

Efecto de la inseminación artificial con semen fresco, con uno y dos servicios, en la fertilidad y natalidad de las alpacas

Effect of artificial insemination with fresh semen, with one and two services, on the fertility and natality of alpacas

Wilber García V.^{1,3}, Virgilio Alarcón B.²

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar los porcentajes de preñez y natalidad de la inseminación artificial en alpacas con semen fresco, con uno y dos servicios, en Cusco, Perú. Se colectó semen de 10 alpacas mediante el método poscópula entre enero y marzo, utilizando los eyaculados que tenían volumen ≥ 1 ml, motilidad $\geq 60\%$ y color rojo claro o blanco cremoso. Los eyaculados fueron diluidos en Tris-glucosa y yema de huevo a una concentración de 20%. Para la inseminación, se seleccionaron alpacas con historia de partos previos, descanso de ≥ 20 días posparto y condición corporal ≥ 3 , receptivas al macho y con folículo preovulatorio ≥ 7 mm. Se hizo la inducción de la ovulación con la administración de 80 μg buserelina/animal. Las alpacas fueron inseminadas a las 26-30 h de la inducción de la ovulación, con semen fresco diluido (1 ml con 25×10^6 espermatozoides), depositado dentro del cuerpo del útero. El diagnóstico de preñez se determinó a los 30 días del servicio y la natalidad a la parición. De 200 alpacas inseminadas con un servicio se obtuvo 50.5% de preñez y 46% de natalidad. De igual manera, las 99 alpacas que quedaron vacías al primer servicio fueron inseminadas por segunda vez obteniéndose 45.5% de preñez y 38.4 de natalidad. Al término de la campaña, con 1 o 2 servicios se logró obtener 73% de preñez y 65% de natalidad. Las altas tasas de preñez y natalidad obtenidas al inseminar con semen fresco, con uno y dos servicios hacen elegible esta técnica para su empleo en rebaños de productores.

Palabras clave: alpaca; inseminación artificial; semen fresco; fertilidad; natalidad

¹ Estación Marangani, Centro de Investigación IVITA, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Cusco, Perú

² Escuela Profesional de Veterinaria, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco – UNSAAC, Cusco, Perú

³ E-mail: wilberg24@hotmail.com

Recibido: 25 de julio de 2018

Aceptado para publicación: 30 de enero de 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the pregnancy and natality rate of artificial insemination (AI) in alpacas, using fresh semen, with one and two services, in Cusco, Peru. Semen from 10 alpacas was collected by the post-copula method between January and March, using ejaculates that had volume ≥ 1 ml, motility $\geq 60\%$ and light red or creamy white color. The ejaculates were diluted in Tris-glucose and egg yolk at a concentration of 20%. For AI, alpacas with history of previous births, ≥ 20 -day post-partum and body condition ≥ 3 , receptive to the male and with a preovulatory follicle ≥ 7 mm were selected. The induction of ovulation was done with the administration of 80 μg buserelin/animal. The females were inseminated 26-30 h after the induction of ovulation, with diluted fresh semen (1 ml with 25×10^6 spermatozoa), deposited inside the body of the uterus. The diagnosis of pregnancy was determined at 30 days of service and natality at parturition. Of 200 alpacas inseminated with one service, 50.5% of pregnancy and 46% natality rate were obtained. Likewise, the 99 alpacas that did not conceive at the first service were inseminated for the second time, obtaining 45.5% of pregnancy and 38.4 natality. At the end of the campaign, with 1 or 2 services, 73% of pregnancies and 65% of births were obtained. The high pregnancy and birth rates obtained when inseminating with fresh semen, with one and two services make this technique eligible for use in commercial herds.

Key words: alpaca; artificial insemination; fresh semen; fertility; natality

INTRODUCCIÓN

La crianza de camélidos domésticos es una de las actividades de mayor importancia e impacto en el desarrollo socio económico de la población altoandina del Perú, no solo por su capacidad de adaptación a las difíciles condiciones medioambientales, con pisos altitudinales sobre los 4000 m, sino por su utilización como fuente de alimentos de alto contenido proteico, como medio de transporte y, en caso de la alpaca, como un recurso para la producción de fibra de buena calidad (Huanca *et al.*, 2007).

