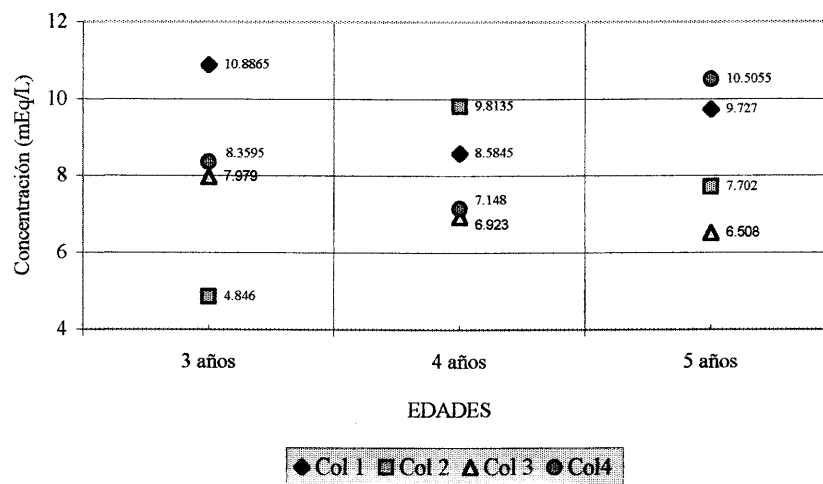
En los animales de 5 años de edad, existe la tendencia de bajar sucesivamente la concentración de potasio hasta la tercera colección, luego estas concentraciones incrementan rápidamente en el plasma seminal de llama.

Gráfico No. 17. Concentración de potasio por colección.



El Gráfico No. 18, muestra la concentración del potasio por edad, con niveles de potasio muy dispersos en todas las edades. Los animales de 4 años de edad tienen el menor margen de variabilidad.

Gráfico No. 18. Concentración de potasio por edad.



El potasio al igual que el sodio, es importante en el proceso de conservación y capacitación de los espermatozoides, porque, es integrante de procesos tales como la entrada y salida de compuestos en la célula, además de ayudar al equilibrio osmótico, al margen de otras actividades importantes en las cuales tiene relación.

Como se ha observado, este componente no varía con la edad, ni con las diferentes colecciones, asumiéndose que su concentración tiene un nivel constante en el plasma seminal y que no es afectado por la manipulación del semen ni del plasma seminal.

4.10 Sodio

Los cuadros No. 19 y 20, Muestran un resumen de la concentración de sodio obtenida en el plasma seminal de llama.

Cuadro No. 19. Concentración de sodio por edad en plasma seminal de llamas (mEq/L.).

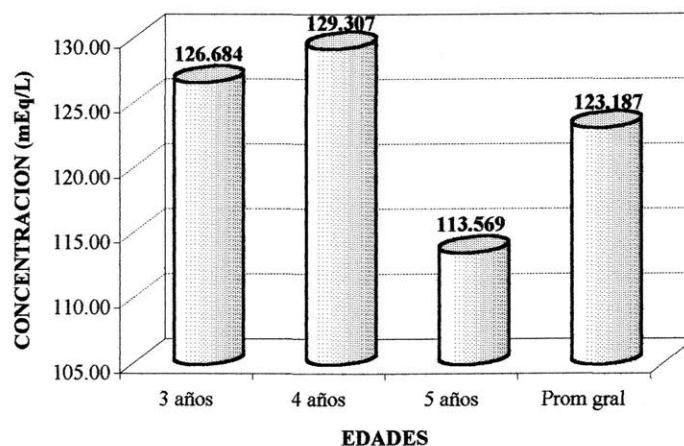
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 156,606 | 128,044 | 134,455 |
| Col 2 | 123,186 | 105,116 | 117,746 |
| Col 3 | 104.534 | 137,176 | 98,705 |
| Col 4 | 122,409 | 146,891 | 103,368 |
| Promedio | 113,617 | 129,307 | 113,569 |
| SD | 43,897 | 17,869 | 16,111 |

Cuadro No. 20. Resumen de la concentración de sodio en plasma seminal de llama (mEq/L.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|---------|
| 3, 4 y 5 años | 23 | 123.187 | 18.39 | 14.85 | 98.705 | 156,606 |

La concentración media de sodio en plasma seminal de llamas es de 123,187 mEq/L., observándose una ligero incremento de concentración en animales de 4 años con 129,307 mEq/L. respecto a los machos de 3 y 5 años con 113,617 mEq/L. y 113,569 mEq/L. respectivamente (Figura No. 10).

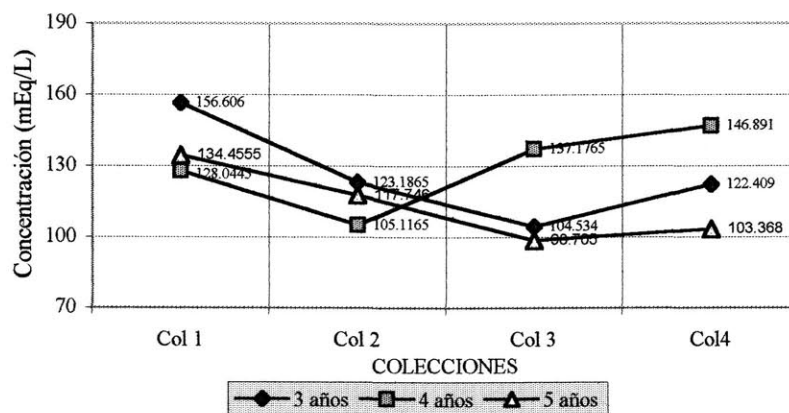
Figura No. 10. Concentración de sodio en plasma seminal de llama en tres edades.



En el análisis de varianza para la concentración de Sodio (Anexo 11), se observa que no existe diferencia estadística entre edades y colecciones ($p > 0.05$). Aceptándose las dos hipótesis planteadas para este trabajo.

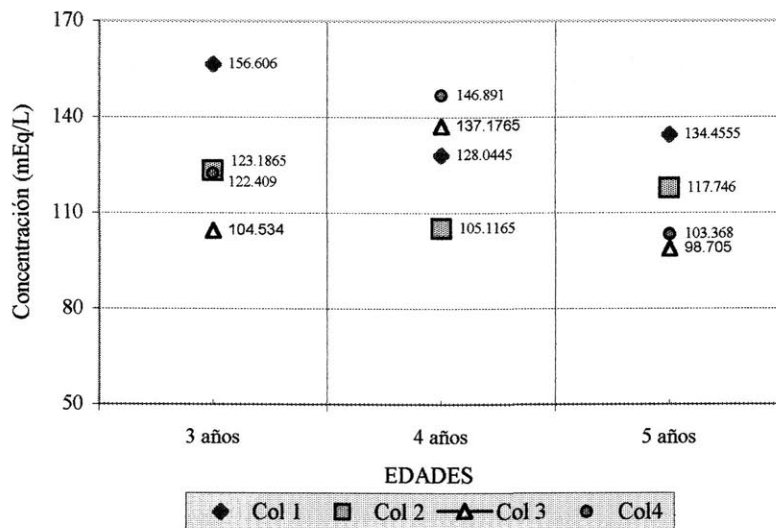
El Gráfico No. 19, muestra la concentración de sodio por colección, al igual que el potasio, este elemento muestra una disminución en la primera colección y el subsecuente incremento gradual en las últimas colecciones en todas las edades.

