

INSEMINACION ARTIFICIAL EN LLAMAS (LAMA GLAMA). PRIMERA COMUNICACIÓN EN ARGENTINA

J. F. Aller*; L. Ferré**; G. Rebuffi*** y R. H. Alberio*. 1997. Vet. Arg. 14(136):394-400.

*INTA Estación Experimental Balcarce, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

*Becario de Iniciación, Comisión de Inv. Científicas (CIC) (Prov. Bs. Aires).

*INTA Campo Experimental de Altura Abra Pampa, Jujuy, Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Reproducción camélidos](#)

RESUMEN

La inseminación artificial (IA) es una técnica reproductiva utilizada para el mejoramiento genético animal que no ha sido todavía desarrollada completamente en los camélidos sudamericanos. Los objetivos del presente trabajo fueron: evaluar un tratamiento con GnRH para inducción de la ovulación e implementar un programa reproductivo de IA en llamas. En 108 hembras adultas se realizaron ecografías ováricas cada 2-3 días para determinar la presencia de folículos en crecimiento y detectar aquéllas con capacidad de ovular. Un total de 60 hembras con folículo ≥ 7 mm fueron inducidas a ovular e inseminadas con semen fresco puro o diluido con TRIS-ác. cítrico-fructosa a 37° C. La IA se realizó a diferentes intervalos por GnRH: 24, 24 y 48 (doble IA) y 48 hs. La dosis promedio de IA fue de 28,9 x 10' espermatozoides totales. Se utilizó un Lote Control (n=24) con servicio natural. Las tasas de ovulación y preñez para las hembras inseminadas y Lote Control fueron: 80, 24,5 y 91,6, 62,5 %, respectivamente. No se encontraron diferencias ($P > 0,05$) en la tasa de preñez con semen puro (31,5%) y diluido (20%). La mayor tasa de preñez (40%) fue obtenida con la IA a las 24 hs pos inducción de la ovulación (GnRH).

Palabras claves. Llama. Inseminación artificial. GnRH. Inducción de ovulación.

INTRODUCCION

La inseminación artificial (IA) es una herramienta reproductiva ampliamente utilizada en diversas especies domésticas que permite el uso extensivo de machos con aptitud genética superior. Escasos trabajos de IA en Camélidos Sudamericanos domésticos (CSD) han sido publicados hasta el presente, debido quizás a la falta de una metodología simple y confiable de extracción de semen y a las pobres características cuali-cuantitativas que presenta el semen de estas especies. Diferentes métodos de extracción de semen han sido experimentados hasta el momento, como ser, fundas vaginales¹⁶, electroeyaculación^{10,12} esponjas intravaginales¹⁶, maniquí equipado con vagina artificial^{15,19} o el uso de hembra receptivas.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- evaluar el tratamiento con un análogo de GnRH (hormona liberadora de gonadotrofinas) para inducir la ovulación.
- llevar a cabo un programa de IA en un gran número de hembras utilizando semen fresco (puro o diluido) y evaluar la fertilidad de los servicios.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo se realizó en el Campo Experimental de Altura del INTA Abra Pampa (Prov. de Jujuy, Argentina) ubicado en el depto. de Cochinoca a una altitud de 3.484 m.s.n.m. en los meses de Febrero y Marzo de 1997. Esta región presenta un régimen de lluvia de 300-400 mm anuales en temporada estival y el resto del año no se registran precipitaciones. Las temperaturas varían entre -20°C y 15°C en invierno y entre 5°C y 30°C en verano.

