



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**“Efecto de la adición de maca (*Lepidium meyenii*) en la  
dieta, sobre las características seminales del semen de  
alpacas”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Vanessa Madelein RUBIO PÉREZ

**ASESOR**

Wilfredo HUANCA LÓPEZ

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Rubio V. Efecto de la adición de maca (*Lepidium meyenii*) en la dieta, sobre las características seminales del semen de alpacas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2019.

---

## Información complementaria

Código ORCID del asesor (es)	0000-0002-7601-0067
Autor DNI (Obligatorio)  Pasaporte /carnet de extranjería (sólo extranjeros)	VANESSA MADELEIN RUBIO PEREZ DNI 41688824
Asesor DNI (Obligatorio)	Dr. Wilfredo Huanca DNI 10036341
Código ORCID del autor	0000-0003-0428-9668
Grupo de investigación	Biología de la reproducción animal (BIOREP)
Financiamiento	149-2017FONDECYT
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación (incluirse localidades y/o coordenadas geográficas).	Sección de Biotecnología Reproductiva, Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV- UNMSM), ubicado en el distrito de San Borja, provincia de Lima, departamento de Lima.
Año o rango de años que la investigación abarcó.	2018



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **miércoles 11 de diciembre de 2019**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0228-EPMV/FMV-2019**, integrado por los siguientes profesores:

<b>MV. Mg. Boris Antonio Lira Mejía</b>	<b>Presidente del Jurado</b>
<b>MV. Mg. Wilfredo Huanca López</b>	<b>Asesor de la Tesis</b>
<b>MV. Mg. Sandra Gracia Bezada Quintana</b>	<b>Miembro del Jurado</b>
<b>MV. Mg. Adriana Pilar Urviola García</b>	<b>Miembro del Jurado</b>

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **RUBIO PÉREZ, VANESSA MADELEIN** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“EFECTO DE LA ADICIÓN DE MACA (*Lepidium meyenii*) EN LA DIETA, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DEL SEMEN DE ALPACAS”**,

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **Diecisiete (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:05 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

.....  
Boris Antonio Lira Mejía: MV. Mg. Prof. Asociado T.C

.....  
Wilfredo Huanca López: MV. Mg. Prof. Principal D.E.

.....  
Sandra Gracia Bezada Quintana: MV. Mg. Prof. Asociado. D.E

.....  
Adriana Pilar Urviola García: MV. Mg. Prof. Auxiliar T.C.

## **Dedicatoria**

Le dedico este trabajo

A mi familia que estuvo en cada paso de esta carrera.

Mis padres que me dieron las raíces de este camino, que me inculcaron el estudio, la  
constancia y el amor a lo que hago.

A mi esposo e hijos que me acompañaron en cada paso de este camino dándome  
fortaleza y oportunidades para crecer profesionalmente, apoyo incondicional y la  
estimulación para culminar este proyecto.

## **Agradecimientos**

A Dios por permitirme estar donde estoy, por darme la salud y oportunidades de desarrollo profesional.

A mi familia por acompañarme y brindarme lo necesario para poder culminar esta profesión.

A mi asesor, el Dr. Wilfredo Huanca, por su guía, paciencia y los consejos a lo largo de este proceso, para lograr mi objetivo trazado.

A mis compañeros de laboratorio que me brindaron su apoyo incondicional para poder realizar el desarrollo práctico del proyecto.

# ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE</b>	<b>4</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE ANEXOS</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>11</b>
<b>LA MACA (LEPIDIUM MEYENII)</b>	<b>11</b>
<b>PROPIEDADES DE LA MACA</b>	<b>14</b>
<b>CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS</b>	<b>15</b>
<b>ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTIVO EN ALPACAS MACHOS</b>	<b>16</b>
<b>2.2.2 LOS ESPERMATOZOIDES</b>	<b>18</b>
<b>2.2.3 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL SEMEN</b>	<b>19</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>25</b>
<b>3.1 LUGAR DE ESTUDIO</b>	<b>25</b>
<b>3.2 ANIMALES Y MUESTRAS.</b>	<b>25</b>
<b>3.3.1 PROCEDIMIENTOS PREVIOS A LA COLECCIÓN</b>	<b>23</b>
<b>3.3.2 COLECCIÓN DE SEMEN</b>	<b>23</b>
<b>3.3.3 EVALUACIÓN DE SEMEN</b>	<b>23</b>
<b>3.3.3.1 EVALUACIÓN MACROSCÓPICA</b>	<b>23</b>
<b>3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL U OBSERVACIONAL</b>	<b>25</b>
<b>3.5 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN</b>	<b>28</b>
<b>IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>34</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>35</b>
<b>APÉNDICE</b>	<b>42</b>



## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la adición de maca (*Lepidium meyenii*) en la dieta sobre las características del semen de alpacas. El trabajo se realizó en la sección de Biotecnología Reproductiva del Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú, entre los meses de junio a diciembre. Se utilizaron cinco alpacas machos de la raza Huacaya, las cuales fueron alimentadas con una dieta base de heno de alfalfa, en una primera fase y posteriormente se adiciono 150g de maca/ día, utilizando los mismos animales para ambos tratamientos (T0: Heno de alfalfa y T1: Heno de alfalfa + 150 g de maca/día). La colección de semen fue realizada entre las 08:00 a 09:00 de la mañana, con la ayuda de una vagina artificial adaptada de ovinos y una frecuencia de colección a intervalos de 5 días, por un periodo de 45 días por tratamiento, hasta obtener un total de 48 eyaculados para ambos tratamientos (n= 24 por tratamiento). El tiempo de cópula determinado fue de  $10 \pm 2$  minutos. Se evaluaron las características macroscópicas: (volumen y filancia) y microscópicas (motilidad, concentración, vivos (%) y Host (+)) del semen de alpacas. Se observó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para la variable concentración de espermatozoides, pero no en las otras variables. Incrementando la concentración de espermatozoides en las alpacas post-tratamiento de 182.17 a 300.27 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/ml.

**Palabras clave:** *Lepidium meyenii*, *Vicugna*, pacos, semen, características seminales.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effect of the addition of maca (*Lepidium meyenii*) on the diet and its effect on the characteristics of the alpaca's semen. The work was carried out in the Reproductive Biotechnology section of the Animal Reproduction Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of the National University of San Marcos, Lima-Peru, between the months of June to December. Five male alpacas of the Huacaya breed were used, which were fed with a base diet of alfalfa hay, in a first phase and subsequently 150g of maca/ day was added, using the same animals for both treatments (T0: Alfalfa Hay and T1: Alfalfa hay + 1500 g of maca / day). The semen collection was made between 08:00 to 09:00 in the morning, with the help of an artificial vagina adapted from sheep and a collection frequency at intervals of 5 days, for a period of 45 days per treatment, up to obtain a total of 48 ejaculates for both treatments (n = 24 per treatment). The intercourse time determined was  $10 \pm 2$  minutes. The macroscopic (volume and filament) and microscopic (motility, concentration, live (%) and Host (+)) characteristics of the alpacas semen were evaluated. Significant statistical difference ( $p < 0.05$ ) was observed for the sperm concentration variable but not in the other variables. Increasing the concentration of sperm in post-treatment alpacas from 182.17 to 300.27 x 10<sup>6</sup> sperm / ml.

**Keywords:** *Lepidium meyenii*, *Vicugna pacos*, South American camelids, semen, sperm concentration, semen characteristics

## LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Composición química de tres morfotipos de hipocótilos secos de maca (100g parte comestible) 10
- Cuadro 2.** Variables macroscópicas y microscópicas del semen de alpaca en época de verano e invierno (promedio  $\pm$  desviación estándar) 22
- Cuadro 3.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas antes y después de ser alimentadas con un suplemento de maca (*Lepidium meyenii*) 28

## LISTA DE ANEXOS

**Cuadro A 1.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas antes de ser alimentadas con un suplemento de maca (*Lepidium meyenii*) 40

**Cuadro A 2.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas alimentadas con un suplemento de maca (*Lepidium meyenii*) 41

## I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos son una especie bandera en nuestro país, pero a pesar de los esfuerzos realizados para que la producción de esta especie sea más rentable para el ganadero altoandino, hasta la fecha, aún son poco satisfactorios, atribuido a diversos factores de manejo, como las deficiencias nutricionales que conlleva a una baja tasa de reproducción. La pobre calidad de los pastos de las praderas altoandinas donde esta especie habita podría ser una de las causas por las bajas tasas de reproducción. Se ha tratado de implementar diversas tecnologías reproductivas como la inseminación artificial. Sin embargo, esta ha tenido muchas dificultades en su aplicación en esta especie, debido a que el semen de las alpacas posee características peculiares, como bajo volumen de eyaculado, baja concentración de espermatozoides y una alta filancia, características que no permiten que se pueda desarrollar de manera adecuada técnicas como la inseminación artificial.