Gráfico No. 19. Concentración de sodio por colección.



En el Gráfico No. 20, se observa las concentraciones de sodio por edad, donde todos los animales presentan una concentración casi homogénea en todas las colecciones, con un ligero incremento del nivel de concentración en los animales de 3 años.

Gráfico No. 20. Concentración de sodio por edad.



El sodio es importante en el eyaculado porque, controla juntamente con otros minerales diferentes reacciones, por ejemplo el proceso de la bomba de sodio y potasio, influye sobre la presión osmótica y en el balance ácido básico.

4.11 Magnesio

En los cuadros No. 21 y 22, se muestra la concentración de magnesio que fué determinada en el plasma seminal de llama

Cuadro No. 21. Concentración de magnesio por edad en plasma seminal de llamas de diferentes edades (mEq/L.).

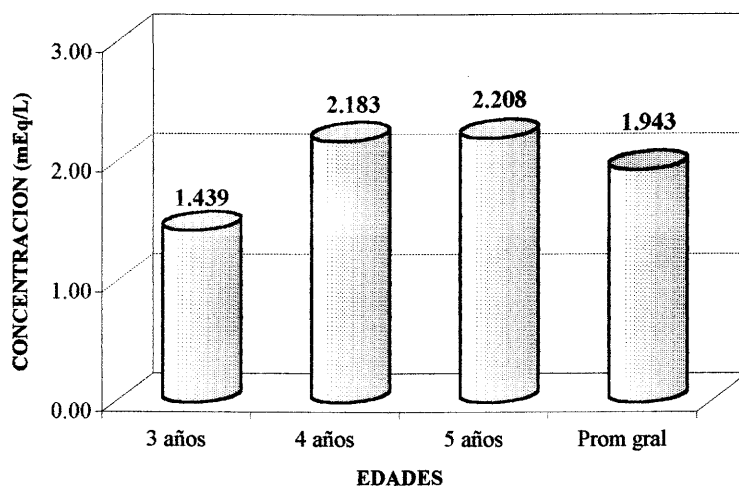
| Colección | 3 años | 4 años | 5 años |
|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Col 1 | 1,581 | 2,366 | 2,860 |
| Col 2 | 0,992 | 2,509 | 2,290 |
| Col 3 | 1,370 | 1,773 | 1,626 |
| Col 4 | 1,8115 | 2,083 | 2,053 |
| Promedio | 1,439 | 2,183 | 2,208 |
| SD | 0,348 | 0,325 | 0,515 |

Cuadro No. 22. Resumen de la concentración de magnesio en plasma seminal de llama (mEq/L.).

| EDADES | Nro. REP. | PROMEDIO Gral. | SD ± | C V | EXTREMOS | |
|---------------|------------------|---------------------------|-----------------|------------|-----------------|-----|
| 3, 4 y 5 años | 24 | 1,943 | 0,52 | 26.28 | 1,37 | 2,5 |

La concentración media de magnesio en plasma seminal de llamas es de 1,943 mEq/dl observándose un ligero incremento en concentración en animales de 5 años, con 2,208 mEq/dl respecto a los machos de 4 y 3 años con 2,183 mEq/dl y 1,439 mEq/dl respectivamente (Figura No. 11).

Figura No. 11. Concentración de magnesio en plasma seminal de llama en tres edades.



Según el anexo No. 12, no existen diferencias estadísticas de concentración entre colecciones ($P > 0.05$), pero sí entre edades ($P < 0.05$). Aceptándose la hipótesis planteada para edades y rechazándose la hipótesis planteada para colecciones.

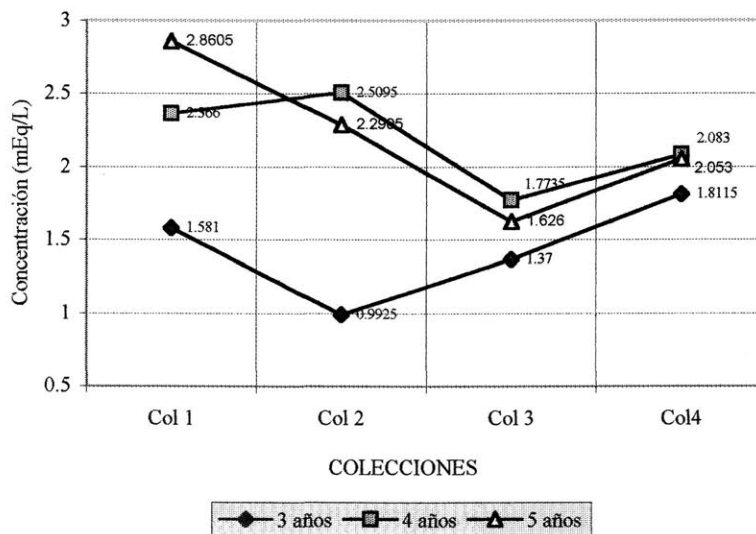
La diferencia significativa entre edades, fué contrastada con la prueba múltiple de Duncan, mostrando que los animales de 3 años de edad poseen la menor concentración y que, entre animales de 4 y 5 años no existe diferencia estadística significativa.

El magnesio es un componente esencial para muchas funciones metabólicas de todas las células (Stanbio, 2001), así que su presencia es importante en el plasma seminal, como referencia se tiene la concentración del plasma sanguíneo que se encuentra entre 1,3 a 2,1 mEq/L. Los resultados del presente trabajo se enmarcan dentro de este rango.

El Gráfico No. 21, muestra la concentración de magnesio por colección. En los animales de 3 años las concentraciones son menores a los otros grupos de edad, debido posiblemente a la influencia de la edad.

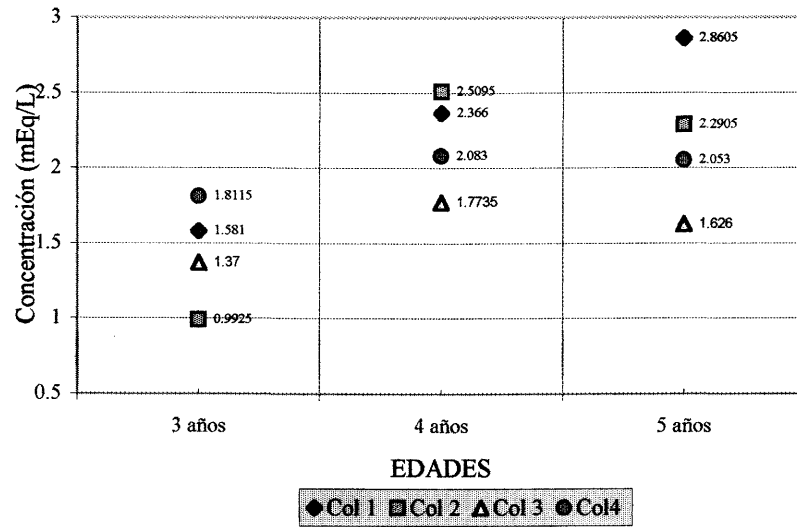
Los animales de 4 y 5 años, tienen una concentración y fluctuaciones de magnesio similares en las 4 colecciones.

