

PRODUCCIÓN DE SEMEN DE LLAMA BAJO DOS FRECUENCIAS DE COLECTA EN PRIMAVERA

Ferré,¹ L., Malik¹ T., G., Nigro², H., Aller³, J. y Alberio³, R. 1996. Rev. Arg. de Prod. Animal, 16(4):367-373.

1.- Fac. Cs. Exactas, Físicas y Nat., Univ.Nac.Córdoba, Av.Vélez Sársfield 299 (5000) Córdoba, Argentina.

2.- Docente Facultad Cs. Veterinarias, Universidad Nac. La Plata, Argentina.

3.- INTA, Depto. Prod.Animal, EEA Balcarce, CC 276 (7620) Balcarce, Bs.As., Argentina.

Este trabajo es parte de la Tesis de Grado desarrollada por el primer autor como requisito para obtener el Título de Biólogo en la Universidad Nacional de Córdoba.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Reproducción camélidos](#)

RESUMEN

Con el objetivo de realizar algunas determinaciones sobre el patrón de producción de semen de los Camélidos Sudamericanos y la forma en que la frecuencia de colecta afecta a los mismos, se partió de un grupo de 6 machos de llama a los que se entrenó para la colecta con vagina artificial. Se seleccionaron 4 machos que aceptaron en forma rápida (3-4 semanas) la colecta de semen mediante una vagina artificial termoeléctrica (VAte) y una bolsa colectora de polietileno. Fueron evaluadas dos frecuencias de colecta, una y tres veces por semana, las cuales fueron ejecutadas en períodos de tres semanas cada una durante la primavera. En cada oportunidad, la colecta se realizó utilizando una hembra receptiva como súcubo y tuvo una duración máxima de 20 minutos. Los eyaculados presentaron en todas las ocasiones un aspecto "espumoso". Las variables registradas fueron: pH (papel indicador, 5.5-9), motilidad (contaje de espermatozoides-EZ- móviles entre porta y cubreobjetos), viabilidad (contaje de EZ sin coloración por eosina 0,5%), concentración por ml (recuento en cámara de conteo de Makler), volumen (medición en tubo de colecta), cantidad total de EZ/eyaculado, producción espermática semanal y morfología (coloración con hematoxilina-verde brillante). Los resultados obtenidos para una y tres colectas fueron: pH = $7,7 \pm 0,2$ y $7,6 \pm 0,2$ ($p > 0,05$); motilidad (%) = 28,3 y 22,8 ($p > 0,05$); viabilidad (%) = 66,5 y 53,7 ($p < 0,051$); concentración ($\times 106$ EZ/ml) = $39,1 \pm 33,0$ y $30,6 \pm 36,0$ ($p > 0,05$); volumen (ml) = $3,6 \pm 1,2$ y $3,7 \pm 1,8$ ($p > 0,05$); cantidad total de EZ/eyaculado ($\times 106$ EZ) = $132,7 \pm 130,5$ y $94,6 \pm 90,8$ ($p > 0,05$); producción espermática ($\times 106$ EZ/semana) = $132,7 \pm 130,5$ y $283,7 \pm 159,4$ ($p < 0,05$) y morfología (% de EZ normales) = 65,7 y 65,1 ($p > 0,05$). Los rangos obtenidos de motilidad, viabilidad, volumen y concentración fueron respectivamente: 5-70, 35-81, 0,75-9,25 y 0-154. La frecuencia de colecta de tres veces por semana marcó un aumento significativo del 114% de EZ totales/semana, 105,4% de EZ mótils totales/semana y 73% de EZ vivos totales/semana; con respecto a la frecuencia de una vez por semana. Se concluye que la frecuencia máxima de colecta elegida en éste trabajo resultó ser la mejor y podría ser utilizada sin inconvenientes en un programa regular de producción de semen en llamas.

Palabras clave: semen, primavera, llama.

INTRODUCCIÓN

Alrededor de 300.000 familias en el altiplano de Perú, Bolivia, Chile y Argentina subsisten de la cría de Camélidos Sudamericanos Domésticos (CSD), donde la llama sigue siendo utilizada como animal de carga y junto con la alpaca, la única proteína animal disponible para los habitantes de la "puna". Los CSD son animales multipropósito, su recurso más importante es sin duda la fibra de excelente aceptación en el mercado textil internacional; a esto se le suma la carne de alto valor nutritivo, pieles y cueros con múltiples usos industriales y artesanales, estiércol utilizado como fertilizante y/o combustible, animal de carga sobre todo la llama, comercialización de animales en pie y como animal de compañía ("pets") (Fernández-Baca, 1993 y 1994).