Se han probado diferentes estrategias para mejorar las características del semen de alpacas, como estrategias físicas y químicas entre otras. Así tenemos que se ha probado mejorar la alimentación, incrementando los niveles de energía o proteínas de la dieta. Sin embargo, no se han probados algunos alimentos considerados “super alimentos” en animales, aun cuando su utilización se da de manera rutinaria en seres humanos.

El consumo de la maca (*Lepidium meyenii*), tubérculo de origen altoandino, data de hace mucho tiempo atrás. La maca es conocida como antioxidante con eficacia en varias enfermedades y afecciones. Se ha informado que la maca puede mejorar la hipertensión, la diabetes mellitus, dislipidemia y depresión. Con respecto a la función

sexual y reproductiva en ratas. La maca tiene efectos favorables en el comportamiento sexual, peso testicular y espermatogénesis, particularmente en las etapas iniciales.

No se ha reportado la utilización de maca, como un suplemento alimenticio en el mejoramiento de las características del semen de las alpacas, como una estrategia para mejorar las características seminales y su uso potencial para el desarrollo de la técnica de inseminación artificial, por lo que el presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de la maca en la dieta sobre las características seminales de la alpaca.

## II.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### II.1 La Maca (*Lepidium meyenii*)

La maca es una planta originaria de los Andes peruano, que se desarrolla entre los 3500 y 4500 msnm (Gonzales *et al.*, 2001), su cultivo data de hace más de 2000 años (Gonzales *et al.*, 2009). Siendo descrita por primera vez en la época de la conquista peruana (Cieza de León, 1553; Cobo, 1956). Se intentó cultivar esta planta fuera de su hábitat natural siendo infructuoso este hecho. La maca es la única Brassicaceae domesticada en los Andes (Castañeda *et al.*, 2010). El botánico Wilhelm Gerhard Walpers en el año 1843 describió por primera vez la maca. Esta fue colectada en Pisacoma (Puno-Perú), sin embargo, la morfología de este espécimen es muy diferente, ya que no muestra el engrosamiento y alargamiento característico del hipocótilo que se observan en los especímenes cultivados en los andes centrales (Gonzales, 2006).

*Lepidium meyenii* es el nombre botánico de la especie que aún es aceptado a pesar de que existen intentos por reemplazarlo por *Lepidium peruvianum* G. Chacón (Obregón *et al.*, 2006). La clasificación taxonómica original el Dr. Walpers en 1843 mencionado por Jeri (2000) para la especie *Lepidium meyenii* es la siguiente:

DIVISIÓN	: Fanerógama
Subdivisión	: Angiospermae
CLASE	: Dicotyledoneae
SUBCLASE	: Archichlamydeae
ORDEN	: Rhodales o Papaverales
FAMILIA	: Brassicaceae o Cruciferae
GÉNERO	: <i>Lepidium</i>
ESPECIE	: <i>Lepidium meyenii</i> Walpers
NOMBRE VULGAR	: Maca, Macamama o Maino

La maca tiene un segmento externo bastante chico y una raíz reservarte (hipocótilo) cónico grande al interior de la tierra (Gonzales, 2006), con una longitud aproximada de 18

cm (incluyendo raicillas) y un diámetro de hasta 6.5cm. El hipocólito es la parte que se usa para la alimentación. Este hipocólito puede ser de distintos colores externos que van desde blanco hasta negro, habiéndose descrito hasta trece variedades (Tello *et al.*, 1992). Las especies más estudiadas son la negra, roja y amarilla presentando propiedades distintas cada una de ellas (Gonzales *et al.*, 2005). Estos mostraron una actividad biológica diferente dependiendo del tipo de cultivo, procesamiento, extracción y de la concentración de diferentes metabolitos bioactivos (González *et al.*, 2012; González *et al.*, 2005). Los principales componentes químicos de la maca se consideraron responsables, entre otras cosas, por sus propiedades afrodisíacas, inmunoestimulantes y energizantes (Oshima *et al.*, 2003; Valentova *et al.*, 2006).

Se ha realizado investigaciones sobre la composición del hipocólito de maca, el cual contiene elementos con elevado valor nutricional como son: carbohidratos, proteínas, lípidos, aminoácidos esenciales y ácidos grasos libres (Cuadro 1). Así mismo, la maca posee metabolitos secundarios macamidas, macaridina, alcaloides y glucosinolatos. Los glucosinolatos más abundantes detectados en la maca son glucosinolatos aromáticos: glucosinolato de bencilo (glucotropaeolina) y glucosinolato de metoxibencilo (glucolimnantina) (Gonzales, 2012).

**Cuadro 1.** Composición química de tres morfotipos de hipocótilos secos de maca (100g parte comestible)

Determinaciones	Morfotipos de Maca		
	Amarillo	Rojo	Negro
<b>Humedad, g</b>	9.71	10.14	10.17
<b>Proteínas, g</b>	17.99	17.22	16.31
<b>Grasa, g</b>	0.82	0.91	0.82
<b>Fibra, g</b>	5.30	5.45	4.95
<b>Cenizas, g</b>	3.49	3.68	3.63
<b>Carbohidratos, g</b>	62.69	62.60	63.82
<b>N2 total, g</b>	2.87	2.76	2.42
<b>N2 no proteico, g</b>	1.55	1.16	1.36
<b>Proteína pura, g</b>	8.25	9.97	7.70
<b>Almidón, g</b>	37.86	37.52	38.18



<b>Azúcares solubles reductores directos, g</b>	6.17	6.03	7.02
<b>Azúcares solubles reductores indirectos, g</b>	16.52	17.26	17.10
<b>Riboflavina, mg</b>	0.61	0.5	0.76
<b>Tiamina, mg</b>	0.42	0.52	0.43
<b>Niacina, mg</b>	43.03	37.27	39.06
<b>Ac. Ascórbico, mg</b>	3.52	3.01	2.05
<b>Potasio, mg</b>	1130	1160	1000
<b>Sodio, mg</b>	20	20	40
<b>Magnesio, mg</b>	70	80	80
<b>Calcio, mg</b>	190	200	240
<b>Fósforo, mg</b>	320	290	280
<b>Cobre, ppm</b>	6	6	8
<b>Zinc, ppm</b>	32	30	30
<b>Manganeso, ppm</b>	22	20	22
<b>Hierro, ppm</b>	80	62	86
<b>Boro, ppm</b>	12	24	26

Fuente: Ruíz (2002) citado por Ore (2008).

### **II.1.1 Propiedades de la maca**

La maca es considerada un alimento con múltiples propiedades dentro de las que podemos destacar la mejora sobre la función sexual, la espermatogénesis, la función reproductiva femenina, la memoria, la depresión y la ansiedad, como energizante y contra la hiperplasia benigna de próstata, osteoporosis y síndrome metabólico (González *et al.*, 2001; González *et al.*, 2002; González *et al.*, 2005; González *et al.*, 2006).

Ensayos realizados en ratones reportaron que los extractos lipídicos de maca mejoran la conducta sexual de ratones (Zheng *et al.*, 2000; Cicero *et al.*, 2001; Cicero *et al.*, 2002), sin embargo, cuando se trató de reproducir estos resultados en otros trabajos no tuvieron los mismos resultados (Lentz *et al.*, 2007; Clément *et al.*, 2010). Estudios en seres humanos con la administración de maca en diferentes presentaciones arrojaron resultados bastante interesantes, en algunos mejoró el deseo sexual después de las 8 semanas de consumo de maca y en otro estudio tan solo dos semanas (Gonzales *et al.*, 2002; Stone *et al.*, 2009). Así mismo, mejoró levemente la disfunción eréctil en un estudio doble ciego (Zenico *et al.*, 2009). Los resultados en muchos casos son contradictorios, así podemos mencionar que según una revisión sistemática del efecto de la maca sobre la función sexual en humanos manifiesta que los resultados obtenidos hasta la actualidad no son concluyentes (Shin *et al.*, 2010).

