

APLICACIÓN DE BIOTECNOLOGIAS REPRODUCTIVAS EN ESPECIES DOMÉSTICAS Y SILVESTRES DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS

Huanca , W. L.¹

RESUMEN

Se presentan avances realizados en el desarrollo de protocolos de inseminación artificial, superovulación y transferencia de embriones en camélidos domésticos. Estas alternativas tecnológicas pueden ser útiles en programas de mejoramiento genético en camélidos domésticos y en la conservación e incremento de las poblaciones silvestres.

PALABRAS CLAVE: camélidos, inseminación artificial, transferencia de embriones, superovulación.

SUMMARY

APPLICATION OF REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES IN DOMESTIC AND WILD SPECIES OF SOUTH AMERICAN CAMELIDS

Advances in the development of artificial insemination, superovulation and embryo transfer protocols for domestic camelids are presented. These alternative technologies might be useful for breeding programs in domestic camelids and for conservation and increase of wild populations.

KEY WORDS: camelids, artificial insemination, superovulation, embryo transfer.

INTRODUCCIÓN

La población mundial de camélidos domésticos, alpacas y llamas, y de camélidos silvestres, vicuñas y guanacos, se distribuye entre Perú, Bolivia y en menor grado Argentina y Chile. Sin embargo, países desarrollados como Australia, Nueva Zelanda, EE.UU., Inglaterra y otros de la comunidad Europea han manifestado un creciente interés por la crianza de camélidos domésticos, promoviendo la producción de fibra de alpaca como una alternativa a la producción de lana de ovinos.

Los esquemas de crianza de los camélidos domésticos, alpacas y llamas, en épocas pre-coloniales, consideraban una crianza separada; sin embargo, como resultado de la colonización hispana, el sistema fue alterado contribuyéndose a una disminución del número de animales y a una mezcla de los rebaños, con la consiguiente pérdida de la finura de la fibra de 17 micras a cerca de 30 micras.

Las zonas altoandinas en el Perú, sobre los 3,800 m sobre el nivel del mar, contienen más de 18 millones de hectáreas de pastos naturales, permitiendo el desarrollo de la ganadería de camélidos domésticos y manteniendo las poblaciones silvestres de vicuña, adaptadas a estas difíciles condiciones medioambientales y con claras ventajas desde el punto de vista ecológico (adaptación y forma de pastoreo) y económico.

La aplicación de biotecnologías reproductivas, si bien ha contribuido al mejoramiento genético de especies productivas (vacunos, ovino, caprino, etc.), puede ser utilizada como una herramienta para la conservación de especies en peligro de extinción. En camélidos domésticos, el desarrollo y aplicación de estas biotecnologías pueden ser herramientas alternativas, factibles de ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético y que permitan mejorar la calidad de fibra de una especie doméstica como la alpaca y posiblemente llama. Igualmente, el uso de

¹Laboratorio de Reproducción Animal Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional Mayor de San Marcos Av. Circunvalación Cdra. 29 s/n – San Borja – P.O. Box 03 – 5034, Salamanca, Lima – 3 , PERU E-mail: whuanca@appaperu.org

biotecnologías reproductivas puede ser una alternativa que contribuya al incremento de población y uso racional de los camélidos silvestres.

Los esfuerzos para el desarrollo y aplicación de biotecnologías reproductivas en camélidos no han sido continuos e incluso muchos investigadores han considerado la posibilidad de no aplicar dichas biotecnologías en camélidos, por los pobres resultados obtenidos. El presente trabajo presenta los avances realizados en el desarrollo de protocolos de superovulación y transferencia de embriones realizados en nuestro país, con el propósito de disponer de alternativas tecnológicas que contribuyan a servir como herramientas en los programas de mejoramiento genético en los camélidos domésticos y para la conservación e incremento de la población de camélidos silvestres.

CARACTERÍSTICAS DE LA CRIANZA DE CAMÉLIDOS

La actividad de crianza de camélidos domésticos en el Perú está limitada a la zona altoandina del país, debido a que estos animales son los únicos que han desarrollado una capacidad de adaptación a condiciones ambientales extremas, con la presencia de bajas temperaturas y baja calidad de pasturas, ubicadas a alturas superiores a los 3,800 m sobre el nivel del mar. En estas zonas agroecológicas no es posible el desarrollo de otras actividades económicas como la agricultura y ganadería ovina o bovina, por lo que la crianza de camélidos se presenta como la única alternativa económica para las poblaciones altoandinas del país.