Gráfico No. 21. Concentración de magnesio por colección.



En el gráfico No. 22, se observa la concentración de magnesio por edad, con menores niveles de concentración en los animales de 3 años de edad y mayores niveles en los de 4 y 5 años de edad.

Gráfico No. 22. Concentración de magnesio por edad.



Este elemento, al estar relacionado con la concentración de ATP indirectamente nos muestra las cantidades de utilización del ATP, porque a mayor presencia de ATP habrá una mayor cantidad de magnesio. (Dagrilva E.,1999).

5 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Las concentraciones de glucosa (6.246 ± 0.716 mg/dl.), creatinina (3.459 ± 1.27 mg/dl.), colesterol (67.28 ± 18.21 mg/dl.), potasio (8.249 ± 1.78 mEq/L.) y sodio (123.187 ± 18.39 mEq/L.) no presentaron diferencia entre edades ni entre colecciones ($P > 0.05$).

2. Las concentraciones de calcio (12.138 ± 3.64 mg/dl.) y magnesio (1.943 ± 0.52 mEq/L.), presentaron diferencia estadística ($P < 0.05$), entre edades solamente y no así entre colecciones.
 - 2.1 Las concentraciones encontradas para calcio (60.783 ± 18.932 mg/dl., 62.137 ± 5.494 mg/dl. y 78.908 ± 23.575 mg/dl. para 3, 4 y 5 años de edad respectivamente) mostraron ser diferentes en todas las edades secuencialmente ($P < 0.05$).

 - 2.2 Las concentraciones encontradas por edad, para magnesio (1.439 ± 0.348 mEq/L., 2.183 ± 0.325 mEq/L. y 2.208 ± 0.515 mEq/L., para 3; 4 y 5 años de edad respectivamente) solo muestra diferencia estadística ($P < 0.05$), con el grupo de 3 años. No siendo diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) los animales de 4 y 5 años de edad.

3. La globulina (1.574 ± 0.51 g/dl.), fue la única que presentó diferencias entre colecciones ($P < 0.05$), y no entre edades
 - 3.1 Se tuvo el promedio mas bajo en la segunda colección (0.9585 g/dl. del total del grupo de animales) mientras en las demás colecciones no hubo diferencia estadística ($P > 0.05$).
4. La proteína total (3.732 ± 0.45 g/dl.), albúmina (2.158 ± 0.46 y fósforo inorgánico (9.42 ± 2.42 mg/dl.), fueron los únicos que presentaron diferencias entre edades y entre colecciones ($P < 0.05$).
 - 4.1 Las concentraciones encontradas por edad y colección para proteínas totales (3.432 ± 0.358 g/dl., 3.716 ± 0.564 g/dl. y 4.048 ± 0.229 g/dl. para 3, 4 y 5 años de edad respectivamente), muestran que los animales de 5 años alcanzaron la mayor concentración diferenciándose estadísticamente ($P < 0.05$), de los otros dos grupos de edad, que tuvieron similar concentración de este componente ($P > 0.05$). Mostrando también que la segunda colección (3.238 g/dl.), fue la que menor concentración total obtuvo ($P < 0.05$), diferenciándose de las demás colecciones que presentaron concentraciones estadísticamente similares ($P > 0.05$).
 - 4.2 Las concentraciones encontradas por edad y colección para albúminas (1.822 ± 0.570 g/dl., 2.222 ± 0.175 g/dl. y 2.431 ± 0.399 g/dl. para 3, 4 y 5 años de edad respectivamente), muestran que los animales de 3 años son los que poseen la menor concentración ($P < 0.05$), diferenciándose de las otras dos edades que son estadísticamente similares ($P > 0.05$), también mostrando que la tercera colección presentó menor concentración total ($P < 0.05$), con

respecto a la primera, segunda y cuarta colección que fueron similares estadísticamente ($P>0.05$).

- 4.3 Las concentraciones encontradas por edad y colección para el fósforo inorgánico (10.259 ± 3.287 mg/dl., 10.329 ± 2.089 mg/dl. y 7.672 ± 0.433 mg/dl. para 3; 4 y 5 años de edad respectivamente), indican que los animales de 5 años son los que poseen la menor concentración de este componente ($P<0.05$) mientras las otras edades se presentan estadísticamente con similar concentración ($P>0.05$). Entre las colecciones, la primera es la que muestra la mayor concentración grupal ($P<0.05$) de las demás que presentaron promedios de concentración similar ($P>0.05$).

6 RECOMENDACIONES

1. Para la colección de semen se debe adecuar aún más la vagina artificial en relación al diámetro y longitud de la misma. Durante la investigación se ha evidenciado que la textura de la funda determina el tiempo de cópula e incide en el volumen de semen colectado. Por lo que se recomienda efectuar ensayos con fundas latex tipo piel, que tengan características de mayor elasticidad y suavidad.
2. Los animales de 5 años de edad son los que tienen un comportamiento estable en cuanto a la concentración de los principales componentes bioquímicos identificados (glucosa, colesterol calcio y albúminas) Por lo que se recomienda emplear animales de esta edad para trabajos de colección, procesamiento y crio-preservación de semen para fines de Inseminación artificial en llamas.
3. Para los trabajos de dilución y crio-preservación de semen se recomienda que los niveles de colesterol en los dilutores sean elevados para inhibir una reacción acrosomal prematura de los espermatozoides y garantizar la buena viabilidad de las mismas en la inseminación artificial.
4. Existe la necesidad de confirmar los resultados de esta investigación. Por lo que se recomienda efectuar el mismo trabajo durante los meses de empadre en las poblaciones de camélidos y relacionar con la concentración de espermatozoides.

5. Realizar investigaciones más específicas sobre las funciones del colesterol, calcio y albúminas en el semen eyaculado.
6. En cuanto a la viscosidad que es debida a una glicoproteína, se recomienda efectuar estudios más específicos sobre el tipo y la cantidad de proteínas causantes de esta característica También realizar estudios sobre la utilización de enzimas específicas para la degradación de estas proteínas causantes de la viscosidad.
7. Es necesario generar la mejor ecuación de predicción para: concentración espermática, motilidad, % de vivos o muertos y defectos espermáticos, donde intervengan todos los componentes bioquímicos que sean realmente estadísticamente significativos.