A la maca también se le atribuye propiedades sobre la espermatogénesis, habiéndose realizado investigaciones tanto en ratas como seres humanos. Los efectos

varían de acuerdo a la presentación de la maca. Así, el extracto acuoso el cual se obtiene después de la cocción de los hipocótilos de la maca y el extracto hidroalcohólico incrementaron los estadios de mitosis de la espermatogénesis en ratas después de 14 días de tratamiento (Gonzales *et al.*, 2001; González *et al.*, 2003). Así mismo después de 7 días de tratamiento se mejoró la espermiación en ratas (Chung *et al.*, 2005). En un estudio realizado comparando el efecto de tres tipos de maca, se evidencio que la maca negra mejoró la producción diaria y motilidad de espermatozoides. La maca roja no mejoró ninguna característica y la amarilla tuvo un efecto intermedio (Gonzales *et al.*, 2006).

Gasco *et al.* (2007) administraron por 84 días maca negra y amarilla a ratas, estas incrementaron el recuento de espermatozoides en el epidídimo, ambas variedades aumentaron el conteo en el conducto deferente. Se le atribuye un mayor efecto con la fracción de etil acetato de los hipocótilos de la maca negra, más, este efecto no fue superior al extracto hidroalcohólico total (Yucra *et al.*, 2008).

## **II.2 Camélidos Sudamericanos**

Los camélidos están conformados por los camélidos del Viejo Mundo y los camélidos del Nuevo Mundo también denominados camélidos sudamericanos (CSA). Estos incluyen a las especies domésticas llama (*Lama glama*) y alpaca (*Vicugna pacos*) a las no domésticas como el guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) (Aba 1998). Los camélidos domésticos forman un componente importante de la ganadería en grandes áreas de América del Sur, especialmente Perú, Bolivia, Ecuador, Chile y Argentina (Alvarado y Astrom 1966,

Hoffman 2003, Aba 1998).

Los CSA habitan praderas alto-andinas, generalmente encima de 3800 msnm, en condiciones ambientales hostiles y pasturas de baja calidad nutricional; habiéndose adaptado y llegando a producir fibra de gran calidad, además de productos cárnicos y como transporte (Fernández-Baca, 1991; FAO, 1996). En las explotaciones pecuarias, el macho desempeña una importante función en el proceso productivo y más aún cuando se considera esquemas de mejoramiento genético, mediante una correcta selección y manejo, traducido en una mejora del centro productivo (Fernández-Baca, 1991).

El semen de los CSA presenta características propias como una alta viscosidad, lo que es un problema en el manejo de las muestras en condiciones de laboratorio pero que parece desempeñar un importante rol de protección a los espermatozoides cuando se encuentran en el tracto reproductivo de la hembra (Troedsson *et al.*, 2005).

## **II.2.1 Anatomía y fisiología del sistema reproductivo en alpacas machos**

**2.2.1.1 Pene y Prepucio.** El pene es un órgano fibroelástico con una dirección dirigida hacia la izquierda, con una longitud de 25 a 35 cm sin erección. Tiene una flexura sigmoidea pre escrotal, la extremidad anterior del pene es punteaguda y dirigida hacia la izquierda terminando en dos cortas proyecciones o procesos uretrales, el pene debe ser examinado por la presencia de laceraciones, tumores, cicatrices, frénillo persistente, fimosis, parafimosis, inflamaciones y otras alteraciones (Hafez, 1996).

**2.2.1.2. Epidídimo y Conducto Deferente.** Las partes anatómicas del epidídimo están bien identificadas, su cabeza en la que se une una cantidad variable de conductos eferentes al conducto del epidídimo, forma una estructura aplanada en uno de los polos de los testículos y continua con lo que ha dado llamarse cuerpo del epidídimo, estrecho, el cual termina en un polo opuesto en la amplia cauda epididimal (cola), el entorno de la cauda es visible a simple vista en un animal vivo (Ball y Setchell, 1983).

El conducto deferente abandona la cauda del epidídimo y queda sostenido por un pliegue separado del peritoneo; se separa fácilmente del resto del cordón espermático. Tiene una pared muscular gruesa y su parte terminal está compuesta por glándulas tubulares ramificadas que entran en la uretra pélvica por los *colliculus seminalis*. La cauda del epidídimo es capaz de absorber partículas e incluso espermatozoides (Ball y Setchell, 1983).

Los espermatozoides almacenados en el epidídimo conservan su capacidad de fecundación por varias semanas. El principal órgano de almacenamiento es la cauda dilatada del conducto del epidídimo (Hafez, 1996). La porción anterior en su inicio es de 2 mm y que se continúa con la cola del epidídimo, sin poseer glándulas. El largo total del conducto deferente es de 40 cm, aproximadamente (Osorio y San Martín, 1966).

**2.2.1.3 Los testículos.** Los testículos son las gónadas masculinas, las cuales se desarrollan en el interior de la cavidad abdominal y luego la gónada migra hacia el anillo inguinal, para luego atravesar la pared abdominal para emerger en el anillo inguinal, completando su descenso hasta el fondo del escroto (Hafez, 1996). En la pubertad los testículos incrementan de tamaño, pero se presentan diferencias en tamaño atribuidas a la edad, raza y actividad sexual al momento de efectuar las mediciones (Skidmore, 2000).

Los testículos están ubicados en la región perineal, por lo tanto, pueden ser palpados, estos deben ser más o menos de una longitud promedio de 5 cm. Las anomalías que se pueden encontrar son: hipoplasia e hiperplasia testicular

unilateral o bilateral, aplasia, criptorquidia y ectopia. Los testículos son de consistencia suave (Pérez, 2000) y por lo general ambos de similar tamaño y el peso testicular promedio puede ser de 18 g. Los reproductores se seleccionan por tamaño testicular considerando que existe una relación entre tamaño testicular y producción espermática. Además, una de las funciones importantes es el de formar gametos (Sumar, 1984). La función testicular normal requiere de una estimulación hormonal por gonadotropinas que a su vez están controladas por la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) del hipotálamo. El apoyo de la glándula hipofisiaria es esencial, porque la hipofisectomía o remoción quirúrgica de la hipófisis conduce a la cesación de la espermatogénesis. El tamaño testicular varía durante el año en los sementales sujetos a reproducción estacional. La eliminación de un testículo ocasiona un aumento considerable del otro (aumenta el peso en más del 80%). En el animal criptorquidio unilateral la eliminación del testículo ya descendido a la bolsa escrotal hace que descienda el que queda en el abdomen conforme este crezca (Hafez, 2000).

### **2.2.2 Los espermatozoides**

Los espermatozoides son células especializadas que se dividen en tres partes: cabeza, cuello y cola. La cola se divide en tres porciones: media o intermedia, principal y terminal. El cuello tiene un centríolo en su parte anterior, que se considera el punto de origen de la motilidad. Los filamentos axiales constituyen parte motora de la cola, conformando el axonema que se compone de nueve pares de microtúbulos dispuestos en posición radial alrededor de los microtúbulos centrales. El axonema y las fibras externas densas de la porción media de la cola están cubiertas por mitocondrias, esta vaina mitocondrial constituido por una disposición helicoidal alrededor de las fibras longitudinales de la cola contiene enzimas que convierte la fructosa en compuestos de alta energía para la motilidad. La vaina mitocondrial que envuelve a los filamentos axiales termina en el anillo, donde también termina la parte media e inicia la parte principal de la cola. Las

porciones principal y terminal de la cola carecen de mitocondrias presentando solo microtúbulos longitudinales. Las contracciones de estos microtúbulos provocan el latiguo de la cola, el cual impulsa el desplazamiento hacia delante, las contracciones empiezan en el centriolo proximal y prosiguen en frecuencia rítmica hacia la porción terminal de la cola (Bearden y Fuquay, 1982; Hafez, 1996).

### **2.2.3 Características macroscópicas y microscópicas del semen**

**2.2.3.1 Volumen del semen.** El volumen del semen eyaculado es la porción ocupada dentro del tubo colector, se mide en mililitros, además varía entre 1 a 6 ml (Pérez, 2000). El volumen de semen colectado en alpacas bulbouretrectomizados en promedio fue de  $1.4 \pm 0.51$  ml (Paricahua, 2001). El volumen de semen colectado mediante vagina artificial con el método de maniquí de grupa, en promedio fue de  $0.74 \pm 0.61$  ml, con extremos de 3.20 a 0.10 ml, los factores de periodicidad y edad no afectan al volumen colectado en los animales (Fernández, 2001). El volumen de semen colectado en llamas es el siguiente: a los tres años fue de  $3.74 \pm 0.39$  ml. a los seis años obtuvo  $3.43 \pm 0.49$  ml, obteniendo un promedio de  $3.58 \pm 0.84$  ml (Pérez, 2000).