Un total de 108 hembras adultas sin cría al pie fueron utilizadas en dos grupos diferentes. A un grupo de 33 hembras se les colocó un implante (Syncro-Mate-B¹, 6 mg Norgestomet) subcutáneo en la cara externa de la oreja y se inyectó (i.m.) 3 mg de Norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol. Dicho implante permaneció durante 9 días. Se realizaron ecografías cada 3 a 4 días (SonoAce 1500, Medison, Co. LTD.) con un transductor intravaginal de 6,5 MHz para determinar el estado ovárico, desde el séptimo día del implante hasta el décimo día pos retiro del mismo (momento en el cual se indujo la ovulación). A otras 75 hembras se les realizaron ecografías ováricas (cada 2 a 3 días) para detectar aquéllas que presentaron un folículo en crecimiento susceptible de ovular (≥ 7 mm). De esta manera, 60 hembras correspondientes a ambos grupos, que presentaron un folículo ≥ 7 mm fueron tratadas con GnRH 2 (Buserelina, 12 pg, i.m.). La ovulación fue confirmada ecográficamente por la desaparición del folículo 48 hs después de la inducción.

Se utilizó un Lote Control (n=24) con servicio natural (SN), tanto para compararla eficacia del tratamiento con GnRH como la tasa de preñez por IA. El SN se realizó a corral con una relación macho: hembra (1:1) y fue controlada para asegurar que todas las hembras recibieran un servicio.

La colecta de semen se realizó con vagina artificial y con una bolsa colectora de polietileno en su interior. Se utilizó una hembra receptiva como súcubo. Se colectó semen de 10 machos adultos entrenados y seleccionados previamente por motilidad y concentración espermática. Los eyaculados utilizados para IA (n=20) tuvieron un volumen de $1,6 \pm 0,8$ ml, concentración de $79,7 \pm 32 \times 10^6$ espermatozoides/ml y motilidad mínima de 30%.

Las 60 hembras tratadas con GnRH fueron inseminadas utilizando semen puro o diluido con un diluyente compuesto por TRIS-Ac. cítrico-Fructosa a 37°C. La dosis promedio de IA fue de $28,9 \pm 18,7 \times 10^6$ espermatozoides (0,3 a 1 ml) y se inseminó a diferentes intervalos pos GnRH: 24, 24 y 48 (doble IA) y 48 hs.

Se empleó la técnica recto-vaginal con pipeta plástica depositando el semen dentro del cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo ovulatorio. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a los 53 días después de la última inseminación.

El test de Chi cuadrado fue utilizado para testear estadísticamente las diferencias entre porcentajes.

Foto 1.- Folículo preovulatorio de 16 mm



RESULTADOS

El porcentaje de hembras que ovularon con el tratamiento de GnRH (80%) fue similar ($P > 0,05$) al Control (SN = 91,6%) (Tabla 1).

Tabla 1 Número (%) de hembras que ovularon luego de la aplicación de GnRH (12 µg, i.m.)

Tratamiento	N	Número de hembras que ovularon (%)
GnRH	60	48(80)
SN (Lote Control)	24	22 (91,6)
SN = Servicio Natural		

El diagnóstico de gestación por palpación rectal se realizó en 57 hembras de las 60 inseminadas. Las tres hembras sin diagnóstico de preñez habían ovulado.

La tasa de preñez obtenida con semen puro ($7/22 = 31,8\%$) fue similar ($P > 0,05$) a la obtenida con semen diluido ($7/35 = 20\%$). (Tabla 2).

Tabla 2.- Número (%) de hembras preñadas por IA con semen puro y diluido

Tipo de Semen	N° de hembras inseminadas	N° de hembras preñadas (%)
Semen Puro	22	7 (31,8)
Semen diluido	35	7 (20)
Total	57	14 (24,5)

En la Figura 1 se observan las tasas de preñez en los distintos intervalos GnRH-IA con el uso de ambos tipos de semen.

Cuando se consideró el intervalo GnRH-IA, independientemente del tipo de semen utilizado, la mayor tasa de preñez (40%) fue obtenida con una sola IA a las 24 hs por GnRH. Las hembras que recibieron doble IA (24 y 48 hs) presentaron un porcentaje de preñez significativamente inferior ($P < 0,05$) a las que recibieron una sola IA a las 24 hs y con una tendencia a ser menor con respecto a la tasa obtenida con IA a las 48 hs (Tabla 3).