El conocimiento de la biología reproductiva de los CSD en muchos aspectos es insuficiente. La fisiología reproductiva del macho, en particular, carece de estudios básicos. Existe muy poca información sobre las características del semen, metodologías de evaluación, colecta y conservación del semen; esto se debe a la falta de una metodología confiable y reproducible de recolección de semen (Fowler, 1989; Aba, 1995; Del Campo, Del Campo, Adams y Mapletoft, 1995; Gauly y Leidinger, 1995). Debido a que la cópula es extremadamente larga y la forma en que el macho realiza la monta la recolección de semen es dificultosa (Fernández-Baca y Calderón, 1966; Fernández-Baca, 1993; Garnica, Achata y Bravo, 1993; Johnson, 1994).

Los objetivos del presente trabajo fueron desarrollar una metodología apropiada de colecta de semen, validar las determinaciones de evaluación de semen de rutina, el uso de hembra receptiva o maniquí y determinar si las características cuali-cuantitativas del semen varían entre las dos frecuencias de colecta.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales:

Se utilizaron 4 machos adultos de alta libido de distintas edades (3-6 años) pertenecientes al Plantel experimental de la Unidad Integrada Balcarce.

2. Mitología de recolección:

Antes de comenzar el experimento se validó la utilización de una hembra receptiva o un maniquí y se seleccionaron los machos para el experimento. Luego de éste período se procedió a la recolección de semen mediante una vagina artificial termoeléctrica (VAte) a una temperatura de 37-38°C (Ferré y Werkmeister, 1995) dentro de la cual se incluyó una bolsa colectora de polietileno (Urquieta, Paolicchi, Ferré y Malik T., 1995). La recolección de semen se llevó a cabo mediante una hembra receptiva con una duración máxima de 20 minutos. Frecuencia de recolección: durante tres semanas se colectó semen 3 (tres) veces por semana, luego se dió una semana de descanso para todos los machos y posteriormente se colectó 1 (una) vez por semana durante tres semanas durante la estación de primavera. Finalizada la recolección los eyaculados fueron colocados en una estufa de cultivo (37-38°C) e inmediatamente después comenzó su procesamiento.

3. Metodología de evaluación de semen:

Las variables que se registraron fueron: pH (mediante papel indicador); motilidad (determinada subjetivamente en %); viabilidad (eosina 0,5% en fresco); concentración de espermatozoides (EZ) por ml, por eyaculado y por semana (mediante cámara de Makler); volumen (determinado por un tubo graduado) y morfología (tinción: hematoxilina de Harris-verde brillante). Estas variables fueron validadas antes de comenzar el experimento, realizando de cada eyaculado cuatro repeticiones de cada una de las variables. El criterio para categorizar las anomalías fueron: macro-cabezas, micro-cabezas, cabezas sueltas y dobles, cabezas amorfas (incluye los defectos: tapering, piriforme y cabeza esférica), cuello y pieza intermedia, gota citoplasmática proximal y distal y defectos de cola (incluye: colas dobladas, quebradas, dobles y enrolladas).

4. Metodología de evaluación estadística:

Se utilizó un programa de computación para realizar la comparación de medias entre las distintas frecuencias (SAS, 1986).

RESULTADOS

Del total de colectas, se tuvo éxito en el 100% y el 51% de ellas duraron 20 minutos, 22%, entre 15 y 20 minutos, 22%, entre 10 y 15 minutos y 5%, menos de 10 minutos. La evaluación de los eyaculados comenzó después de 10 minutos de finalizada la colecta. El aspecto de los eyaculados dentro de la bolsa de polietileno fue siempre espumoso. El Cuadro 1 resume los resultados obtenidos.

Cuadro 1: Producción de semen de llama bajo dos frecuencias de colecta ($x \pm d.e.$ y rango).