**2.2.3.2 pH.** Usualmente la medición de pH se realiza con un potenciometro electrónico, sin embargo, debido a la poca cantidad de semen de las alpacas esta se realiza con cintas medidoras de pH. Tanto para llamas y alpacas se reporta un pH fue entre 6.8 a 7.8 siendo ligeramente alcalino, diferente a los ovinos y bovinos con semen ligeramente ácido (Medina, 2002). Las características físicas y químicas del semen varían según las especies, entre eyaculaciones, estaciones de muestreo, métodos de colección, los factores higiénicos y alimentarios, procedimientos de manipulación durante la colección y después de la misma, técnicas analíticas, agentes farmacológicos, estado fisiológico, excitación sexual, tamaño de testículos, número y tamaño de los órganos accesorios (Mc Donald, 1981). Los resultados de pH para alpacas bulbouretrectomizados fue de  $7.19 \pm 0.25$  de pH (Paricahua, 2001).

El pH encontrado en llamas fue de  $8.26 \pm 0.24$  con extremos de 8.70 a 7.80 de pH (Fernández, 2001). Garnica (1998) señala que, el pH del semen de llama a los tres años de edad es de  $7.8 \pm 1.12$  y a los 6 años es de  $7.9 \pm 0.21$  con valores que varían desde 7.95 hasta 7.82 de pH. Un estudio realizado en la Universidad Austral de Chile mostró, un pH de 8.6, en llamas (Von Baer y Helleman, 1998).

**2.2.3.3 Color.** Es la propiedad que se ve en el semen por efecto de la luz y que nos permite distinguir dos cosas de la misma forma y tamaño. Garnica (1998) indica que el color del semen para llama de tres y seis años de edad es blanco lechoso. Los colores de semen encontrado para llamas a la colección fueron blanco cristalino en un 69%, blanco gris en 29% y blanco lechoso en 2% (Fernández, 2001). El color del semen es lechoso con ligeras variaciones hasta blanco cremoso y blanco cristalino, estudios hechos en alpacas atribuyen que estaría dado la coloración de acuerdo a la concentración de espermatozoides (Medina, 2002). El color de semen es blanco ligeramente cremoso y blanco cremoso con 56 y 81% respectivamente (Paricahua, 2001).

**2.2.3.4 Aspecto.** Es el conjunto de rasgos externos (espeso, pegajoso y de difícil desprendimiento) del semen. El semen debe tener un aspecto opaco y relativamente uniforme, indicativo de alta concentración espermática, las muestras traslúcidas contienen pocos espermatozoides, la muestra debe estar libre de pelos, suciedad y otros contaminantes (Hafez, 2000). El aspecto de semen de llama es viscoso y gelatinoso hecho que no permite diluir con dilutores comunes como en los ovinos (Medina, 2002). Pérez (2000), sostiene que, la observación de la viscosidad del semen es subjetiva clasificándose (+++) altamente viscoso, (++) viscoso y (+) ligeramente viscoso, esta condición que presenta el semen de llama se considera como una barrera de dilución. Garnica (1998) señala que, el semen de la llama que obtuvo fue viscoso a la edad de 3 y 6 años, viscosidad que depende de las secreciones producidas por las glándulas bulbouretrales. La medición del aspecto se realiza con la ayuda de una pipeta Pasteur, considerando los tiempos de caída de las primeras gotas absorbidas con anterioridad en la pipeta (Bravo, 2003). En cuanto al aspecto de semen en llamas,



se obtuvo un 42% de viscosidad alta, 33% de viscosidad media y 25% de viscosidad baja (Fernández, 2001).

**2.2.3.5 Concentración.** Es la determinación precisa del número de espermatozoides por mililitro de semen que es una característica muy variable de este (Hafez, 1996). En alpacas bulbouretrectomizados la concentración espermática promedio fue de 1'578,800 Epz/ml (Paricahua, 2001). Hafez (1996) menciona que, la concentración espermática en general es la determinación exacta del número de espermatozoides por mililitro de semen, es en extremo importante, en virtud de tratarse de una característica seminal muy variable, cuando se combina con el volumen eyaculado, esta cantidad de espermatozoides determina cuantas hembras pueden ser inseminadas con el número óptimo de células espermáticas. El método para medir la concentración espermática es mediante hemocitómetro. La concentración espermática promedio para llamas de 3, 4 y 5 años de edad es de 46'562,500 espermatozoides/ml (Fernández, 2001).

**2.2.3.6 Motilidad.** Es la capacidad de moverse, característica que tiene el espermatozoide por ser una célula especializada bien diseñada para un solo objetivo; la fecundación del óvulo, los espermatozoides son expulsados por un aparato propulsor, el flagelo equipado por proteínas contráctiles estratégicamente dispuestos en organelos longitudinales, las fibras gruesas y con subfílamientos asociados y microtúbulos para aportar la fuerza necesaria a fin de superar la resistencia estructural interna y el arrastre viscoso de los líquidos 16 extracelulares, el flagelo propaga ondas sinuosas o aproximadamente sinusoidales repetidas en una secuencia coordinada por las fibras gruesas, alternando ciclos de contracción y relajación (Hafez, 1996).

En camélidos (llamas y alpacas), no se observa una motilidad masal debido a la baja concentración espermática, por tanto, la motilidad es poco vigorosa, debido a que el plasma seminal es muy viscoso, el movimiento de los espermatozoides es lento, de esta manera las limitaciones de motilidad varían de pobre a regular observados en portaobjetos cubierto con una lámina cubreobjeto

y se considera una motilidad oscilatoria (Achata, 1989). La evaluación de motilidad individual se realiza mediante una estimación del porcentaje de espermatozoides que se encuentran activos en la muestra; la escala va de 0 a 5 y de 0 a 80% (Sumar, 1997). Usando 2 llamas, se obtuvo una motilidad 75 a 95% con semen diluido con yema de huevo (20%) fue de tipo oscilatorio inicialmente, antes de someter a congelación la motilidad fue hacia delante (Bravo *et al.*, 1997). La motilidad espermática del semen obtenido por vagina artificial es baja, correspondiendo a la calificación de regular (57.29%) con movimientos oscilatorios en el mismo lugar (Sumar, 1997). En cuanto a la motilidad espermática para llamas de 3, 4 y 5 años edad se obtuvo un promedio de 32.5 % (Fernández, 2001).

**2.2.3.7 Vitalidad.** La proporción de espermatozoides vivos puede calcularse por tinción supravital con una mezcla de colorantes como eosina-nigrosina, (Hafez, 1996). La tasa de espermatozoides vivos para llamas fue de  $70.04 \pm 25.99\%$  con valores que varían desde 10 a 95 %, sin diferencias significativas para el factor semana y edad. El método utilizado para la observación de la vitalidad espermática fue de tinción simple con eosina- nigrosina (Fernández, 2001). Bravo (2003) señala que, obtuvo en copulas cuya duración fue de 0 a 5 minutos un 16% de espermatozoides vivos, de 6 a 15 minutos 30.3% de espermatozoides vivos de 16 a 20 minutos 59.30% de espermatozoides vivos y en copulas cuya duración sobrepasó los 20 minutos, el porcentaje de espermatozoides vivos fue de 80.5. El porcentaje promedio de vitalidad espermática en alpacas bulbouretrectomizados fue de  $94.25 \pm 3.42\%$  (Paricahua, 2001).

## **2.2.4 Colección y características del semen de camélidos**

La colección de semen en CSA, ha pasado por muchas etapas debido a los sistemas usados, las técnicas incluyen: fundas vaginales, esponjas vaginales, electroeyaculación,

fístula uretral, vagina artificial, y últimamente la colección de semen post copula de la región vaginal y los éxitos de estas técnicas son variados, pero cada una tiene ventajas y desventajas, sin embargo, la técnica que es más promisoriosa y está siendo aplicada es la vagina artificial. La colección de semen debe ser en material limpio y seco, la presencia de agua en la funda de la vagina artificial es dañina a los 18 espermatozoides, y se deberá mantener la temperatura de la vagina artificial a 38°C durante la copula (Bravo, 2003).