Figura 1. Tasa de preñez según el semen utilizado y el intervalo GnRH - IA

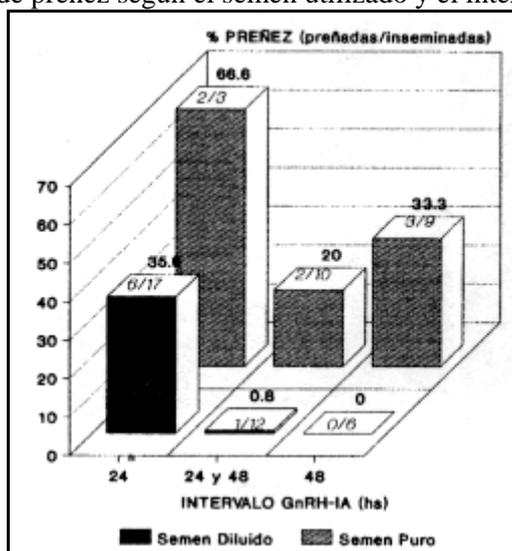


Tabla 3.- Número (%) de hembras preñadas según el intervalo GnRH-IA sobre el total de hembras inseminadas

	Intervalo GnRH - IA (hs)			Total	Servicio natural (control)
	24	24y 48	48		
Preñadas/Inseminadas	8/20	3/22	3/15	14/57	15/24
%	(40) a	(13,6) b	(20,0) ab	(24,5) c	(62,5) d
Porcentajes con letras diferentes en la misma fila difieren significativamente: a, b (P < 0, 05); c, d (P < 0, 005) (Chi cuadrado)					

La tasa promedio de preñez por IA (24,5%) resultó inferior (P < 0,005) a la tasa obtenida con SN (62,5%).

DISCUSION

La ovulación en los CSD y silvestres, es generalmente inducida por la cópula o tratamientos hormonales, ocurriendo aproximadamente a las 27 hs¹, 34 hs⁴ o hasta 48 hs^{2,3} pos inducción. Así como ocurre en otras especies domésticas (gata, coneja), la ovulación en los camélidos sudamericanos es "disparada" por una elevación de hormona luteinizante (LH). Dicha elevación comienza a los 15 minutos de la cópula y alcanza niveles máximos a las 2-3 hs del comienzo de la mismas.

Para llevar a cabo un programa de IA en llamas, es necesario aplicar en las hembras un estímulo externo para inducir la ovulación y posteriormente la fertilización deseada. Varios estímulos han sido estudiados: GnRH, hCG, cópula con macho vasectomizado y sus combinaciones. En general, los estímulos hormonales presentan una eficiencia entre 80-100% de ovulación²⁰, siempre y cuando el folículo preovulatorio se encuentre en etapa de crecimiento y maduración con un tamaño ≥ 6 mm de diámetro⁷. Ante la aplicación de un estímulo ovulatorio, los folículos en regresión no ovulan y son completamente luteinizados⁷. Por lo tanto, en este trabajo se estableció que la hembra que presentara un folículo ≥ 7 mm fuera sometida al estímulo con GnRH e inseminada. El porcentaje de hembras que ovularon con dicho tratamiento (80%) no fue diferente de lo observado por otros autores^{4,6} y es considerado simple y de bajo costo para ser aplicado a un programa de IA.

Muy poca información se encuentra disponible sobre IA en CSD. Entre los obstáculos para llevar a cabo un programa de IA a gran escala, se encuentran la metodología de colecta de semen y las características del mismo (alta viscosidad, baja concentración espermática, baja motilidad). Además, su aparente baja congelabilidad y por lo tanto el uso obligado del semen fresco, podría llevar a la falta de disponibilidad de semen con características aceptables en el momento de la siembra.