La aplicación de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial (IA) ha contribuido enormemente al progreso genético en los bovinos lecheros. El desarrollo de esta tecnología en los camélidos sudamericanos empezó en el Perú en 1960 (Fernández-Baca y Novoa, 1968) y más recientemente en Australia (Vaughan *et al.*,

2003), Europa (McEvoy *et al.*, 1992; Burgel *et al.*, 2000) y América del Sur (De la Vega 1996; Bravo *et al.*, 1997; Aller *et al.*, 1999; Ratto *et al.*, 1999; Apaza *et al.*, 2001; Torres, 2006; Alarcón *et al.*, 2012), en pequeños grupos de animales y con resultados muy variados, debido a problemas en la colección de semen, baja concentración de espermatozoides, naturaleza viscosa del semen y métodos de inseminación, que han impedido el desarrollo masivo de la IA en estas especies (Fowler, 1989; Huanca *et al.*, 2007).

En este contexto, se han desarrollado diversos métodos para la colección de semen en alpacas y llamas. Al principio se reportó el uso de condones, luego la electroeyaculación, la fistula uretral y la vagina artificial. Más recientemente, se ha desarrollado una técnica de colección en la vecindad de la os externa de la cérvix después de la monta natural, llamada método poscópula (Alarcón *et al.*, 2012), donde el semen colectado es generalmente de poca viscosidad y de mejor

calidad que el semen colectado con vagina artificial (Bravo *et al.*, 2013).

El método de IA más utilizado ha sido el de vía transcervical (Fernades Baca y Novoa, 1968), que requiere que la cérvix sea manipulada por vía transrectal para depositar el semen dentro del cuerno uterino ipsilateral al ovario que contiene el folículo ovulatorio a través de una pipeta de inseminación (Adams *et al.*, 2009). Sin embargo, tiene limitaciones por la estrechez de la pelvis en cerca del 20% de las alpacas, así como el pasaje de la pipeta a través de los anillos más próximos a la os interna de la cérvix. Un nuevo método alternativo, práctico y sencillo ha sido reportado (Alarcón *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2013; García, 2015; García *et al.*, 2017), que consiste en pasar la pipeta de IA a través de la cérvix utilizando un espéculo equipado con una fuente de luz que permite identificar el cuello uterino y pasar los anillos y depositar el semen en el cuerpo del útero. Este método permite inseminar al 100% de los animales inducidos a ovular, el tiempo de inseminación es corto y no provoca estrés.

Estas nuevas metodologías para la colección de semen y la IA fueron validados por García (2015) en 11 comunidades alpaqueras localizadas en las provincias de la región Cusco, Perú. Se inseminaron 263 alpacas con semen fresco diluido, en zonas donde no existen laboratorios con equipo especializado, lográndose 50.2% de preñez (29.6-77.8%). De la misma manera, se inseminaron 80 alpacas en siete anexos de la provincia de Caylloma, región Arequipa, con una tasa de preñez de 41.5% y 180 alpacas con semen refrigerado obteniéndose 30-50% de preñez (García *et al.*, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este proyecto fue evaluar los porcentajes de preñez y natalidad realizado la IA con semen fresco, con una y dos servicios, en alpacas Huacayas del rebaño del Centro de Investigación IVITA en Marangani, Cusco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Animales

El estudio se realizó en el fundo La Raya de la estación experimental Marangani del Centro de Investigación IVITA de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, situado en el distrito de Marangani, Cusco, Perú, a una altitud de 4314 msnm. Se utilizaron 10 alpacas macho de 4 a 8 años de edad y peso promedio de 62 ± 3.5 kg, así como 200 alpacas hembra de 3 a 7 años y peso promedio de 52.8 ± 8.9 kg. Los animales se mantuvieron en pasturas naturales durante todo el estudio. Los machos eran parte del grupo élite de reproductores del fundo.

Colección de Semen

La colección se realizó entre los meses de enero a marzo (época de lluvias). Las muestras de semen fueron obtenidas poscópula, de acuerdo con la técnica descrita por Alarcón *et al.* (2012), para lo cual se utilizaron hembras adultas sexualmente receptivas al macho. La colección de semen se realizó dos veces por semana. Cada hembra fue empadrada con un macho. Al término de la cópula se insertó un espéculo vaginal y todo el semen que se encontraba en la vecindad externa de la cérvix fue colectado y depositado en un tubo de vidrio graduado y mantenido a 37 °C. Se evaluó la calidad del semen fresco, aceptando los eyaculados que cumplieron los siguientes requisitos: volumen ≥ 1 ml, motilidad total $\geq 60\%$ y color rojo claro o blanco cremoso.