En similares condiciones se mantienen las poblaciones de camélidos silvestres como las vicuñas y en menor número guanaco. En la actualidad, las disposiciones gubernamentales permiten a las comunidades andinas, la obtención de la fibra de vicuña mediante las actividades de captura y esquila realizada anualmente y con supervisión de las entidades del gobierno.

Las características de crianza de los camélidos domésticos fueron modificados durante el proceso de colonización hispánica, restringiéndolos a las zonas altas y desapareciendo los esquemas de manejo implementadas durante la época incaica, contribuyendo a cruzamientos no programados e incluso entre especies diferentes como las alpacas y llamas, originando una reducción de la calidad de fibra. Estas características de crianza se expresan en los bajos índices productivos y reproductivos de los camélidos domésticos.

Los camélidos, domésticos y silvestres, son especies de ovulación inducida, que requieren de estímulo de la cópula para inducir la ovulación, mediante la acción de un

factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal. Además, bajo las condiciones del altiplano presentan estacionalidad reproductiva sustentada básicamente por las variaciones en la disponibilidad alimenticia, lo que determina que exista una época de nacimientos y posterior época de servicios restringida a los meses de Diciembre a Marzo; sin embargo bajo otras condiciones de crianza existe una actividad reproductiva continua.

DESARROLLO DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS

El desarrollo y aplicación de biotecnologías reproductivas implica el conocimiento de la fisiología reproductiva de estas especies. Aun cuando existe información sobre aspectos básicos de fisiología reproductiva, aun existen muchos aspectos que no han sido totalmente estudiados y que con la ayuda de técnicas como la ultrasonografía están contribuyendo a mejorar el conocimiento de las características de estas especies.

Las biotecnologías que se están desarrollando en el país incluyen la Inseminación Artificial, Transferencia de embriones y estudios preliminares sobre Fertilización *in vitro* y criopreservación de gametos.

Inseminación artificial

La inseminación artificial es una de las técnicas que mayor impacto ha tenido en el progreso genético de los vacunos y en menor grado en otras especies. En camélidos, una limitante en el desarrollo de la inseminación artificial es la dificultad para la colección y conservación de semen. El largo periodo de duración y la posición adoptada por la hembra durante la cópula son factores que dificultan el desarrollo de protocolos de colección de semen.

Investigaciones realizadas por investigadores de la Universidad Nacional mayor de San Marcos (IVITA) han demostrado la factibilidad de coleccionar semen con una vagina artificial con características similares a las utilizadas en ovinos. Los estudios realizados en la E.E. Quimsachata (INIA - Puno) nos han permitido validar estas investigaciones y en la actualidad se dispone de un protocolo de colección de semen utilizando una vagina artificial similar a la utilizada en ovinos, colocada internamente en un maniquí o utilizando una hembra receptiva, para la colección del semen. Una alternativa para mantener la temperatura durante el largo periodo de colección fue el uso de una frazadilla eléctrica cubriendo la vagina, lo cual permite mantener una temperatura estable durante la duración de la cópula. El uso de una hembra receptiva para la colección de semen, ha permitido obtener resultados similares, pero con las incomodidades para el personal encargado de la

colección, por la posición que debe adoptar durante el periodo de colección.

El entrenamiento de los machos para colección de semen, por cualquiera de los métodos, requiere un periodo de tiempo mayor a un mes para obtener colecciones de semen en cantidad más o menos constante y de buena calidad, con las características señaladas en el Cuadro 1.

Las experiencias y resultados en Inseminación Artificial, utilizando semen fresco diluido, reporta un porcentaje estimado de preñez del 50.7 %, en base a prueba de fertilidad, con la exposición de la hembra frente al macho. La inducción de ovulación fue realizada con el uso de un análogo de Hormona Liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Huanca, 2001)

Transferencia de embriones

En transferencia de embriones existen, entre otros factores, dos pre requisitos claves para asegurar el éxito de la transferencia de embriones; en primer lugar la inducción de superovulación en los animales donadores y en segundo lugar la preparación de los animales receptores. Los ensayos sobre transferencia de embriones en camélidos en nuestro país y a nivel mundial han sido realizados en base a los protocolos que se utilizan en otras especies y la recuperación de embriones ha sido realizado mediante técnicas quirúrgicas, con las consiguientes reacciones post operatorias en los animales.