Los CSA presentan características muy peculiares en cuanto a la realización de la monta, razón por la cual desde la década de los 50 se han realizado numerosos ensayos utilizando diversos métodos de colecta, como esponjas vaginales, electroeyaculación, vagina artificial colocada dentro de un maniquí, fístula uretral y fundas vaginales, obteniéndose buenos resultados mediante vagina artificial (Medina, 2002). Gracias a las anteriores técnicas fue perfeccionado el método de colección de semen, utilizando llamas vivas, más un maniquí de grupa acoplada en la parte posterior de la llama, que permitió la mejor aceptación del macho, teniendo éxito también en la colección de semen, (Fernández, 2001). Las llamas tienen la característica de depositar semen alternadamente en ambos cuernos uterinos, con movimientos semirrotatorios del pene y múltiples oscilaciones pélvicas (Pérez, 2000). Los machos al año de edad muestran interés por las hembras en celo, esto hace suponer que los machos estén en edad de pubertad, sin embargo, es dudoso que en esas condiciones puedan culminar con el servicio, por cuanto a esa edad es frecuente la adherencia del pene al prepucio (Fernandez Baca, 1971). La edad propicia para la reproducción en los machos es a partir de los tres años hasta los siete años, excepcionalmente hasta los nueve años, después, solo sirven de estorbo (Calle, 1982).

Un estudio realizado por Villanueva *et al.* (2018), en la costa peruana demostraron el efecto de la época del año (verano o invierno) sobre diferentes características del semen de alpacas. Evaluaron: filancia, motilidad, concentración, vivos y espermatozoides normales entre ambas épocas (cuadro 2). Como conclusión del estudio sugirieron que el desarrollo de futuros estudios para analizar el semen de alpacas sea realizado en invierno.

**Cuadro 2.** Variables macroscópicas y microscópicas del semen de alpaca en época de verano e invierno (promedio  $\pm$  desviación estándar)

<b>Variable</b>	<b>Verano</b>	<b>Invierno</b>	<b>Total</b>
<b>Volumen, ml</b>	1.9 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 0.8
<b>Filancia, cm</b>	5.9 $\pm$ 3.4 <sup>a</sup>	3.7 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>	4.8 $\pm$ 3.0
<b>pH</b>	7.01 $\pm$ 0.29	7.1 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.3
<b>Motilidad, %</b>	58.0 $\pm$ 22.1 <sup>a</sup>	77.3 $\pm$ 11.6 <sup>b</sup>	67.6 $\pm$ 20.0
<b>Concentración, x 10<sup>6</sup>/ml</b>	135.9 $\pm$ 88.7 <sup>a</sup>	242.4 $\pm$ 140.9 <sup>b</sup>	189.2 $\pm$ 128.1
<b>Espermatozoides vivos %</b>	52.9 $\pm$ 18.4 <sup>a</sup>	64.5 $\pm$ 15.9 <sup>b</sup>	58.7 $\pm$ 18.0
<b>Host+, %</b>	56.15 $\pm$ 15.8	49.3 $\pm$ 13.2	52.7 $\pm$ 14.8
<b>Espermatozoides normales, %</b>	82.6 $\pm$ 7.2 <sup>a</sup>	88.1 $\pm$ 7.0 <sup>b</sup>	85.3 $\pm$ 7.6
<b>Anormalidades en cola, %</b>	7.55 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>	4.7 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>	6.1 $\pm$ 4.7
<b>Anormalidades en cabeza, %</b>	3.5 $\pm$ 3.6	2.8 $\pm$ 4.2	3.1 $\pm$ 3.6
<b>Gota citopl. Proximal, %</b>	1.7 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	3.2 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 2.2
<b>Gota citopl. Distal, %</b>	4.8 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	1.2 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>	3.0 $\pm$ 4.1

<sup>a,b</sup> Superíndice diferentes indican diferencias significativas (p<0.05)

Fuente: Villanueva *et al.*, 2018

## **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Lugar de estudio**

El presente estudio se llevó a cabo entre junio a diciembre en la Sección de Biotecnología Reproductiva, Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), ubicado en el distrito de San Borja, provincia de Lima, departamento de Lima.

### **3.2 Animales y muestras.**

Se utilizaron cinco alpacas machos de la raza Huacaya, con un rango de edad entre seis a ocho años, con un peso promedio de 56.1 kg y una condición corporal promedio de 2.6 (Rango 1: muy delgado – 5: muy obeso) (Fysh, 2003). Los animales fueron mantenidos bajo las mismas condiciones de manejo, alimentados en base a heno de alfalfa y agua *ad-libitum*. Fueron alojados en las instalaciones adyacentes al laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la FMV de la UNMSM.

El procedimiento de la toma de muestra de semen fue realizada a la misma hora (08:00 – 09:00h) y con los animales en ayunas. La colección de semen se realizó utilizando una vagina artificial de ovinos modificada, con una frecuencia de colección a intervalos de 5 días, durante 45 días. Se obtuvieron un total de 48 eyaculados procedentes de cinco (5) alpacas machos de la raza Huacaya. Se consideró un tiempo máximo de colección de 10 minutos para evitar variaciones en los tiempos de colección entre animales.

### **3.3 Metodología**

#### **3.3.1 Procedimientos previos a la colección**

Previo a la colección se procedió a sujetar a la alpaca hembra, utilizada como maniquí, cubriendo su cabeza para limitar el campo visual. Igualmente se procedió a preparar

los materiales requeridos para la colección, calentando la vagina artificial y el tubo colector.

### **332 Colección de semen**

Para la colección de semen se empleó una vagina artificial modificada, según Bravo *et al.* (1997), basado en un tubo de policloruro de vinilo (PVC) con dimensiones de 20 cm de largo por 4 cm de diámetro. Se agregó agua caliente para mantener la vagina entre 42 y 44°C y una adecuada presión. La vagina artificial fue cubierta con una frazadilla eléctrica con el propósito de mantener una temperatura constante. La frecuencia de colección del semen fue cada 5 días y el tiempo de cópula establecido fue de 10 minutos.

### **333 Evaluación de semen**

La evaluación del semen se realizó en el laboratorio de reproducción inmediatamente después de colecta de la muestra. Se colocó el tubo de colección en baño María a 37°C mientras se realizaba la evaluación macroscópica del semen en fresco.

#### ***3.3.3.1 Evaluación macroscópica***

- a) **Volumen.** Se determinó midiendo el volumen total del semen colectado en un tubo tipo Falcon graduado.
- b) **Color.** La evaluación del color se realizó de manera subjetiva, considerando un rango de variaciones entre: claro, cristalino a blanco lechoso.
- c) **Filancia.** Se realizó extrayendo 20µl de semen fresco con una micropipeta y colocando 10µl aproximadamente en una lámina portaobjeto. La pipeta fue levantada lentamente mientras se forma un hilo de semen hasta que el hilo se rompa. Se mide con una regla la distancia entre la lámina y la pipeta, al momento que el hilo se rompe.

#### ***3.3.3.2 Evaluación microscópica***

- a) **Motilidad.** Se realizó mediante una evaluación subjetiva con una muestra

de 10 µl colocada en una lámina portaobjeto a temperatura de 35°C y se colocó un cubreobjeto y mediante el uso de un microscopio con un objetivo de 40X, fue posible realizar el conteo de los espermatozoides motiles del total de espermatozoides visualizados en 10 campos.

- b) **Concentración espermática.** Se utilizó la cámara de Neubauer, con una dilución de 1:10 (0.1ml de la muestra y 0.9ml de PBS 1X), dejando sedimentar por 5 minutos y se realizó el recuento de los 5 cuadrantes, con la ayuda de un microscopio con un objetivo de 40X. El volumen ocupado por los 5 cuadros contados, multiplicado por el factor de dilución (10) y el factor de la cámara (10 000) dio la concentración espermática por µl (Evangelista, 2015).
- c) **Integridad funcional de membrana (test hipoosmótico - host).** Se evaluó la vitalidad de los espermatozoides en base a la integridad funcional de la membrana. Para ello, se colocó 25 µl de semen en 500µl de solución hipoosmótica y se incubó por 30 minutos a 37°C. Posteriormente se evaluaron 100 espermatozoides sobre una lámina portaobjetos en un microscopio con un objetivo de 40X, clasificándose en espermatozoides con membrana funcionalmente íntegra y espermatozoides con membrana dañada, los que presentarán la cola hinchada y los que no presentan esta característica, respectivamente (Terrerros *et al.*, 2015).