7 BIBLIOGRAFIA

- Achata R., 1989. Concentración de algunos componentes Químicos del plasma seminal de Alpaca. Tesis Universidad Del Altiplano F.M.V.Z. UNA – Puno – Perú.
- Apaza, E. Quispe, J. 1996 Correlación fenotípica: peso vivo al nacimiento y peso vivo al destete en llamas. In ALLPAKA 96 Vol. 5 N° 2. IIPC Puno Perú. pp. 53 al 63.
- Bohinski R. C., 1998. BIOQUIMICA 5ta. Edición 1ra. Reimpresión 1998. Ed. Addison Wesley Longman de México S.A. de C.V. México D.F. 739. pp.
- Bravo, P. Walter, 1998 Avances en la fisiología reproductiva del macho: Llama y alpaca In: XXI reunión científica anual de la APPA, UNA PUNO 1998. “Conferencias” pp. 15 al 20.
- Bravo P.W. Skimode J. XX Zhao, 2000. Reproductive aspectecs and storage of semen in Camelidae In: Animal Reproduction Science Nro. 62 Dpto Animal Science, Brigham Young University. Provo. Utha 84602 USA. Ppm173 – 193.
- Bustanza Ch. V. A. 2001. “La Alpaca” 1ra edición Ed. Oficina de recursos del aprendizaje sección Publicaciones UNA – Puno. Perú.
- Cole H. y Cupps P. 1984. Reproducción e inseminación Artificial en animales. Editorial Interamericana Quinta Edición México.
- Cross N.L., 1998. Role of cholesterol in sperm capacitation. Biol Reprod ; 59: 7-11 pp. (Documento de internet).
- Church D.C., Pond W.G. 1990. Fundamentos de Nutrición y alimentación en animales. Ed. Limusa 1ra edición. México 437 pp.

- Dragilva E, Rubinstein S, Breitbart H., 1999. Intracellular Ca^{2+} , Mg^{2+} , ATPase regulates calcium influx and acrosome exocytosis in bull and ram spermatozoa. *Biol reprod*; 61: 1226-4 pp. (Documento de internet).
- De Alba J. 1985. *Reproducción animal*. Ediciones Científicas. Editorial Copilco S. A. México.
- Derivaux J., 1982. *Reproducción de los animales domésticos*. Editorial Acribia. Segunda Edición Zaragoza España.
- Dukes H. y Swenson M., 1981. *Fisiología de los animales domésticos*. Tomo II Ediciones Aguijar S. A. Offset Universal S. A. México.
- Flores L., 1993. *Fructosa y ácido cítrico en el plasma seminal de la alpaca*. Tesis universitaria F.M.V.Z. UNA – Puno.
- Frase LR., 1998 Sperm capacitation and acrosome reaction. *Hum Reprod*; 13 Suppl1: 9-12. (Documento de internet).
- Garnica, J y Fuentes, C. 1998 Caracterización físico química del semen de llamas In: XXI reunión científica anual de la APPA, UNA PUNO . pp. 153 al 156.
- Garnica, J y Col. 1998 Efecto de cópulas sucesivas sobre las características del semen de alpacas In: ALLPAKA 98 Vol.7 N° 1. IIPC Puno Perú. pp. 47 al 58
- Garnica J. Achata R. y Bravo P. W. 1992. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim. Reprod Sci* 32:85.
- Harper A. E. 1980. In: *Animal agriculture: Research to meet human needs in the 21st century*. Editado por W.G. Pond, R. McGilliard y V. J. Khodes. Western Press Boulder C.O.

Henry R. F. 1990. *Clinical Chemistry Principles and Techincs*, 2da edición, Edit. Harper and Row. Hagers Town M.D. U.S.A.

Herrero MB, Laminande E, Gagnon C, 1999. Nitric oxide regulates human reproduction sperm capacitation and protein tyrosine phosphorylation in vitro. *Biol Reprod*; 61: 575-81 pp. (Documento de internet).

James P. S., Wolfe C. A., Maquie A., Ladha A., Prentice A., Jones R., 1999. Lipid dynamics in the plasma membrane of fresh and cryopreserved. *Hum Reprod* 1 ; 14: 1827-32. (Documento de internet).

Kolb. E. 1979. *Fisiología Veterinaria Tomo II* edit. Acribia Zaragoza – España

Mandal A, Naciby-Hasen S, Wolkwicz MC, Klotz, Shetty J, Retief JD, Coonrod S.A, et al. F5P95, 1999. a testis specific 95-kilodalton fibrous sheath antigen that undergoes tyrosine phosphorylation in capacitation human spermatozoa. *Biol Reprod*; 61: 1184-97 pp. (Documento de internet).

Mann T., 1954 *The Biochemistry of semen*. London: Methum & Co. Ltda. New York John Wiley & Sons. INC First Published U. S. A.

Mc Donald L., 1981. *Reproducción*. Ediciones Toray S.A. Barcelona – España.

Marin-Briggiler C. J., Vazquez- Levin M. H., Gonzalez-Echevarria F., Bloquer J. A., Tezon J.G., Miranda P.V., 1999. Strontion supports human sperm capacitation but not follicular fluid-induced acrosome reaction. *Biol Reprod* ; 61: 673-80 pp. (Documento de internet).

Mortimer S.T., Swan M.A., Mortimer D., 1998. Effect of seminal plasma on capacitation and hyperactivation in human spermatozoa. *Hum Reprod* ;13: 2138-46 pp . (Documento de internet)

Murray R., Mayes P., Rodwell V., y Granner D., 1988. Bioquímica de Harper. Editorial el Manual Moderno Onceava Edición México.

Novoa C. y Leyva V. 1996. Funcionamiento en el sistema reproductivo en el macho. In: Reproducción en alpacas y llamas. Estación experimental Marangani La Raya IVITA. Pub. Cient. IVITA N° 26, 1996. Fac, Med. Vet. Univ. San Marcos Perú. pp. 14 al 18.

Obando, A y Col. 1992 Vías seminales de los testículos de llamas In Fisiología y Bioquímica. Resúmenes XI Congreso Nal. de Ciencias Veterinarias Puno - Perú Septiembre 1992 pp. 3

Quispe C. F. 1986. Evaluación de las características Físicas del semen de la alpaca durante la época de empadre. Tesis para optar al Título de Medico Veterinario y Zootecnista UNA – Puno Fac. Med. Vet. Zoot. Puno, Perú. pp. 28 al 30.

Salisbury G., Van Demark J., y Loodge J., 1978. Fisiología de la reproducción e inseminación artificial en bóvidos. Editorial Acribia Zaragoza – España.

Stanbio Laboratory 2001. Magnesio. Procedimento N 0130, East Houston Street, San Antonio, Texas 78202. U.S.A.