Variables	1 vez por semana		3 veces por semana	
pH	7,7	$\pm 0,2$	7,6	$\pm 0,2$
Motilidad (%)	28,3	$\pm 23,2$ (5-70)	22,8	$\pm 18,0$ (5-70)
Viabilidad (%)	66,5 \pm	10,0a (52-81)	53,7	$\pm 9,2b$ (35-69)
Volumen (ml)	3,7 \pm	1,2 (0,75-4,7)	3,7	$\pm 1,8$ (1,7-9,2)
Concentración ¹	39,1	$\pm 33,0$ (3,3-82)	30,6	$\pm 36,0$ (0-154)
EZ/eyaculado ²	132,7	$\pm 130,5$	94,6	$\pm 90,8$
EZ/semana ²	132,7	$\pm 130,5a$	283,7	$\pm 159,4b$
EZ Móviles/eyaculado ²	38,7	$\pm 42,4$	26,5	$\pm 42,3$
EZ Vivos/eyaculado ²	89,3	$\pm 83,3$	51,6	$\pm 51,5$
EZ Móviles/semana ²	38,7	$\pm 42,4$	79,5	$\pm 80,0$
EZ Vivos/semana ²	89,3	$\pm 83,3$	154,8	$\pm 93,4$
1: ($\times 10^6$ EZ/ml); 2: ($\times 10^6$ EZ); ab: ($p < 0,06$).				

Uno de los machos utilizados orinó en la mayoría de las extracciones (58% de las veces). Los datos obtenidos de éste animal no están presentes en el Cuadro 1. De las extracciones que no orinó éstos son sus resultados, de acuerdo a la frecuencia de una o tres veces por semana ($x \pm d.e.$): pH= 8,0 \pm 0 y 7,7 \pm 0,6; motilidad (%)= 7,5 \pm 3,5

y $2,5 \pm 3,5$; viabilidad (%) = $73,5 \pm 12,0$ y $39,5 \pm 43,0$; concentración ($\times 10^6$ EZ/ml) = $2,4 \pm 2,1$ y $0,9 \pm 1,2$ y volumen (ml) = $1,9 \pm 2,0$ y $0,8 \pm 0,8$; respectivamente.

El Cuadro 2 muestra la morfología espermática observada en cada una de las colectas de semen.

Cuadro 2: Morfología espermática de llama bajo dos frecuencias de colecta: una y tres veces por semana; promedio (%) \pm d.e.

	1 vez por semana		3 veces por semana	
Normales	65,7	$\pm 8,6$	65,1	$\pm 10,5$
Macro cabezas	1,2	$\pm 2,7$	0,2	$\pm 0,5$
Micro cabezas	5,3	$\pm 4,8$	6,5	$\pm 4,0$
Cabezas sueltas	8,3	$\pm 8,3$	7,3	$\pm 6,6$
Cabezas dobles	0,9	$\pm 1,1$	0,8	$\pm 1,2$
Cabezas amorfas	2,1	$\pm 1,8a$	0,8	$\pm 1,1b$
Cuello y pieza 1/2	0,2	$\pm 0,6$	0,6	$\pm 0,8$
Gota cito. prox. •	1,8	$\pm 2,3$	1,6	$\pm 0,8$
Gota cito. distar. †	1,5	$\pm 1,6$	1,2	$\pm 1,6$
Defectos de cola	13,0	$\pm 9,0$	15,9	$\pm 10,1$

•: Gota citoplasmática proximal; †: Gota citoplasmática distal; ab: (p < 0,05).

DISCUSIÓN

La colecta de semen mediante VAt e y una hembra receptiva como súcubo, resultó una metodología apropiada y repetible para la recolección de semen de llama. De acuerdo con lo expresado por Watson (1978), el uso de la hembra receptiva ayudó a incrementar la libido de los machos y vencer la inhibición asociada con la presencia del hombre. A los machos con poca libido e inexpertos no fue posible hasta el momento su extracción de semen.

El macho que orinó dentro de la bolsa de polietileno durante la colecta de semen, si bien era inexperto y joven, tenía alta libido; la aproximación, monta, búsqueda de la VAt e, penetración y movimientos pélvicos fueron normales no así la eyaculación o emisión. La temperatura óptima de la VAt e para dicho animal fue siempre un poco mayor al comienzo de la colecta ($40-45^{\circ}\text{C}$ aproximadamente), para luego disminuirla una vez introducido totalmente el pene dentro de la VAt e.