Las muestras de semen fresco se diluyeron con una solución compuesta por 0.3 M Tris, 27.75 mM glucosa, 94.7 mM ácido cítrico, ajustada a un pH 7.17 ± 0.02 y una osmolaridad de 333.0 ± 2.01 mOsm. A esta solución se le añadió tilosina 0.1 mg/ml, gentamicina 0.5 mg/ml, lincomicina 1.8 mg/ml y yema de huevo fresco de codorniz a una

concentración final de 20% (v/v). Las alícuotas de semen diluido fueron mantenidas a 35 °C hasta el momento de la inseminación.

Variables de Calidad Seminal

El volumen de cada eyaculado fue determinado en un tubo graduado. Para la motilidad espermática se tomó 10 µl de semen en una lámina portaobjetos precalentada, cubriéndola con una laminilla y observada a 400X en un microscopio de contraste de fase. La motilidad se calificó como porcentaje de espermatozoides con movimientos oscilatorios y progresivos en varios campos del microscópico, como lo describen Garnica *et al.* (1993). La motilidad se expresó en porcentaje.

La viabilidad espermática en fresco se evaluó por medio de la tinción de eosinainigrosina (Hancock, 1957), en portaobjetos atemperados a 35 °C y con la ayuda de un microscopio óptico a 400X. Se contaron 200 espermatozoides en varios campos del microscopio. Se consideraron como espermatozoides vivos aquellos donde el colorante no penetró en la cabeza. La viabilidad se expresó en porcentaje.

La concentración espermática se determinó en una cámara de Neubauer. Una muestra de semen se diluyó en 1:50 o 1:100, según la evaluación previa de motilidad, en solución de NaCl al 3% y se observó en un microscopio de contraste de fase a 400X, tal como lo indica Bravo *et al.* (2000). La concentración espermática se expresó en millones de espermatozoides por mililitro.

La prueba de endosmosis (*hypoosmotic-swelling test*, HOST) se hizo con la finalidad de evaluar la integridad funcional de la membrana plasmática. Para esto, se incubaron 25 µl de la muestra en 500 µl de solución hipoosmótica (100 mOsm) durante 60 min a 37 °C y se tomaron 10 µl para la observación en el microscopio. Un total de 200 espermatozoides fueron contados en va-

rios campos del microscopio, donde los espermatozoides vivos con colas dobladas e hinchadas fueron registrados como células positivas a HOST (Aisen y Veturino, 2004). Los resultados se expresaron en porcentaje.

Inseminación Artificial

Se seleccionaron 200 alpacas adultas con historia de partos previos, con un descanso sexual mínimo de 20 días posparto y condición corporal ≥ 3 . Los animales que presentaban conducta manifiesta de recepción del macho y un folículo preovulatorio ≥ 7 mm detectado por ecografía transrectal, mediante un ecógrafo Aloka 500 (Aloka Co., Led Tokio, Japón) equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz, fueron inducidas a ovular con la administración intramuscular de 8 µg de buserelina acetato (Conceptase®, Laboratorio Agrovetermarket, Perú) por animal (Bravo *et al.*, 2012).

Las alpacas fueron inseminadas en grupos de 15 a 30 animales por fecha a las 26-30 h de la inducción de la ovulación (González *et al.*, 2011), con semen fresco diluido a 35 °C dentro 30-60 min después de la colección. La región vulvar fue limpiada con una toalla húmeda y se introdujo el espéculo vaginal para identificar la os externa de la cervix. El semen diluido (1 ml) a una concentración de 25×10^6 /ml fue cargado en una pipeta de inseminación de vacunos y se introdujo en el cuerpo del útero. El diagnóstico de preñez se hizo por ecografía a los 30 días del servicio y el porcentaje la natalidad a la parición.