Los protocolos de superovulación en diferentes especies domésticas incluyen el uso de tratamientos hormonales a base de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG), Hor-

mona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Menopáusicas Humana (hMG). En vacunos, con el uso de FSH y donde se ha realizado una mayor difusión de la técnica, los resultados son variables con un promedio de 8.5 embriones recuperados por donadora y 5.1 embriones transferibles, con una tasa de preñez cuando se realizó transferencia de embriones frescos, variable entre un rango del 55- 65 % (Gordon, 1996).

Una de las diferencias fundamentales entre los vacunos y camélidos es el tipo de ovulación; los vacunos son especies de ovulación espontánea, mientras que los camélidos son especies de ovulación inducida y en los que bajo condiciones fisiológicas normales no se produce la formación de un cuerpo lúteo, si previamente no hay el estímulo de la cópula.

En camélidos sudamericanos, los reportes sobre protocolos de estimulación ovárica incluyen el uso de eCG, y FSH, con o sin inducción de una fase luteal, con la aplicación de una Gonadotropina Coriónica humana (hCG) para inducir ovulación (Huanta *et al.*, 1999; Agüero *et al.*, 1999). Sin embargo, los protocolos de estimulación ovárica en camélidos sudamericanos han sido aplicados con limitado éxito (Bourke, *et al.*, 1995; Correa *et al.*, 1997). En camellos se reporta tratamientos de estimulación con FSH y eCG, pero se señalan las dificultades en la respuesta ovárica, con una alta incidencia de hembras no receptivas; alta incidencia de folículos luteinizados; y una gran variabilidad en la respuesta ovárica (Skidmore, 2000).

Aún cuando se han realizado estudios sobre la fisiología reproductiva de los camélidos, todavía existen aspectos

Cuadro 1. Características seminales de alpacas y llamas obtenidas mediante vagina artificial (Huanca *et al.*, 2001).

Variable	Llamas	Alpacas
Tiempo de colección	9.3 ± 3.2	19.7 ± 7.9
Viscosidad	1.3 ± 0.8	-----
Volumen	1.8 ± 1.2	1.6 ± 1.3
Concentración	57.3 x 10	69.2 x 10
Motilidad (%)	62.3 ± 36.2	58.4 ± 31.3
pH	7.6 ± 0.4	7.6 ± 0.8

tos poco conocidos o discrepantes, como los conceptos referentes a dinámica folicular. La disponibilidad de técnicas como la ultrasonografía ha contribuido a un mejor conocimiento de los eventos reproductivos, como el desarrollo de protocolos de sincronización de la onda folicular (Ratto *et al.*, 2003) o la confirmación del intervalo entre la aplicación de un estímulo hormonal o monta – ovulación, con un periodo promedio de 30 horas (Huanca *et al.*, 2001).

Otros estudios sugieren que el estadio del desarrollo folicular ovárico al momento del inicio del tratamiento de superovulación, tiene gran influencia sobre la magnitud y variabilidad de la respuesta ovárica en ganado vacuno (Adams, 1999). Estos conocimientos nos han permitido plantear un protocolo de inducción de superovulación en camélidos, con el objetivo de evaluar la respuesta a la estimulación ovárica, mejorar la tasa de recuperación de embriones viables y posteriormente realizar la transferencia mediante técnicas no quirúrgicas.

Un estudio fue realizado con 16 llamas hembras con una edad entre 4 – 6 años y con historia reproductiva de partos anteriores. Se aplicó un análogo de GnRH (0.042 mg de Acetato de Buserelina) para inducir ovulación y sincronizar la onda de crecimiento folicular y 12 días después se realizó una nueva evaluación para determinar presencia de un folículo dominante > 7 mm y aplicar una nueva dosis de un análogo de GnRH (0.042 mg de Acetato de Buserelina). Se evaluó ovulación y al día 3 se inicio el tratamiento de superovulación con 1000 UI de eCG. Posteriormente se aplicó una dosis de prostaglandina (0.150 mg de triprost) el día 6 y los animales fueron servidos con machos intactos al día siguiente. Las receptoras fueron evaluadas con ecografía y a las que presentaron un folículo dominante > 7 mm fueron inducidas a ovulación con análogo de GnRH

(0.042 mg de Acetato de Buserelina), el mismo día que se realizó el servicio de las hembras donadoras.

Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 2. Según se puede observar, se registró una respuesta ovárica superior a la reportada por otros estudios. Estos resultados se pueden sustentar en el protocolo utilizado durante la emergencia de la primera onda folicular, a diferencia de otros protocolos que iniciaron la superovulación durante una fase luteal o en una fase folicular.