La apariencia espumosa observada en todos los eyaculados podría deberse al continuo movimiento del pene en sentido cráneo-caudal y con rotación simultánea.

Con respecto a la evaluación del semen, los valores de pH mostraron conformidad con los informes previos (Fernández-Baca y Calderón, 1966; Kubiceck, 1974) como así también con los obtenidos en camellos (Tingari, El-Menne, Rahim, Ahmed y Hamad, 1986; Ismail, 1988; EL-Naggar y Rath, 1990). La motilidad observada fue mayor que la encontrada en la bibliografía. Según Sumar (1985) y Garnica y otros (1993) la motilidad espermática podría verse afectada por la alta viscosidad del semen. La viabilidad espermática no ha sido informada para los CSD, en tanto que nuestros resultados coinciden con los observados en camellos (Tingari y otros, 1986; Ismail, 1988; EL-Naggar y Rath, 1990). En un reciente estudio (Urquieta y otros, 1995) se demostró que la camisa de latex de la vagina artificial es tóxica para los espermatozoides de llama. Este hecho también fue observado para los camellos dromedarios y toros (Flick y Merilan, 1988; Salhad y Merilan, 1989; Sieme, Merkt, Musa, Badreldin, y Willmen, 1990; Smith y Merilan, 1991). La camisa de latex no solo afectaría la viabilidad, sino también el resto de las variables, al dificultarse la toma de las muestras. En cuanto al volumen, cabe notar el tiempo efectivo de colecta de semen, el cual no ha sido similar en toda la bibliografía disponible sobre el tema; del tiempo total de recolección dependerá el volumen final alcanzado. En nuestro trabajo la restricción de coleccionar durante 20 minutos fue tomada a priori, teniendo en cuenta que nuestro objetivo era determinar qué frecuencia es la más conveniente y para ello se tomó un tiempo según la bibliografía. Las diferencias en la morfología espermática presente en Cuadro 2 respecto a la bibliografía se pueden deber, principalmente, al criterio adoptado para determinar anomalías espermáticas, al método utilizado para la colecta de semen, a la técnica de tinción, etc. Mogrovejo (1952) y Palomino (1962) usaron fundas vaginales, las cuales interfieren con la monta, la prolongan por encima del tiempo normal y contaminan la muestra (Sumar, 1991). Un estudio reciente señala un 90.6% de espermatozoides normales pero no especifica el criterio utilizado para categorizar las anomalías espermáticas (Gaully y Leidinger, 1995).

La frecuencia de colecta de tres veces por semana disminuyó la viabilidad y aumentó los EZ/semana (p < 0,05) en un 114%, 105,4% en los EZ Mótiles/semana (p > 0,05) y un 73% en los EZVivos/semana (p > 0,05) comparado con la frecuencia de 1 vez por semana.

Estos resultados indican que el uso de machos de alta libido y dos o más hembras receptoras facilita la tarea de colecta, desde el entrenamiento hasta la colecta propiamente dicha. Es recomendable el uso de animales mansos o

acostumbrados a la presencia humana, ya que facilita las tareas de recolección. El mantenimiento de la temperatura de la VA a 37-38°C durante la recolección es importante, teniendo en cuenta la temperatura de la vagina de la hembra, en concordancia con lo expresado por Urquieta y otros (1995). Las técnicas utilizadas para la evaluación del semen resultaron apropiadas, sencillas y repetibles. Se concluye que la frecuencia de 3 veces por semana podría utilizarse en un programa regular de colecta de semen de llama.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la FAO TCP/ARG/2354. Los dos primeros autores agradecen al Grupo de Reproducción Animal del INTA Balcarce por su asistencia técnica.