### 3.4 Diseño Experimental u Observacional

Los animales utilizados en ambos grupos experimentales fueron los mismos, los tratamientos fueron los siguientes:

- T0 (Control): 5 alpacas alimentadas con heno de alfalfa *ad libitum* y sin maca (**pre-tratamiento**)
- T1 (Tratamiento): 5 alpacas alimentadas con heno de alfalfa + 150 gramos de maca/día (**post-tratamiento**)

Se realizó la colección del semen de los 5 animales que venían recibiendo la dieta promedio 2.0 Kg/animal/día de heno de alfalfa y que representan las muestras incluidas en el Tratamiento 0. Posteriormente y luego de un periodo de descanso (15 días), estas mismas alpacas recibieron una dieta de heno de alfalfa + 150 gramos de maca/día (Tratamiento 1) con la maca durante 45 días, para posteriormente volver a colectar semen luego de este periodo. Se evaluaron las características seminales del semen de los animales durante ambos periodos.

### **3.5 Análisis de la información**

Los datos se colectaron en hojas de cálculo de Microsoft Excel. Luego fueron ordenados y depurados. Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico STATA (v. 14.0) para PC (Stata Corporation, College Station, TX). Los datos son presentados como la media  $\pm$  desviación estándar. Se utilizó la prueba de “*t* de student” para muestras pareadas para determinar las diferencias de las características seminales entre los animales pre-tratamiento y post-tratamiento. Se estableció un  $p < 0.05$  como nivel de significancia.



#### IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la cuadro 3 se presentan los datos del efecto de la maca sobre el semen de alpacas alimentadas con una dieta a base de heno de alfalfa (T0) y alimentadas con heno de alfalfa + 150 g de maca (T1). Se evaluaron las siguientes características: volumen, filancia, motilidad, host +, host-. Los datos pre-tratamiento y pos-tratamiento de cada una de las variables se encuentran en los anexos I – II.

**Cuadro 3.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas alimentadas con una dieta a base de heno de alfalfa (T0) y alimentadas con heno de alfalfa + 150 g de maca (T1)

Variable	T0	T1	T
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	
Volumen, ml	1.26 ± 0.52	1.93 ± 1.18	ns
Filancia, cm	2.76 ± 1.48	2.87 ± 1.73	ns
Motilidad, %	34.13 ± 25.58	49.63 ± 23.70	ns
Concentración, x10 <sup>6</sup> /ml	182.17 ± 82.28	300.27 ± 129.51	<b>0.0416</b>
Vivos (%)	63.88	66.65	ns
Host (+), %	52.41 ± 11.15	49.96 ± 12.97	ns

En base a los resultados del estudio, no se observa un efecto positivo, estadísticamente significativa, de la administración de 150g/día de maca (T1) sobre las variables: volumen, filancia, motilidad % vivos y Host (+) en el semen

de alpacas. Se observó que solo hubo diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ) en la concentración de espermatozoides. Con la administración de 150g de maca (T1) la concentración de espermatozoides se incrementó en un 65 % respecto a la concentración inicial (T0). Esto podría indicar que la maca ejerce un efecto positivo sobre la concentración de espermatozoides. Sin embargo, no se puede asegurar que esto podría mejorar la capacidad fecundante de los espermatozoides porque no se ha registrado mejoras en las otras variables. Los parámetros analizados en el presente trabajo no fueron todos los que se requieren, debido al poco volumen de semen que se puede coleccionar en esta especie

La **filancia** tampoco se vio afectada por la adición de 150g de maca (T1) en la dieta de alpacas machos. Sin embargo, se manifiesta un ligero incremento de esta característica. Esta característica es considerada muchas veces negativa en esta especie, debido a que dificulta la evaluación y por ello se han realizado diversos estudios para la disminución o eliminación, como el uso de medios físicos, enzimas. La filancia no varía por efecto de la estación del año, como lo demostraron Villanueva *et al.* (2018), tal vez porque sería una de las características más estables. Sería esta una razón por la cual no hubo efecto de la maca.

La **motilidad** no varió estadísticamente, más numéricamente se observa la tendencia a un incremento de esta variable por efecto de la adición de maca (T1) a la dieta de alpacas machos. Posiblemente el efecto de la maca mejora la motilidad proporcionando una mayor cantidad de metabolitos pero no ha podido ser demostrado en este estudio.

El Host (+) no varió significativamente, sin embargo, tiene una muy leve tendencia a disminuir que posiblemente se relacione con la tendencia a un incremento de la motilidad. Ore (2008) demostró tanto *in vitro* como *in vivo* que el extracto acuoso de la harina de maca

amarilla tiene una mejor capacidad antioxidante que el extracto etanólico, atribuyen esta capacidad a la presencia de fenoles y flavonoides.

En cuanto al **volumen** de semen de alpacas que se colectó, este fue bastante escaso, característico de esta especie. Los datos obtenidos de esta variable se encuentran dentro del rango reportado por otros autores bajo las mismas condiciones. Villanueva *et al.*, 2018, quienes reportan valores promedio de 1.9 ml de muestras de semen en alpacas. Sin embargo, en este experimento no se encontró diferencia estadística significativa, aun cuando se observa un ligero aumento del volumen en las muestras cuando no reciben maca (T0). En un estudio realizado por Bravo y Alarcon (2015), quienes evaluaron el efecto de dos suplementos nutritivos en alpacas hembras y machos, no hubo efecto sobre el volumen de semen, datos que concuerdan con este estudio.

La **concentración** es la única variable que se diferencia significativamente por el efecto de la adición de maca en la dieta (T1), llegando a mejorar con un incremento del 65%. Este incremento de la concentración puede sustentarse en trabajos realizados en ratones donde se reporta que existe un incremento de la espermatogénesis y que posiblemente se produce también en las alpacas. Bravo y Alarcon (2015) también observaron diferencia en la concentración de espermatozoides, resultando en un incremento en la concentración de espermatozoides por efecto de los suplementos nutritivos (Preñatec y Catosal). Sin embargo, el recuento de espermatozoides en el epidídimo y conducto deferente de ratas alimentadas por 84 días con maca se incrementó (Gasco *et al.*, 2007), posiblemente explicada por el mayor periodo de alimentación con la maca.

Muchos estudios han informado que la maca puede aumentar la producción diaria de espermatozoides, el conteo de espermatozoides del epidídimo o el conteo de espermatozoides del conducto deferentes en ratas sanas (González *et al.*, 2001) y en ratas con trastornos de espermatogénesis inducidos experimentalmente (Gonzales *et al.*, 2004; Bustos-Obregon *et al.*, 2005; Rubio *et al.*, 2006). Gonzales *et al.*, 2001 y González *et al.*, 2003 observaron, en ratas macho, que le administraron oralmente un extracto acuoso y extracto etanólico de maca durante 21 días mejoró la espermatogénesis en mitosis espermatogonial que actúa en sus etapas iniciales (IX-XIV) y aumenta el peso de los testículos y epidídimo. Los mismos efectos se reportaron en hombres normales sanos tratados durante 4 meses sin afectar los niveles séricos de testosterona y estradiol (Gonzales *et al.*, 2001). Gonzales *et al.* (2006) demostraron que la maca negra era el único fenotipo que aumentó la producción diaria de espermatozoides así como la motilidad de los espermatozoides epididimarios después de 42 días de tratamiento.

Gasco *et al.* (2007) realizó un estudio en tres variedades de maca para evaluar los efectos crónicos (84 días de tratamiento) en la producción diaria de espermatozoides, recuento de espermatozoides en epididimario, en el conducto deferente y niveles totales de ADN en testículos de ratas macho. Los resultados confirmaron que la maca amarilla y negra mejoraron el recuento de espermatozoides epididimario. Los tres ecotipos aumentaron el recuento de espermatozoides en el conducto deferente sin afectar la producción diaria de espermatozoides. Los niveles de ADN testicular no fueron afectados por el tratamiento de ninguna de las tres variedades. González (2012) informó que la maca negra aumentó el recuento de espermatozoides epididimario a los 3 días después del tratamiento. Específicamente, el incremento de las etapas de espermiación. (VII- VIII), mitosis de células germinales (IX-XI), producción diaria de espermatozoides y recuento de espermatozoides epididimarios, sin afectar los niveles de testosterona, hormona luteinizante

(LH) y hormona folículo estimulante (FSH).

En los toros, la suplementación de alimentos con maca durante 20 semanas no tuvo un efecto directo sobre peso corporal, circunferencia de los testículos, temperatura rectal, comportamiento de apareamiento y eyaculación volumen; sin embargo, mejoró la cantidad de espermatozoides, la calidad y el índice de fragmentación del ADN (Clement *et al.*, 2010). Además, podemos mencionar que no se observaron cambios marcados en las características del semen de alpacas alimentadas con 150g maca/día, debido tal vez a la dosis insuficiente en esta especie, ya que no se contaba con datos previos o debido a un tiempo de administración muy corto.