La tasa de preñez, el 78.1 % inicial determinada por ecografía es una tasa similar e incluso superior a la reportada en vacunos. Hay que considerar que la transferencia fue realizada con embriones frescos.

Los resultados del presente estudio nos permiten señalar que se obtiene una buena respuesta ovárica, una tasa de recuperación embrionaria de 4.8 embriones y una tasa de preñez del 71.8 % a los 30 días pos transferencia y que puede ser una alternativa a ser considerada en un programa de mejoramiento genético en camélidos domésticos y posiblemente en camélidos silvestres.

Otras biotecnologías

El desarrollo de biotecnologías como la Fertilización In Vitro permitiría se presenta como una interesante alternativa en un programa de mejoramiento genético y de conservación de especies silvestres. Estudios preliminares realizados para evaluar la respuesta ovárica a la estimulación hormonal en hembras prepúberes de 8 meses de edad, nos indican que es posible obtener una respuesta aceptable (Huanca *et al.*, 2003). Estos resultados nos sugieren la posibilidad de utilizar animales de alta calidad genética desde una edad temprana y obtener embriones transferibles a receptoras.

Cuadro 1. Respuesta ovárica a superestimulación en llamas y tasa de preñez obtenida por transferencia de embriones en llamas.

Variable	
N° Folículos	7.5 ± 1.0
N° Cuerpos Lúteos	7.4 ± 1.1
N° embriones	4.8 ± 1.0
Tasa de recuperación embrionaria	61.2 %
Hembras receptoras	32
Tasa de Preñez (Día 20)	78.1 % (25/32)
Tasa de Preñez (Día 30)	71.8 % (23/32)

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, G.P. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl.* 54: Reproduction in Domestic Ruminants IV, 17-32.
- Adams, G.P.; Ratto M., Huanca W. & Singh J. 2005. Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biol Reprod.* 2005 73:452-457.
- Agüero A.; Chávez M.E.; Capdevielle E. & Russo A. 1999. Superovulación en llamas: comparación de dos métodos. II Congreso Mundial de Camélidos –Cuzco pag. 94
- Bourke, D.A.; Kyle, C.E.; McEvoy, T.G.; Young, P. & Adam, C.L. 1995. Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology* 44: 255-268.
- Correa, J.E.; Ratto, M.H. & Gatica, R. 1997. Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and equine Chorionic Gonadotrophin used individually or in combination. *Anim. Reprod. Sci.* 46: 289-296.
- Gordon I. 1997. Reproduction in Horses, Deer and Camelids, Vol. 4. CAB International.
- Huanca, W.; Cárdenas, O., Cordero, A. & Huanca, T. 1999. Respuesta ovárica a gonadotropinas (eCG y hCG) en alpacas durante la época seca. II Congreso Mundial de Reproducción Animal –Cuzco pag. 92.
- Huanca W.; Cárdenas O.; Cordero A. & Huanca T. 2003. Respuesta ovárica a la estimulación hormonal en llamas de 6 y 8 meses de edad. Pag. 428 Resumen de V simposio Internacional de Reproducción Animal – 27 – 29 Junio. IRAC – Córdoba – Argentina.
- Huanca, T. 2001. Experiencia del INIA en la implementación del banco de germoplasma de camélidos domésticos. Pag. 115 -124 Resumen de la XXIV Reunión APPA – 10 – 13 Setiembre, Lima.
- Huanca, W.; Ratto M.; Cordero A.; Santiani A.; Huanca T., & Adams, G.P. 2005. Evaluación de un tratamiento de superovulación en la respuesta ovárica y tasa de preñez en llamas. Resumen XIX Reunión ALPA. TAMPICO 26 – 28 OCTUBRE 2005. MEXICO.
- Ratto, M.H., Singh, J, Huanca, W., Adams, G.P. 2003. Ovarian follicular wave synchronization and fixed-time natural insemination in llamas. *Theriogenology* 60:1645-1656.
- Ratto, M.; Berland, M.; Huanca, W.; Singh J. & Adams G.P. 2005. *In vitro* and *In vivo* maturation of llama oocytes. *Theriogenology* 63: 2445 – 2457.
- Santiani, A.; Huanca, W.; Sapana, R.; Huanca, T.; Sepúlveda, N. & Sanchez R. 2005. Effects on the quality of frozen-thawed alpaca (*Lama pacos*) semen using two different cryoprotectants and extenders. *Asian J. Androl.* 7: 303 – 309.
- Skidmore J.A. 2000. Embryo Transfer in the dromedary camel. IN: Recent advances in Camelid Reproduction .