Las alpacas que quedaron vacías de la primera inseminación fueron inseminadas por segunda vez (dos servicios). Los animales que presentaban conducta manifiesta de recepción del macho y un folículo preovulatorio ≥ 7 mm detectado por ecografía transrectal fueron inducidas a ovular con la administración intramuscular de 8 µg de buserelina acetato. El proceso de inseminación y diagnóstico de preñez se realizó con la misma metodología de la primera inseminación.

Cuadro 1. Porcentaje de preñez y de natalidad en alpacas del rebaño del Centro de Investigación IVITA-Maranganí, inseminadas con semen fresco diluido, según el número de servicios

N.º de servicios	Alpacas inseminadas	Preñadas	Vacías	Preñez ¹ (%)	Natalidad ² (%)
1	200	101	99	50.5 ^a	46.0 ^a
2	99	45	54	45.5 ^a	38.4 ^a
Total	200	146	54	73.0	65.0

^a Columnas con superíndices iguales indican que no existe diferencia estadística significativa

¹ Determinado por ecografía en el día 30 pos-inseminación

² Determinado al parto

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el programa SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). Se empleó estadística descriptiva para determinar el tiempo de cópula, volumen, color, concentración, motilidad, viabilidad y HOST+. Para evaluar el porcentaje de preñez y natalidad se utilizó la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

El análisis seminal de eyaculados frescos de 10 reproductores indicaron un volumen de 2.8 ± 1.1 ml, color predominante rojo claro (80%), concentración de 73.8 ± 23.8 millones de espermatozoides/ml, viabilidad de $75.6 \pm 3.2\%$, integridad funcional de la membrana de $51.1 \pm 2.8\%$, motilidad de $63.1 \pm 3.5\%$, anormalidades espermáticas de $21.8 \pm 2.7\%$ y el tiempo de cópula fue de 18.9 ± 6.7 min. Las muestras de semen fresco se diluyeron 1:3 (v:v, semen: diluyente), lográndose obtener hasta 11 dosis seminales por eyaculado.

Los resultados de la IA se presentan en el Cuadro 1. En las 200 alpacas que fueron inseminadas se obtuvo 50.5% de preñez (con-

cepción) y 46% de natalidad. De igual manera, las 99 alpacas que quedaron vacías de la primera inseminación fueron inseminadas por segunda vez, lográndose obtener 45.5 % de preñez y 38.4 de natalidad. El resultado global al final de la campaña (utilizando uno o dos servicios) fue de 73% de preñez a los 30 días del servicio y 65% de natalidad a la parición, lo cual indicó 8% de mortalidad intrauterina entre el día 31 de gestación hasta el parto.

DISCUSIÓN

Las características seminales encontradas en este estudio por el método de colección de semen poscópula son similares a otros reportes en alpacas (Alarcón *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2013; García, 2015; García *et al.*, 2017) y llamas (Aller *et al.*, 2003); sin embargo, los valores de volumen, motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos fueron mejores que en el semen colectado mediante vagina artificial en alpacas (Dávalos y Olazábal, 2002; Flores *et al.*, 2002; Morton *et al.*, 2007) y electroeyaculación en llamas (Giuliano, 2012). Por otro lado, la concentración espermática fue inferior a los valores reportados por estos autores, tanto en alpacas como en llamas.

Parámetros como volumen, color, motilidad, concentración espermática, vitalidad y morfología son altamente variables entre machos, entre eyaculados colectados del mismo macho, edad, método de colección y especie (Sumar y Leyva, 1981; Bravo *et al.*, 1997; Aller *et al.*, 2003; Tibary y Vaughan, 2006). Así, eyaculados obtenidos por vagina artificial en alpacas tienden a disminuir en volumen, concentración y viscosidad, cuando se incrementa la frecuencia de uso (Bravo *et al.*, 1997). Así mismo, Alarcón *et al.*, (2012) compararon el método poscópula con el método de la vagina artificial en alpacas obteniendo semen de menor viscosidad y mejor calidad seminal con el método poscópula, permitiendo que la muestra sea más manejable en términos de evaluación y adición del dilutor.