Villavicencio N. M., 1996. BIOQUÍMICA , Edit CONCYTEC. Av. Canada San Borja. Lima Perú.

Viscont P.E., Kopf G.S. 1998. Regulation of protein phosphorylation during sperm capacitation. Biol Reprod, 59: 1-6. (Documento de internet).

WHO. WHO, 1992. laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3 ed. Cambridge: Cambridge University, . USA.

Zarate A., 1976. Esterilidad e Infertilidad: La Prensa Médica Mexicana . México.

Zabludovsky N., Eltes F., Har-Even D., Geva E., Berkovitz E., Amit A., Barak Y., Bartoov B., 1999. Relationship between human sperm lipid peroxidation, comprehensive quality parameters and IVF outcome. *Andrologia* ; 31: 91-8 pp. (Documento de internet)

ANEXOS

ANEXO No. 1. Resumen de investigaciones realizadas sobre análisis de plasma seminal en camélidos sudamericanos

| (Promedio \pm s.e.m) | ALPACA | | | RANGO |
|----------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------|
| COMPONENTES | LLAMA ADULTA | 3 AÑOS | 6 AÑOS | |
| Cloro (meq/L) | 402,0 \pm 0,2 | 348,0 \pm 32,0 | 404,0 \pm 34,0 | 263,0 - 491,0 |
| Calcio (mg/dl) | | 18,0 \pm 1,0 | 18,0 \pm 3,0 | 13,0 - 31,0 |
| Fósforo inorgánico (mg/dl) | 10,0 \pm 0,2 | 12,0 \pm 2,0 | 8,0 \pm 0,4 | 7,0 - 17,0 |
| Glucosa (mg/dl) | 6,0 \pm 0,3 | 7,0 \pm 0,4 | 5,0 \pm 0,3 | 4,0 - 8,0 |
| Fructosa (mg/dl) | 4,0 \pm 0,2 | | 6,0 \pm 0,1 | 3,0 - 7,0 |
| Lípidos (mg/dl) | 106,0 \pm 5,0 | 86,0 \pm 10,0 | 95,0 \pm 10,0 | 51,0 - 115,0 |
| Fosfolípidos (mg/dl) | | 29,0 \pm 1,0 | 29,0 \pm 1,0 | 27,0 - 31,0 |
| Nitrógeno total (mg/dl) | 623,0 \pm 23,0 | 548,0 \pm 50,0 | 647,0 \pm 32,0 | 398,0 - 697,0 |
| Proteínas totales (mg/dl) | 4,0 \pm 0,1 | 3,0 \pm 0,3 | 4,0 \pm 0,2 | 3,0 - 4,0 |
| Albumina (mg/dl) | | 2,0 \pm 0,3 | 2,0 \pm 0,2 | 1,0 - 3,0 |
| Globulinas (mg/dl) | | 1,0 \pm 0,1 | 2,0 \pm 0,2 | 1,0 - 3,0 |

Fuente: Bravo, Skidmore, Zhao.(2000)

| COMPONENTES | LLAMA | | RANGO |
|---------------------------|-------------------|--------------------|-----------------|
| | 3 AÑOS | 6 AÑOS | |
| Cloro (meq/L) | 395,39 \pm 1,77 | 409,71 \pm 11,35 | 360,0 - 445,02 |
| Calcio (mg/dl) | 11,25 \pm 0,89 | 12,79 \pm 0,71 | 9,62 - 14,61 |
| Glucosa (mg/dl) | 5,59 \pm 0,21 | 6,43 \pm 0,38 | 5,29 - 7,20 |
| Fructosa (mg/dl) | 4,35 \pm 0,26 | 3,88 \pm 0,07 | 3,68 - 4,35 |
| Lípidos (mg/dl) | 102,54 \pm 7,72 | 109,19 \pm 6,48 | 91,02 - 125,0 |
| Nitrógeno total (mg/dl) | 586,4 \pm 32,95 | 659,77 \pm 21,56 | 509,05 - 698,69 |
| Proteínas totales (mg/dl) | 3,53 \pm 0,14 | 4,04 \pm 0,17 | 3,18 - 4,33 |

Fuente: Garnica J. Y Fuentes. (APPA 1998)

| COMPONENTES | ALPACA PROMEDIO DE DOS EDADES (3 Y 6 AÑOS) | RANGO |
|----------------------------|--|-----------------|
| Cloro (mg/dl) | 376,06 | 262,74 - 491,38 |
| Calcio (mg/dl) | 17,89 | 12,78 - 30,56 |
| Fósforo inorgánico (mg/dl) | 9,52 | 6,74 - 17,21 |
| Glucosa (mg/dl) | 6,16 | 4,42 - 7,79 |
| Fructosa (mg/dl) | | |
| Lípidos totales (mg/dl) | 90,51 | 51,28 - 115,39 |
| Fosfolípidos (mg/dl) | 28,74 | 26,75 - 31,25 |
| Nitrógeno total (mg/dl) | 597,4 | 398,27 - 696,97 |
| Proteínas totales (mg/dl) | 3,74 | 2,49 - 4,36 |
| Albumina (mg/dl) | 2,12 | 1,26 - 3,25 |
| Globulinas (mg/dl) | 1,62 | 0,85 - 2,75 |

Fuente: Achata Mestas R.(1989)

ANEXO No. 2. Analisis de varianza para concentración de glucosa

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|--------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 0.491 | 0.58 | 0.5842 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 0.829 | 0.65 | 0.6064 NS |
| SEMANA | 3 | 4.667 | 3.64 | 0.0640 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 5.874 | 2.29 | 0.1380 NS |
| Error | 8 | 3.420 | | |
| Total | 22 | 15.612 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
 0.780899 10.53467 % 6.246

ANEXO No. 3. Análisis de varianza para concentración de fósforo inorgánico

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|---------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 37.200 | 10.0658 | 0.0051 * |
| ANIM(EDAD) | 3 | 8.722 | 1.57 | 0.2629 NS |
| SEMANA | 3 | 50.644 | 9.13 | 0.0043 * |
| EDAD*SEMANA | 6 | 41.306 | 3.72 | 0.0383 * |
| Error | 8 | 16.643 | | |
| Total | 23 | 154.516 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
 0.892 14.417 % 9.432 mg/dl

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|---------|---|------|
| A | 10.3294 | 8 | 4 |
| A | | | |
| A | 10.2959 | 8 | 3 |
| B | 7.6718 | 8 | 5 |

| Grupo Duncan | Media | N | SEM |
|--------------|---------|---|-----|
| A | 11.8248 | 6 | 1 |
| B | 9.3005 | 6 | 2 |
| B | 8.5703 | 6 | 4 |
| B | 8.0337 | 6 | 3 |

ANEXO No. 4. Análisis de varianza para concentración de creatinina

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|--------|---------|----------|
| EDAD | 2 | 3.723 | 0.48 | 0.632 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 7.854 | 0.68 | 0.586 NS |
| SEMANA | 3 | 20.138 | 1.74 | 0.228 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 14.631 | 0.63 | 0.702 NS |
| Error | 8 | 34.645 | | |
| Total | 23 | 80.989 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
0.572 56.252 % 3.487 mg/dl