Avelar *et al.*, (2016) evaluaron el efecto de la maca en ovinos machos y hembras, concluyeron que la suplementación afectó a ovinos machos de manera diferente acorde a su capacidad sexual original, ya que solo incrementó el olfateo genital y los empujones a hembras. Mientras que las eyaculaciones y monta no se vieron afectadas. Atribuyen esta mejora a los alcaloides de la maca, macamidas, isotiocinatos, glucosinolatos y esteroides, quienes serían los responsables también del incremento de la tasa de ovulación de los ovinos hembras, ya que podrían ser un potenciador de la fertilidad. Estos metabolitos podrían actuar como un excelente nutriente y activador del eje hipotálamo-hipófisis, trayendo como consecuencia un incremento de las concentraciones de GnRH, FSH y LH, logrando que ovulen un mayor número de ovocitos y disminuyendo la atresia de estos y durante la fase folicular.

Además, se debe tener en cuenta que las alpacas son fermentadores pregástricos, por

ende, cualquier alimento que ingrese a el compartimento 1 pasará por el proceso de degradación por parte de los microorganismos que habitan esta cuba de fermentación. Si se tiene en cuenta que los estudios previos realizados en ratas y seres humanos, especies que no realizan una fermentación pregástricas, se obtienen resultados más prometedores, tal vez porque los componentes bioactivos de la maca no sufren la degradación como si pasa en las alpacas. Este es un factor muy importante que se debe tener en cuenta. Tal vez alimentar a los animales con una dosis diferente, se podrían evidenciar mejores resultados.

#### **4 CONCLUSIONES**

Según las condiciones de este experimento se puede concluir que:

- La concentración de espermatozoides en semen alpacas se incrementó por efecto de la suplementación con 150g de maca (*Lepidium meyenii*) por día en la dieta de alpacas machos
- No existe efecto sobre el volumen, la filancia, la motilidad y host (+) del semen de alpacas suplementadas con 150g de maca (*Lepiduum meyenii*) por día en la dieta de alpacas machos.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Utilización de maca negra, extracto acuoso o etanólico.
- Incrementar el tiempo de experimentación.
- Tratar de utilizar otra vía de administración que no sea la digestiva, para que no se destruya por efecto de la microbiota bacteriana.

## VII. LITERATURA CITADA

1. **Aba MA. 1998.** Hormonal interrelationships in reproduction of female llamas and alpacas. [doctoral Thesis]. Uppsala, Sweden: Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences. p. 33.
2. **Alvarado J, Astrom G. 1966.** GBS Heath. An investigation into remedies of Sarna (sarcoptic mange) of alpacas in Peru. *Expl Agric.* 2:245-254.
3. **Bravo W, Alarcon V. 2015.** La influencia de suplementos nutritivos en la calidad de semen y fertilidad de la alpaca..*Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, [S.l.], v. 17, n. 3, p. 453-456, dec. 2015. ISSN 2313-2957. Disponible en: <http://huajsapata.unap.edu.pe/ria/index.php/ria/article/view/163>>. Fecha de acceso: 22 Jul. 2019 doi:<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2015.163>.
4. **Cardoso A. 1984.** Producción de camélidos en Bolivia. USAID, Bolivia. 53 pp. (mimeografiado).
5. **Castañeda B, Loja B, Puebla P, Gamarra F, Alvarado A, Muños A, Enriques Y, Ybañez L. 2010.** Estudio botánico y fotoquímico de las hojas secas de maca de la meseta de Bombón-Junín, Perú. *Revista Horizonte médico* Vol. 10(1): 13-22
6. **Chung F, Rubio J, Gonzales C, Gasco M, Gonzales GF. 2005.** Dose-response effects of *Lepidium meyenii* (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rats. *J Ethnopharmacol.* 2005;98(1-2):143-7
7. **Cicero AF, Bandieri E, Arletti R. 2001.** *Lepidium meyenii* Walp. Improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *J Ethnopharmacol.* 2001;75(2-3):225-9.
8. **Cicero AF, Piacente S, Plaza A, Sala E, Arletti R, Pizza C. 2002.** Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts. *Andrologia.* 2002;34(3):177-
9. Cieza de León P: 1553. Chronicle of Peru. First Part. London: Hakluyt Society;
10. **Cobo B. 1956.** History of the New World. Madrid: Biblioteca de Autores Españoles.
11. **De Carolis, G. 1987.** Descripción del sistema ganadero y hábitos alimentarios de camélidos domésticos y ovinos en el bofedal de Parinacota. Tesis Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales. Universidad de Chile, Santiago. 291



pp.

12. **Bravo PW, Pacheco C, Quispe G, Vilcapaza L, Ordoñez C. 1999.** Degelification of alpaca semen and the effect of dilution rates on artificial insemination outcome.. Arch Androl. 1999 Nov-Dec; 43(3): 239–246.
13. **Fernández-Baca S. 1971.** La alpaca, reproducción y crianza. Lima. Ministerio de Agricultura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. Boletín de Divulgación N° 7, 43 pp.
14. **Fysh G. 2003.** Australian Alpaca. Australian Alpaca Association, Mitcham North, Victoria, Australia.
15. **Garcia W, Pezo D, San Martín F, Olazábal J, Franco F. 2005.** Manual del técnico alpaquero, Lima-Perú. 2005; p. 23-26.
16. **Gasco M, Aguilar J, Gonzales GF. 2007.** Effect of chronic treatment with three varieties of *Lepidium meyenii* (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats. Andrologia. 2007;39(4):151-8.
17. **Gonzales C, Rubio J, Gasco M, Nieto J, Yucra S, Gonzales GF. 2006.** Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats. J Ethnopharmacol. 2006;103(3):448-54.
18. **Gonzales GF, Córdova A, Vega K, Chung A, Villena A, Góñez C. 2002.** Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men. Andrología. 2002;34(6):367-72.
19. **Gonzales GF, Gonzales C, Gonzales-Castañeda C. 2009.** *Lepidium meyenii* (Maca): a Plant from the Highlands of Peru – from tradition to science. Res Complem Med.; 16(6):373-80. doi: 10.1159/000264618.
20. **Gonzales GF, Miranda S, Nieto J, Fernandez G, Yucra S, Rubio J. 2005.** Red Maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats. Reprod Biol Endocrinol.;3(1):5
21. **Gonzales GF, Ruiz A, Gonzales C, Villegas L, Cordova A. 2001.** Effect of *Lepidium meyenii* (maca) roots on spermatogenesis of male rats. Asian J Androl. 2001; 3(3):231-3.
22. **Gonzales GF, Rubio J, Chung A, Gasco M, Villegas L. 2003.** Effect of alcoholic extract of *Lepidium meyenii* (Maca) on testicular function in male rats. Asian J

- Androl. 2003;5(4):349-52.
23. **Gonzales GF. 2006.** Maca de la Tradición a la Ciencia. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia;
  24. **Gonzales GF. 2012.** Ethnobiology and ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a plant from the Peruvian Highlands. Evid. Based Compl. Alt. Med. 2012, , 1–10. [CrossRef]
  25. **Gorakh Mal, Sumant Vyas, Alagiri Srinivasan, Nitin Vasant Rao Patil, Krishan Murari Lal Pathak. 2016** Studies on Liquefaction Time and Proteins Involved in the Improvement of Seminal Characteristics in Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*): 4659358. Published online 2016 Feb 18. doi: 10.1155/2016/4659358. PMID: PMC4775800
  26. **Hafez E. 1996.** Reproducción e Inseminación Artificial en Rumiantes, 6ª ed. en castellano. Edit. McGraw-Hill; 1996; p 300-330.
  27. **Hochereau-de Reviers MT, Locatelli AC, Pisselet C, Setchell BP. 1993.** Effects of a single brief period of moderate heating of the testes on seminiferous tubules in hypophysectomized rams treated with pituitary extract. J Reprod Fert. 1993; 97: 381-387. ppl):1461-7.
  28. **Hoffman E. 2003.** The complete alpaca book. Bonny Doon Press, Santa Cruz, California; 2003.
  29. **Lentz A, Gravitt K, Carson CC, Marson L. 2007.** Acute and chronic dosing of *Lepidium meyenii* (Maca) on male rat sexual behavior. J Sex Med. 2007; 4(2):332-9.
  22. Clément C, Kneubühler J, Urwyler A, Witschi U, Kreuzer M. Effect of maca supplementation on bovine sperm quantity and quality followed over two spermatogenic cycles. Theriogenology. 2010;74(2):173-83.
  30. **Ore R. 2008.** Efectos hipolipémico y antioxidante de *Lepidium meyenii* Walp en ratas. Tesis para optar el grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. 104p.
  31. **Oshima M, Gu Y, Tsukada S. 2003.** Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17 beta, progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. J. Vet. Med. Sci. 2003, 65, 1145–1146.