La tasa promedio de preñez (preñadas/inseminadas) obtenida en este estudio fue de 24,5%. Fernández-Baca y Novoa (1968)¹³ realizaron uno de los primeros trabajos de IA en alpacas utilizando semen de vicuña y paco-vicuña, obteniendo 2,4% de preñez. En un segundo ensayo de IA interespecífica, se obtuvo 30,8% de natalidad en alpacas y llamas¹⁴. Calderón, Sumar y Franco (1968)¹⁰ determinaron la fertilidad de los servicios por IA en alpacas, observando el porcentaje de huevos fertilizados según diferentes intervalos entre la inducción de la ovulación y la IA. Estos autores concluyeron que la mayor fertilización fue observada cuando la IA se realizó entre 24 y 40 hs. En todos los trabajos anteriores el semen fue colectado por electroeyaculación. Más recientemente, se han realizado ensayos con semen fresco diluido y sin diluir, con resultados alentadores del 40%¹¹ y 45%⁹ de preñez. Pero en este último trabajo, el diagnóstico ecográfico se realizó a los 15 días pos IA.

Posiblemente este porcentaje disminuya a los 60 días de preñez, por la alta pérdida embrionaria que se observa hasta los 30 días de gestación en estas especies¹⁷.

La mayor tasa de preñez obtenida en este ensayo fue cuando la IA se realizó a las 24 hs pos GnRH (8/20 = 40%). En cambio, De la Vega y Pérez (1996)¹¹ obtuvieron la mayor tasa de preñez en IA a las 30 hs por inducción de la ovulación con macho vasectomizado, pero este intervalo no fue testeado en nuestro estudio. Por lo tanto, sería lógico pensar que el mayor éxito se obtendrá inseminando entre 24 y 36 hs pos inducción de la ovulación, esto sería debido a que la misma ocurre aproximadamente a las 34 hs⁴ o al segundo día² del estímulo ovulatorio. Esto estaría indicando que, inseminaciones realizadas más allá de las 30-32 hs podrían llevar a una asincronía entre el tiempo necesario para la capacitación espermática, ovulación y fertilización propiamente dicha. Las hembras que recibieron una doble IA (24 y 48 hs) presentaron una tasa de preñez inferior a las que fueron inseminadas una sola vez (24 hs). Posiblemente el efecto traumático de una segunda siembra seminal intrauterina, produzca microlesiones en el endometrio llevando a pérdidas embrionarias tempranas. Por lo tanto, sería justificable que en la segunda IA se deposite el semen en el cuerpo del útero. En conclusión, el tratamiento con GnRH para inducir la ovulación fue considerado eficiente para ser utilizado en un programa reproductivo de IA y el porcentaje de preñez obtenido fue aceptable, considerando que este es el primer ensayo realizado en condiciones de campo y en un gran número de animales en nuestro país.

Mayor cantidad de trabajos serán necesarios para ajustar la técnica de IA en estas especies y en el futuro poder emplear semen congelado con todas las ventajas que ello implica.

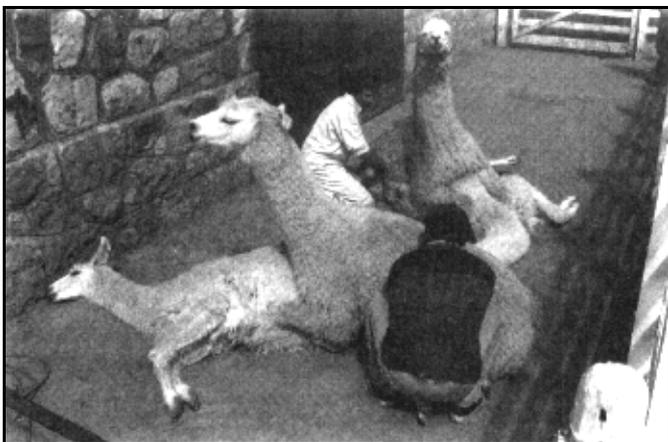


Foto 2.- Colecta de semen con hembra receptiva



Foto 3.- Vagina artificial con bolsa colectora de polietileno



Foto 4.- Método recto-vaginal de IA en llamas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias al subsidio B/ 2514 otorgado al primer autor por la International Foundation for Science (IFS - Suecia).