ANEXO No. 5. Análisis de varianza para concentración de proteínas totales

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|-------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 1.520 | 9.99 | 0.0052 * |
| ANIM(EDAD) | 3 | 0.033 | 0.15 | 0.9291 NS |
| SEMANA | 3 | 2.215 | 9.7 | 0.0035 * |
| EDAD*SEMANA | 6 | 0.775 | 1.7 | 0.2278 NS |
| Error | 8 | 0.685 | | |
| Total | 23 | 5.229 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
0.8690 7.392 % 3.732 g/dl

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|--------|---|------|
| A | 4.0483 | 8 | 5 |
| B | 3.7158 | 8 | 4 |
| B | 3.4324 | 8 | 3 |

| Grupo Duncan | Media | N | SEM |
|--------------|--------|---|-----|
| A | 4.0643 | 6 | 4 |
| A | 3.8403 | 6 | 1 |
| A | 3.7858 | 6 | 3 |
| B | 3.2380 | 6 | 2 |

ANEXO No. 6. Análisis de varianza para concentración de albúmina

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|-------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 1.529 | 12.36 | 0.0026 * |
| ANIM(EDAD) | 3 | 0.099 | 0.54 | 0.6674 NS |
| SEMANA | 3 | 0.772 | 4.16 | 0.0418 * |
| EDAD*SEMANA | 6 | 2.322 | 6.26 | 0.0078 * |
| Error | 8 | 0.556 | | |
| Total | 23 | 5.279 | | |

R-Cuadrado 0.8895 C.V. 11.52 % CONC. Media 2.158 g/dl

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|--------|---|------|
| A | 2.4308 | 8 | 5 |
| A | 2.2218 | 8 | 4 |
| B | 1.8223 | 8 | 3 |

| Grupo Duncan | Media | N | SEM |
|--------------|--------|---|-----|
| A | 2.3340 | 6 | 1 |
| A | | | |
| A | 2.2795 | 6 | 2 |
| A | | | |
| B A | 2.1493 | 6 | 4 |
| B | | | |
| B | 1.8702 | 6 | 3 |

ANEXO No. 7. Análisis de varianza para concentración de globulinas

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|--------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 0.0767 | 0.23 | 0.7954 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 0.1203 | 0.25 | 0.862 NS |
| SEMANA | 3 | 3.6986 | 7.54 | 0.0079 * |
| EDAD*SEMANA | 6 | 1.8822 | 1.92 | 0.1821 NS |
| Error | 9 | 1.4708 | | |
| Total | 23 | 5.7779 | | |

R-Cuadrado 0.8946
 C.V. 11.5229 %
 CONC. Media 2.1582 g/dl

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|--------|---|------|
| A | 1.9157 | 8 | 5 |
| A | | | |
| A | 1.6101 | 8 | 3 |
| A | | | |
| A | 1.4940 | 8 | 4 |

| Grupo Duncan | Media | N | SEM |
|--------------|--------|---|-----|
| A | 1.9157 | 6 | 3 |
| A | | | |
| A | 1.9150 | 6 | 4 |
| A | | | |
| A | 1.5063 | 6 | 1 |
| B | 0.9585 | 6 | 2 |

ANEXO No. 8. Análisis de varianza para concentración de colesterol

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|-----------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 1636.2574 | 2.52 | 0.1352 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 376.103 | 0.39 | 0.7658 NS |
| SEMANA | 3 | 1560.199 | 1.60 | 0.2564 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 4092.546 | 2.10 | 0.1524 NS |
| Error | 9 | 2922.346 | | |
| Total | 23 | 10587.453 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC Media
 0.723980 26.78082 % 67.285 mg/dl

ANEXO No. 9. Análisis de varianza para concentración de calcio

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|---------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 120.811 | 5.09 | 0.0333 * |
| ANIM(EDAD) | 3 | 171.962 | 4.83 | 0.0286 * |
| SEMANA | 3 | 70.673 | 1.98 | 0.1870 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 100.44 | 1.41 | 0.3086 NS |
| Error | 8 | 106.883 | | |
| Total | 23 | 570.766 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
 0.81273 28.3906 % 12.138 mg/dl

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|--------|---|------|
| A | 14.796 | 8 | 5 |
| A | | | |
| B A | 12.311 | 8 | 4 |
| B | | | |
| B | 9.308 | 8 | 3 |

ANEXO No. 10. Análisis de varianza para concentración de potasio

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|---------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 1.6128 | 0.20 | 0.8187 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 23.913 | 2.02 | 0.1814 NS |
| SEMANA | 3 | 25.493 | 2.16 | 0.1633 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 42.411 | 1.79 | 0.2069 NS |
| Error | 8 | 35.485 | | |
| Total | 23 | 128.916 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
 0.7247 24.0727 % 8.2485 mEq/L

ANEXO No. 11. Análisis de varianza para concentración de sodio

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|------------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 1069.0402 | 1.58 | 0.2649 NS |
| ANIM(EDAD) | 3 | 8918.5458 | 8.76 | 0.0066 * |
| SEMANA | 3 | 2486.8952 | 2.44 | 0.1389 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 3564.5381 | 1.75 | 0.2267 NS |
| Error | 8 | 2713.9736 | | |
| Total | 22 | 18687.2661 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC. Media
 0.8547 14.856 % 123.187 mEq/L

ANEXO No. 12. Análisis de varianza para concentración de magnesio

| F V | GL | SC | Valor F | Pr > F |
|-------------|----|--------|---------|-----------|
| EDAD | 2 | 3.055 | 5.86 | 0.0235 * |
| ANIM(EDAD) | 3 | 0.706 | 0.90 | 0.4769 NS |
| SEMANA | 3 | 1.397 | 1.79 | 0.2198 NS |
| EDAD*SEMANA | 6 | 1.555 | 0.99 | 0.4830 NS |
| Error | 9 | 2.346 | | |
| Total | 23 | 9.0609 | | |

R-Cuadrado C.V. CONC Media
 0.740945 26.282 % 1.943 mEq/L

| Grupo Duncan | Media | N | EDAD |
|--------------|--------|---|------|
| A | 2.2075 | 8 | 5 |
| A | | | |
| A | 2.1830 | 8 | 4 |
| B | 1.4388 | 8 | 3 |

ANEXO No. 13 Cronograma seguido para la colección de semen

| MARZO | | | ABRIL | | | | | | MAYO | | |
|---------|---------|---|---------|---------|---|--------|---------|---|---------|---------|---|
| SEMANAS | | | SEMANAS | | | | | | SEMANAS | | |
| 1 | | 2 | 3 | | 4 | 5 | | 6 | 7 | | 8 |
| Martes | Viernes | | Martes | Viernes | | Martes | Viernes | | Martes | Viernes | |
| R | R | D | R | R | D | R | R | D | R | R | D |