[CrossRef]

32. **Reiner R y Bryant F. 1983.** A different sort of sheep. *Rangelands*, 5(3): 106-108.
33. **Shin BC, Lee MS, Yang FJ, Lim HS, Ernst E. 2010.** Maca (*L. meyenii*) for improving sexual function: a systematic review. *BMC Complement Alter Med.* 2010;10:44. doi:10.1186/1472-688210-44.
34. **Skidmore L. 2000.** Anatomía del tracto reproductivo en camélidos. En: *Recent advances in camelid reproduction.* 2000. Ithaca, New York: IVIS. [Internet], [20 diciembre 2011]. Disponible en: [http://www.ivis.org/advances/Camel\\_Skidmore/hassanein/ivis.pdf](http://www.ivis.org/advances/Camel_Skidmore/hassanein/ivis.pdf).
35. **Stone M, Ibarra A, Roller M, Zangara A, Stevenson E. 2009.** A pilot investigation into the effect of maca supplementation on physical activity and sexual desire in sportsmen. *J Ethnopharmacol.* 2009;126(3):574-6.
36. **Sumar J. 1979.** Fisiología de la reproducción en la alpaca. En: *Curso internacional de producción de camélidos.* Cuzco, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. Centro Nacional de Camélidos, La Raya. pp. 39-50.
37. **Tello J, Hermann M, Calderón A. 1992.** La maca (*Lepidium meyenii Walp.*) cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. *Bol Lima.*; 14:59-66.
38. **Valentova K, Buckiova D, Kren V, Peknicova J, Ulrichova J, Simanek V. 2006.** The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. *Cell Biol. Toxicol.* 2006, 22, 91–99.
39. **Wood RI, Foster DL. 1992.** Prenatal androgens and the timing of seasonal reproductions transitions in sheep. *Biol Reprod.* 1992; 47: 389-396.
40. **Yucra S, Gasco M, Rubio J, Nieto J, Gonzales GF. 2008.** Effect of different fractions from hydroalcoholic extract of Black Maca (*Lepidium meyenii*) on testicular function in adult male rats. *Fertil Steril.* 2008;89.
41. **Zenico T, Cicero AF, Valmorri L, Mercuriali M, Bercovich E. 2009.** Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomised, double-blind clinical trial. *Andrologia.* 2009;41(2):95-9.
42. **Zheng BL, He K, Kim CH, Rogers L, Yu S, Huang ZY. 2000.** Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology.*

2000;55(4):598-602.

43. **Zenico T, Cicero AFG, Valmorri L, Mercuriali M, Bercovich E. 2009.** Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomised, double-blind clinical trial. *Andrologia*. 41(2):95–99.
44. **Clément C, Kneubuhler J, Urwler A, Witschi U, Kreuzer M. 2010.** Effect of Maca supplementation on bovine sperm quantity and quality followed over two spermatogenic cycles. *Theriogenology*. 74:173–183.
45. **Terreros M, Huanca W, Arriaga I, Ampuero A. 2015.** Efecto de tres crioprotectores en la criopreservación de espermatozoides epididimarios de alpaca. *Rev Inv Vet Perú* 26(3): 420-426.
46. **Garnica J, Achata R, Bravo PW. 1993.** Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim Reprod Sci* 32:85.
47. **Evangelista O. 2015.** Caracterización morfométrica de los espermatozoides en alpacas macho (*Vicugna pacos*) de fertilidad comprobada. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en Zoología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú; 75 pp.
48. **Bravo W, Flores U, Garnica J, Ordoñez C. 1997.** Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology* 47:619-626.
49. **Achata R. 1989.** Concentración de algunos componentes del plasma seminal de alpacas. Tesis de la FMVZ-UNA. Puno, Perú.
50. **Ball R y Setchell B. 1983.** The passage of espermatozoa to regional lymph nodes in testicular lymph following vasectomy in rams and bours *Reproduction Fétil*. 68- 145.
51. **Bravo W. 2003.** Inseminación Artificial. *Memorias del III Congreso Mundial Sobre Camélidos*. Potosí, Bolivia. CALLE, R. 1982. Producción y mejoramiento de la alpaca. Fondo del libro Banco Agrario del Perú. Lima, Perú.
52. **Bravo W, Ordoñez C, Alarcon V. 1997.** Processing and freezing of semen of alpacas and llamas. UNSAAC. Cusco, Perú.
53. **Fernández R. 2001.** Efecto de edad y periodicidad de colección sobre las características macro y microscópicas del semen de llamas. Tesis de Grado, Ingeniería Zootécnica. Unidad Académica Campesina de Tiahuanaco. Universidad Católica Boliviana San Pablo.

54. **Mc Donald L. 1981.** Reproducción y Endocrinología Veterinaria Editorial. Interamericana. 2da. Edición. México.
55. **Medina G. 2002.** Asignatura, Producción de Llamas. Unidad Académica Campesina de Tiahuanaco. Universidad Católica Boliviana San Pablo.
56. **Osorio E y San Martín M. 1966.** Aspectos histológicos del epidídimo, conducto deferente y glándulas sexuales accesorias del aparato reproductor masculino de la alpaca. Arch. Instituto de Biología Andina. Vol. I
57. **Paricahua E. 2001.** Evaluación del eyaculado sin la secreción de las glándulas anexas en alpacas (*Lama pacos*). Tesis, UNA-Puno, Perú.
58. **Pérez G. 2000.** Avances de inseminación artificial en camélidos, compendio. Puno Perú.
59. **Sumar J. 1984.** Mejoramiento de la fisiología reproductiva en los camélidos domésticos alpaca y llama. I Seminario Internacional de camélidos Sudamericanos. Arica Chile.
60. **Von Baer C y Helleman. 1998.** Semen variable in llama (*Lama glama*) Arch. Med.Vet.Pp. 171-176
61. **Villanueva JC, Huanca WF, Hilari F, Uchuari M, Rodríguez F, Huanca W. 2019.** Efecto de la estación sobre las características seminales de alpacas (*Vicugna pacos*) criadas a nivel del mar. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2018 Abr [citado 2019 Dic 11] ; 29( 2 ): 559-564. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172018000200019&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000200019&lng=es). <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14483>.
62. **Troedsson MHT, Desvousges A, Alghamdi AS, Dahms B, Dow CA, Hayna J, Valesco R. 2005.** Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. Anim Reprod Sci 89: 171-186. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.07.005
63. **FAO]. 1996.** Manual de prácticas de manejo de alpacas y llamas. Roma: FAO. 107 p.
64. **Fernandez-Baca S. 1991.** Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 429 p.
65. **Obregón L, Rentería IM y Rentaría EP. 2006.** Maca. Planta de los Incas, maravilla de la ciencia. Instituto de Fitoterapia Americano 1ª Edic. 2006. 153 pp.

# APÉNDICE

ANEXO I:

**Cuadro A 1.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas antes de ser alimentadas con un suplemento de maca (*Lepidium meyenii*)

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
<b>Volumen (ml)</b>	5	1.26	0.52	0.5	1.83
<b>Filancia (mm)</b>	5	2.76	1.48	1.42	4.58
<b>Motilidad</b>	5	34.13	25.58	10	75
<b>Concentración</b>	5	182.17	82.28	146.5	217.83
<b>Vivos %</b>	5	63.88		42.67	70.17
<b>Host negativo</b>	5	52.41	11.15	29.83	57.67

ANEXO II:

**Cuadro A 2.** Características macroscópicas y microscópicas del semen de alpacas alimentadas con un suplemento de maca (*Lepidium meyenii*)

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
<b>Volumen</b>	5	1.93	1.18	0.55	3.78
<b>Filancia</b>	5	2.87	1.73	1	4.9
<b>motilidad</b>	5	49.63	23.70	10	75
<b>Concentración</b>	5	300.27	129.51	160	495.6
<b>Vivos %</b>	5	66.65		32	65
<b>hostnegativo</b>	5	49.96	12.97	35	57