BIBLIOGRAFÍA

- ABA, M.A. 1995. Studies on the reproductive endocrinology of llamas and alpacas. From mating throughout early pregnancy. MSc Thesis. Swedish Univ. of Agr. Sci., Uppsala, Sweden.
- DEL CAMPO, M.R., DEL CAMPO, C.H., ADAMS, G.P. y MAPLETOFT, R.J. 1995. The application of new reproductive technologies to South American Camelids. *Theriogenology* 43, 21-30.
- EL-NAGGAR, M.A. y RATH, D. 1990. Chapter 1: Anatomy and physiology of reproduction. In: Merkt, H.; Rath, D.; Musa, B. and El-Naggar, M.A. (eds) *Reproduction in camels. A review*. FAO. 1-10.
- FERNANDEZ-BACA, S. y CALDERON, W. 1966. Métodos de colección de semen de la alpaca. *Rev. Fac. Med. Vet., Univ. N.M.S. Marcos*; vol. 18-19-20, 13-26.
- . 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 307-323.
- . 1994. Genetic erosion on Camelidae. *Animal Genetic Resources Information*, FAO/UNEP 14, 97-105.
- FERRE, L.B. y WERKMEISTER, A. 1995. Desarrollo de una vagina artificial termoeléctrica para la colecta de semen en camélidos. *Taller Camélidos Sudamericanos*. FAO-INTA.
- FLICK, D.L. y MERILAN, C.P. 1988. Toxicity of artificial vagina liners for bovine spermatozoa. *Theriogenology* 29: 1207-1213.
- FOWLER, M.E. 1989. Reproduction. In: *Medicine and Surgery of South American Camelids*. Llama, alpaca, vicuña, guanaco. Iowa State University Press/Ames. page: 304.
- GARNICA, J., ACHATA, R. y BRAVO, P.W. 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim. Reprod. Sci.* 32: 85-90.
- GAULY, M. y LEIDINGER, H. 1995. Characteristic volume distribution and hypoosmotic sensibility of spermatozoa of Lama glama and Lama guanicoe. 2nd European Symposium of South American Camelids, Camerino, Italy. 245-249.
- ISMAIL, S.T. 1988. Reproduction in the male dromedary (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology* 29: 1407-1418.
- JOHNSON, L.R., W. 1994. Male Reproductive Tract. In: *Llamas 1994 Herd Sire Edition*; 8:4, 22-24.
- KUBICECK, Von J. 1974. Samenentnahme beim Alpaka durch eine Harnrohrenfistel. *Z. Tierzuchtg. Zuchtgsbiol.* 90: 335-351.
- MOGROVEJO, D. 1952. Estudios del semen de la alpaca. Tesis de Bachiller, Fac. Med. Vet., Univ. N.M.S. Marcos, Lima, Perú.
- PALOMINO, H. 1962. Espermograma y dimensiones de los espermatozoides de la alpaca. Tesis de Bachiller, Fac. Med. Vet., Univ. N.M.S. Marcos, Lima, Perú.
- SALHAD, S.A. y MERILAN, C.P. 1989. Effect of liner composition cooling profile and time of glycerolization on survival of bovine spermatozoa. *Theriogenology* 31: 623-630.
- REV.ARG.PROD.ANIM. VOL 16 N° 4:373
- SAS. 1986. SAS User's Guide: Statistics. SAS inst. Inc., Cary, NC.
- SIEME, H., MERKT, H., MUSA, B., BADRELDIN, H. y WILLMEN, T. 1990. Liquid and deep freeze preservation of carrel semen using different extenders and methods. *Proc. of the Workshop "Is it possible to improve the Reproductive performance of the Camel"*. París, 273-283.
- SMITH, J.F. y MERILAN, C.P. 1991. Liner collection cone and pH effects on postthaw motility, staining and acrosomes of bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 74: 1310-1313.
- SUMAR, J. 1985. Reproductive physiology in South American Camelids. In: Land, R.B.; Robinson, D.W. (Eds). *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths, London; pages: 81-95.
1991. Fisiología de la Reproducción del Macho y Manejo Reproductivo. En: *Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sud Americanos*. Fernández-Baca, S. (Ed). FAO, Santiago, Chile. Cap. IV, 113-148.
- TINGARI, M.D., EL-MANNA, M.M., RAHIM, A.T.A., AHMED, A.K. y HAMAD, M.H. 1986. Studies on camel semen. I. Electroejaculation and some aspects of semen characteristics. *Anim. Reprod. Sci.* 12: 213-222.
- URQUIETA, B., PAOLICCHI, F., FERRE, L.B. y MALIK DE TCHARA, G. 1995. Colecta de semen en llamas con vainas de caucho o plástico. *Taller Camélidos Sudamericanos*. FAO-INTA.
- WATSON, P.F. 1978. A review of techniques of semen collection in mammals. *Symp. zool. Soc. Lond.* 43: 97-126.

[Volver a: Reproducción camélidos](#)