- 1) Syncro-Mate-8. Sanofi Animal Health.
- 2) Receptal. Laboratorio Hoechst.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAM, C., BOURKE, D., KYLE, C., YOUNG, P. and McEVOY, T.G. Ovulation and embryo recovery in the llama. Proc. 1 st. Int. Ca me; Conf., 125-127, 1993.

2. ADAMS, G. Ovarian function in llamas. Society for Theriogenology. Proc. Annual Meet., San Antonio, TX, August, 202-207, 1992.
3. ADAMS, G. Ultrasonic imaging. What have we learned?. Alpacas. Summer, 46-48.1993.
4. ALBERTO, R. y ALLER, J. Control y sincronización de la onda folicular mediante aplicación de progesterona exógena en llamas. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 16, N° 4, 325-329, 1996.
5. ALLER, J., FERRE, L., REBUFFI, G. y ALBERIO, R. Recolección de semen de llama (*Lama glama*) en la Puna argentina. Vet. Arg. Vol. XIV, N° 132, 104-107, 1997.
6. BRAVO, M., FOWLER, M., STABENFELDT, G. and LASLEY, B. Endocrine responses in the llama to copulation. Theriogenology 33:891-899. 1990.
7. BRAVO, W., STABENFELDT, G., LASLEY, B. and FOWLER, M. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. Biol. Reprod. 45, 553-559. 1991.
8. BRAVO, W., STABENFELDT, G., FOWLER, M. and LASLEY, B. Pituitary response to repeated copulation and/or gonadotropin-releasing hormone administration in Llamas and Alpacas. Biol. Reprod. 47, 884-888. 1992.
9. BRAVO, W., FLORES, U., GARNICA, J. and ORDOÑEZ, C. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Theriogenology 47: 619-626, 1997.
10. CALDERON, W., SUMAR, J. y FRANCO, E. Avances en la inseminación artificial de las alpacas (*Lama pacos*). Rev. Fac. Med. Vet., Lima, Perú, 22:19-35, 1968.
11. DE LA VEGA, D. y PEREZ, G. Efecto de la concentración espermática y la hora de inseminación artificial con semen fresco sobre el porcentaje de gestación en alpacas. 1 er. Congreso Mundial Camélidos Sudamericanos, Cajamarca, Perú, 28 (abstr) 1996.
12. FERNANDEZ-BACA, S. y CALDERON, W. Métodos de colección de semen de alpaca. Rev. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, IVITA, 12 pp. 1965.
13. FERNANDEZ-BACA, S. y NOVOA, C. Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña (*Vicugna vicugna*). Rev. Fac. Med. Vet. Lima, Perú, 22" 9-18, 1968.
14. LEYVA, V., FRANCO, E. y SUMAR, J. Inseminación artificial en camélidos sudamericanos. Mem. I Reunión Cient. Anual de la Asoc. Peruana de Prod. Animal. Lima, Perú, 1977.
15. LICHTENWAINER, A.B., WOODS, G.L. and WEBER, J.A. Seminal collection, seminal characteristics and pattern of ejaculation in llamas. Theriogenology 46: 293-305. 1996.
16. MOGROVEJO, D. Estudios del semen de la alpaca. MV Tesis. Fac. Med. Vet. UNMSM, Lima, Perú, 1952.
17. NOVOA, C. Fisiología de la reproducción de la hembra. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Ed.: Fernández-Baca, S. FAO, Santiago, Chile, 91109, 1991.
18. SAN MARTIN, M., COPAIBA, M., ZUNIGA, J., RODRIGUEZ, R., BUSTINZA, G. y AGOSTA, L. Aspects of reproduction in the alpaca. J. Reprod. Fertil., 16: 395-399. 1968.
19. SUMAR, J. y LEYVA, V. Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca. IV Conv. Int. en Camélidos Sudamericanos, 12 (abstr). 1981.
20. SUMAR, J. Effects of various ovulation induction stimuli, in alpacas and llamas. J. of Arid Environments. 26: 39-45. 1994.

Volver a: [Reproducción camélidos](#)