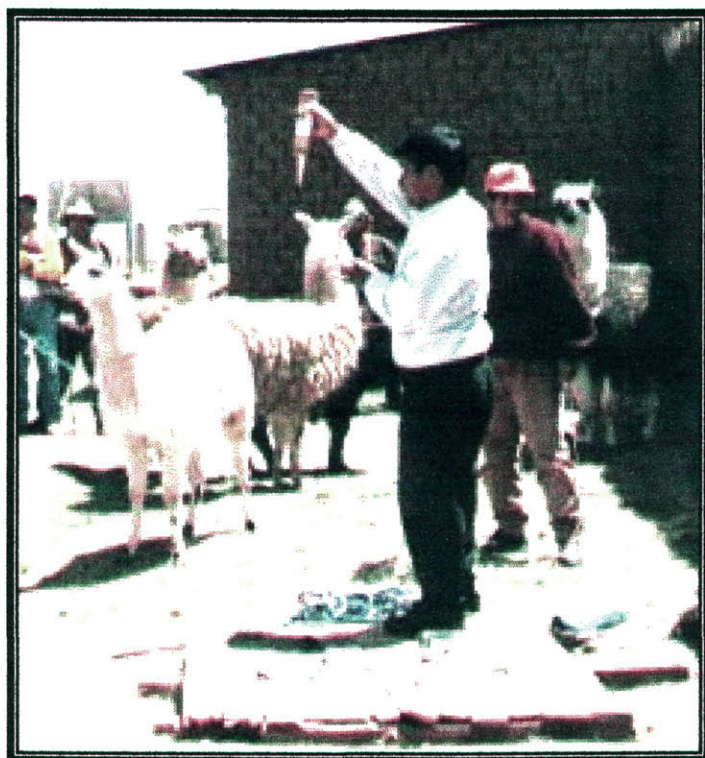
Donde: R= recolección

D= descanso

Maniquí de Grupa de llama

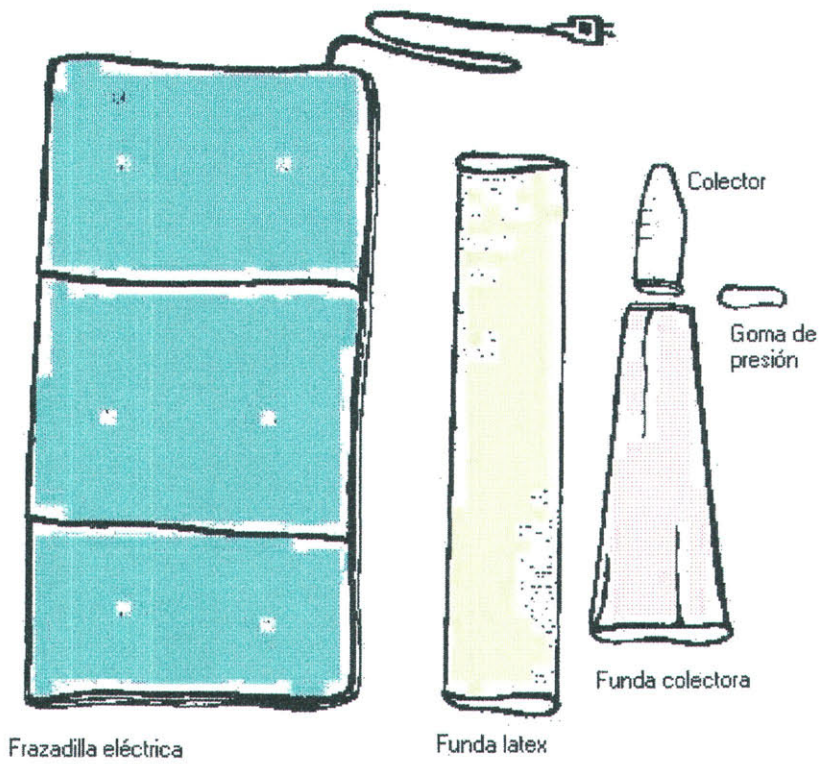


Vagina artificial utilizada en el ensayo



ANEXO No. 16

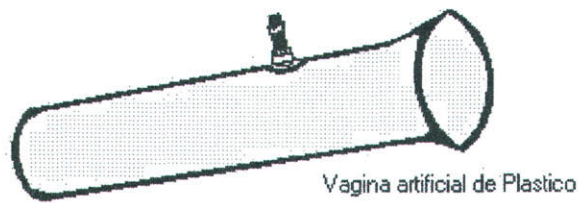
Implementos utilizados para la recolección del semen



Frazadilla eléctrica

Funda latex

Funda colectora



Vagina artificial de Plastico

ANEXO No. 17

Datos obtenidos de las concentraciones de los componente bioquímicos del plasma seminal de llamas en tres edades.

| | | 3 AÑOS DE EDAD | | 4 AÑOS DE EDAD | | 5 AÑOS DE EDAD | |
|--------------------------|----------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|-------|
| COLECCIONES | | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
| Fosforo inorganico mg/dl | col 1 | 15.972 | 14.02 | 16.05 | 10.65 | 7.575 | 6.682 |
| | col 2 | 10.508 | 9.356 | 9.119 | 10.167 | 9.103 | 7.254 |
| | col 3 | 7.492 | 8.103 | 8.556 | 8.528 | 8.413 | 7.11 |
| | col 4 | 7.355 | 9.265 | 10.869 | 8.696 | 8.182 | 7.055 |
| | Promedio | 10.332 | 10.186 | 11.149 | 9.510 | 8.318 | 7.025 |
| | SD | 4.032 | 2.619 | 3.413 | 1.058 | 0.631 | 0.244 |

| | | 3 AÑOS DE EDAD | | 4 AÑOS DE EDAD | | 5 AÑOS DE EDAD | |
|---------------|----------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| COLECCIONES | | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
| glucosa mg/dl | col 1 | 6.837 | 5.835 | 5.233 | 6.837 | 7.81 | 7.093 |
| | col 2 | 5.828 | 6.375 | 6.545 | 7.789 | 6.753 | 6.713 |
| | col 3 | 5.038 | 5.565 | 6.745 | 6.345 | | 6.452 |
| | col 4 | 6.264 | 6.137 | 4.959 | 4.959 | 5.678 | 5.653 |
| | Promedio | 5.992 | 5.978 | 5.871 | 6.483 | 6.747 | 6.478 |
| | SD | 0.758 | 0.353 | 0.905 | 1.179 | 1.066 | 0.610 |