La tasa de preñez obtenida es mayor que las tasas obtenidas a la IA en alpacas por otros autores (Fernández Baca y Novoa, 1968; Torres, 2006; Tito, 2008; Ordoñez *et al.*, 2013), usando semen fresco diluido, así como en llamas (Aller *et al.*, 2003), y camellos y dromedarios (Skidmore y Billah, 2006). Por otro lado, Apaza *et al.* (2001) reportaron 51% de preñez en 207 alpacas inseminadas con semen fresco diluido con una solución de BSA + glucosa e induciendo la ovulación con un análogo de GnRH, en tanto que García *et al.* (2017) inseminaron 60 alpacas con semen fresco diluido en Tris-glucosa e inducido a ovular con un análogo de GnRH obteniendo 48% de preñez. La variabilidad en los resultados se debe posiblemente a la calidad del semen, al dilutor, al método de inducción de la ovulación, al método de inseminación, al diámetro folicular en el momento de la IA, al tiempo de IA después de inducción a la ovulación, condición corporal, número de espermatozoides/dosis, época del año, etc. (Bravo *et al.*, 2000, 2013; Skidmore *et al.*, 2013; Guliano, 2015).

No se observó ningún caso de infección uterina por la IA con semen poscópula. Esto puede ser un indicativo que los antibióticos usados en el diluyente han controlado los

agentes bacterianos del semen mezclado con secreciones vaginales y glóbulos rojos (debido a la inflamación, edema e hiperemia del endometrio de la hembra por el pene) (Giuliano, 2012), complementados con el buen manejo del semen y los materiales de inseminación, tal como lo demuestran los trabajos de IA en alpacas con semen poscópula (Alarcón *et al.*, 2012; García, 2015; García *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

La mejora del proceso de colección de semen mediante el método poscópula y la aplicación de un segundo servicio de inseminación artificial a las alpacas que no concibieron en el primer servicio permitieron obtener mayores tasas de preñez y natalidad.

LITERATURA CITADA

1. **Adams GP, Ratto MH, Collins CW, Bergfelt DR. 2009.** Artificial insemination in South American camelids and wild equids. *Theriogenology*. 71: 166-175. doi: 10.1016/j.theriogenology.-2008.09.005
2. **Aisen E, Veturino A. 2004.** Recolección y evaluación del semen. En: Aisen E (ed). *Reproducción ovina y caprina*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica. p 55-69.
3. **Alarcón V, García W, Bravo, W. 2012.** Inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Rev Inv Vet Perú* 23: 58-64. doi: 10.15381/rivep.v28i2.13080
4. **Aller J, Cancino K, Rebuffi E, Alberio H. 1999.** Inseminación artificial en llamas en la Puna. En: *Actas II Congreso Mundial sobre Camélidos*. Cusco, Perú.
5. **Aller J, Rebuffi G, Cancino A, Alberio R. 2003.** Influencia de la criopreservación sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*). *Arch Zootec* 52: 15-23.