| | | 3 AÑOS DE EDAD | | 4 AÑOS DE EDAD | | 5 AÑOS DE EDAD | |
|---------------------|----------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| COLECCIONES | | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
| proteína total g/dl | col 1 | 3.592 | 3.685 | 3.652 | 3.557 | 4.231 | 4.325 |
| | col 2 | 2.793 | 3.215 | 2.873 | 3.084 | 3.895 | 3.568 |
| | col 3 | 3.634 | 2.936 | 4.136 | 3.872 | 3.775 | 4.362 |
| | col 4 | 3.953 | 3.651 | 4.288 | 4.264 | 4.263 | 3.967 |
| | Promedio | 3.493 | 3.372 | 3.737 | 3.694 | 4.041 | 4.056 |
| | SD | 0.494 | 0.361 | 0.637 | 0.499 | 0.243 | 0.371 |

| | | 3 AÑOS DE EDAD | | 4 AÑOS DE EDAD | | 5 AÑOS DE EDAD | |
|---------------|----------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| COLECCIONES | | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
| Albúmina g/dl | col 1 | 1.933 | 2.035 | 2.194 | 2.274 | 2.516 | 3.052 |
| | col 2 | 1.996 | 1.972 | 2.65 | 2.167 | 2.567 | 2.325 |
| | col 3 | 0.965 | 1.036 | 1.692 | 2.279 | 2.565 | 2.684 |
| | col 4 | 2.365 | 2.276 | 2.441 | 2.077 | 1.638 | 2.099 |
| | Promedio | 1.815 | 1.830 | 2.244 | 2.199 | 2.322 | 2.540 |
| | SD | 0.598 | 0.545 | 0.413 | 0.096 | 0.456 | 0.418 |

| | 3 AÑOS DE EDAD | | 4 AÑOS DE EDAD | | 5 AÑOS DE EDAD | |
|------------------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
| Globulina | | | | | | |
| g/dl | | | | | | |
| COLECCIONES | | | | | | |
| col 1 | 1.659 | 1.65 | 1.458 | 1.283 | 1.715 | 1.273 |
| col 2 | 0.797 | 1.243 | 0.223 | 0.917 | 1.328 | 1.243 |
| col 3 | 2.669 | 1.9 | 2.444 | 1.593 | 1.21 | 1.678 |
| col 4 | 1.588 | 1.375 | 1.847 | 2.187 | 2.625 | 1.868 |
| Promedio | 1.678 | 1.542 | 1.493 | 1.495 | 1.720 | 1.516 |
| SD | 0.767 | 0.293 | 0.939 | 0.538 | 0.641 | 0.308 |

| | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|--------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | creatinina | | | | | |
| mg/dl | | | | | | |
| COLECCIONES | | | | | | |
| col 1 | 4.667 | 4.194 | 4.758 | 4.839 | 3.306 | 3.871 |
| col 2 | 2.661 | 5.323 | 0.403 | 6.774 | 3.306 | 7.0903 |
| col 3 | 1.048 | 3.306 | 5.323 | 4.032 | 1.532 | 3.548 |
| col 4 | 3.226 | 1.613 | 3.387 | 2.823 | 1.613 | 0.242 |
| Promedio | 2.901 | 3.609 | 3.468 | 4.617 | 2.439 | 3.688 |
| SD | 1.496 | 1.566 | 2.199 | 1.660 | 1.001 | 2.799 |

| | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|--------------|-------------------|---------|---------|--------|---------|---------|
| | Colesterol | | | | | |
| mg/dl | | | | | | |
| COLECCIONES | | | | | | |
| col 1 | 60.305 | 54.198 | 67.176 | 58.015 | 93.13 | 74.046 |
| col 2 | 67.939 | 61.069 | 283.969 | 54.198 | 117.557 | 105.344 |
| col 3 | 38.168 | 37.405 | 36.641 | 65.649 | 47.328 | 150.382 |
| col 4 | 67.939 | 199.237 | 44.275 | 67.176 | 41.985 | 56.489 |
| Promedio | 58.588 | 87.977 | 108.015 | 61.260 | 75.000 | 96.565 |
| SD | 14.081 | 74.836 | 118.018 | 6.182 | 36.494 | 41.177 |

| | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|--------------|---------------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | Calcio | | | | | |
| mg/dl | | | | | | |
| COLECCIONES | | | | | | |
| col 1 | 8.805 | 9.811 | 10.314 | 12.201 | 25.283 | 12.075 |
| col 2 | 9.182 | 7.925 | 18.113 | 11.698 | 24.78 | 12.453 |
| col 3 | 10.692 | 8.679 | 12.327 | 13.459 | 19.623 | 7.296 |
| col 4 | 12.075 | 7.296 | 9.56 | 10.818 | 7.673 | 9.182 |
| Promedio | 10.189 | 8.428 | 12.579 | 12.044 | 19.340 | 10.252 |
| SD | 1.499 | 1.082 | 3.870 | 1.103 | 8.188 | 2.453 |

| COLECCIONES | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|------------------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| Potasio mEq/L | | | | | | |
| col 1 | 10.592 | 11.181 | 7.719 | 9.45 | 10.523 | 8.931 |
| col 2 | 4.915 | 4.777 | 11.112 | 8.515 | 10.523 | 4.881 |
| col 3 | 6.508 | 9.45 | 5.088 | 8.758 | 8.654 | 4.362 |
| col 4 | 11.077 | 5.642 | 7.442 | 6.854 | 11.492 | 9.519 |
| Promedio | 8.273 | 7.763 | 7.840 | 8.394 | 10.298 | 6.923 |
| SD | 3.035 | 3.052 | 2.480 | 1.101 | 1.187 | 2.677 |

| COLECCIONES | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Magnesio mEq/L | | | | | | |
| col 1 | 1.668 | 1.494 | 2.475 | 2.257 | 2.838 | 2.883 |
| col 2 | 0.536 | 1.449 | 2.845 | 2.174 | 2.838 | 1.743 |
| col 3 | 0.8 | 1.94 | 1.064 | 2.483 | 1.577 | 1.675 |
| col 4 | 1.774 | 1.849 | 2.219 | 1.947 | 2.242 | 1.864 |
| Promedio | 1.195 | 1.683 | 2.151 | 2.215 | 2.374 | 2.041 |
| SD | 0.619 | 0.248 | 0.769 | 0.221 | 0.601 | 0.567 |

| COLECCIONES | COL3 | COLC3 | LM4 | MACH4 | NEG5 | PIN5 |
|----------------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|
| Sodio mEq/L | | | | | | |
| col 1 | 162.435 | 150.777 | 113.472 | 142.617 | 86.269 | 182.642 |
| col 2 | 109.585 | 136.788 | 75.777 | 134.456 | 86.269 | 149.223 |
| col 3 | | 104.534 | 120.078 | 154.275 | 70.337 | 127.073 |
| col 4 | 120.466 | 124.352 | 147.668 | 146.114 | 92.876 | 113.86 |
| Promedio | 130.829 | 129.113 | 114.249 | 144.366 | 83.938 | 143.200 |
| SD | 27.907 | 19.622 | 29.617 | 8.216 | 9.587 | 30.071 |