6. **Apaza N, Sapana R, Huanca T, Huanca W. 2001.** Inseminación artificial en alpacas con semen fresco en comunidades campesinas. *Rev Inv Vet Perú* 1: 435-438.
7. **Bravo PW, Flores D, Ordoñez C. 1997.** Effect of repeated collection on semen characteristics of alpacas. *Biol Reprod* 57: 520-524.
8. **Bravo PW, Skidmore JA, Zhao XX. 2000.** Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. *Anim Reprod Sci* 62: 173-193. doi: 10.1016/S0378-4320(00)00158-5
9. **Bravo W, Alarcón V, García W. 2012.** New developments on artificial insemination of llamas and alpacas. *Proc ICAR 2102 Satellite Meeting on Camelid Reproduction*. Vancouver, Canada.
10. **Bravo PW, Alarcón V, Baca L, Cuba Y, Ordoñez C, Salinas J, Tito F. 2013.** Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American camelids. *Anim Reprod Sci* 136: 157-163. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.005
11. **Burgel H, Erhardt G, Gaulty M. 2000.** Cryopreservation of llama (*Lama glama*) semen. *Reprod Domest Anim* 35: 26.
12. **Dávalos R, Olazábal J. 2002.** Evaluación de dos formas de colección de semen en alpacas. *Rev Inv Vet Perú* 13: 98-99. doi: 10.15381/rivep.v13i2.7340
13. **De la Vega D. 1996.** Efecto de la concentración espermática y la hora de inseminación artificial con semen fresco sobre el porcentaje de gestación en alpacas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Puno, Perú: Univ. Nacional del Altiplano. 54 p.
14. **Fernández-Baca S, Novoa C. 1968.** Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña (*Vicugna vicugna*). *Rev Fac Med Vet* 22: 9-18.
15. **Flores P, García-Huidobro J, Muñoz C, Bustos-Obregón E, Urquieta B. 2002.** Alpaca semen characteristics previous to a mating period. *Anim Reprod Sci* 72: 259-266. doi: 10.1016/S0378-4320(02)00095-7
16. **Fowler M. 1989.** Reproduction. In: Fowler ME (Ed). *Medicine and surgery of South American camelids*. USA: Iowa State University Press. p 276-312.
17. **García W. 2015.** Nueva metodología de colección de semen e inseminación artificial en alpacas y llamas. En: VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. Puno, Perú.
18. **García W, Alarcón V, Bravo W. 2017.** Inseminación artificial de alpacas con semen refrigerado y con inclusión de dos tipos de yema de huevo. *Rev Inv Vet Perú* 28: 337-344. doi: 10.15381/rivep.v28i2.13080
19. **Garnica J, Achata R, Bravo PW. 1993.** Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim Reprod Sci* 32: 85-89. doi: 10.1016/0378-4320(93)90059-Z
20. **Giuliano S. 2012.** Extracción y evaluación de semen de camélidos sudamericanos. *Spermova* 2: 6-9.
21. **Giuliano S. 2015.** Nuevos avances en la congelación de semen de camélidos sudamericanos. En: VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. Puno, Perú.
22. **González ML, Huanca T, Cárdenas O. 2011.** Evaluación de la fertilidad en alpacas inseminadas con semen refrigerado a diferentes tiempos post inducción de ovulación. *Spermova* 1: 102-103.
23. **Hancock J. 1957.** The morphology of boar spermatozoa. *J R Microsc Soc* 76: 84-97. doi: 10.1111/j.1365-2818.1956.tb00443.x
24. **Huanca W, Cordero A, Huanca T, Adams G. 2007.** Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos domésticos: avances y perspectivas. *Arch Latinoam Prod Anim* 15(Supl 1): 195-201.
25. **McEvoy TG, Kyle CE, Slater D, Adam CL, Bourke DA. 1992.** Collection evaluation and cryopreservation of llama semen. *J Reprod Fertil* 9: 48.

26. **Morton K, Thomson P, Bailey K, Evans G, Maxwell W. 2007.** Quality parameters for alpaca (*Vicugna pacos*) semen are affected by semen collection procedure. *Reprod Fert Develop* 45: 637-643. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01321.x
27. **Ordoñez C, Cucho E, Ampuero E, Antezana W, Cayo S. 2013.** Inseminación artificial de alpacas con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por electroeyaculación. *Spernova* 1: 65-66.
28. **Ratto MH, Wolter M, Berland M. 1999.** Refrigeration of epididymal sperm from lama with three different extenders. In: *Proc 2nd World Congress on Camelids*. Cusco, Perú.
29. **Skidmore JA, Billah M. 2006.** Comparison of pregnancy rates in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) after deep intra-uterine versus cervical insemination. *Theriogenology* 66: 292-296. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.-11.013
30. **Skidmore JA, Morton KM, Billah M. 2013.** Artificial insemination in dromedary camels. *Anim Reprod Sci* 136: 178-186. doi: 10.1016/j.anireprosci.-2012.10.008
31. **Sumar J, Leyva V. 1981.** Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca (*Lama pacos*). En: *IV Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos*. Punta Arenas, Chile.
32. **Tibary A, Vaughan J. 2006.** Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: a review and clinical observations. *Small Ruminant Res* 61: 283-298. doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.07.018
33. **Tito J. 2008.** Evaluación de técnicas de descongelado de semen en la inseminación artificial en alpacas. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Cusco, Perú: Univ. Nacional San Antonio Abad. 101 p.
34. **Torres R. 2006.** Evaluación de la fertilidad en alpacas (*Vicugna pacos*) de la raza Huacaya a través de inseminación artificial con 2-3 siembras y usando un dilutor, en el distrito de Palca, Provincia de Lampa, Puno. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Arequipa, Perú: Univ. Católica Santa María. 87 p.
35. **Vaughan J, Galloway D, Hopkins D. 2003.** Artificial insemination in alpacas (*Lama pacos*) RIRDC Project AAA-1A: Rural Industries Research and Development Corporation. Australia. 90 p.