



Evaluación de parámetros asociados a la calidad seminal en llamas (*Lama glama*) durante los períodos pre- y post-servicio

Guijarro-Castro, R.A.^{1*}; Martínez-Espeche, M.V.¹; Casaretto, C.²; Tonda, S.E.¹; Arzeno, M.T.¹; Barrera, A.D.^{3,4} ; Ábalos, M.C.⁵; Acuña, F.A.⁵

¹Cátedra de Obstetricia y Reproducción, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta. Campus Castañares s/n, Salta (4400), Argentina. ²Laboratorio San Isidro. Latorre 1347, Salta (4400), Argentina. ³Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta. Campus Castañares s/n, Salta (4400), Argentina. ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Centro Científico Tecnológico (CCT) CONICET Salta-Jujuy, Salta (4400), Argentina. ⁵Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Abra Pampa. Ruta Prov. 11 km 17, Abra Pampa (4640), Jujuy, Argentina.

 r.guijarro@ucasal.edu.ar

Resumen

Los camélidos sudamericanos (CSA) han adquirido relevancia global debido a sus características productivas, como las propiedades de su carne y la calidad de su fibra. Sin embargo, aún se desconocen numerosos aspectos de su fisiología reproductiva. La llama (*Lama glama*), una especie de CSA doméstico criada en la región noroeste de Argentina, presenta características seminales únicas, como alta filancia y una notable variabilidad en sus parámetros seminales, los cuales pueden ser influenciados por las condiciones ambientales, nutricionales y sanitarias. El objetivo del presente estudio fue evaluar parámetros asociados a la calidad seminal en llamas dentro de su hábitat natural durante dos períodos: antes y después de la temporada de servicio. Se utilizaron 32 machos en el período pre-servicio (octubre) con un 56,25% de éxito en la aceptación de la vagina artificial (VA), mientras que en el período post-servicio (abril-mayo), se utilizaron 41 machos, obteniéndose un 90,25% de aceptación a la VA durante las colectas ($p < 0,001$). Además, la duración del servicio fue significativamente mayor en el período pre-servicio ($6,33 \pm 1,51$ min) en comparación con el post-servicio ($4,43 \pm 2,27$ min; $p = 0,002$). El volumen de la fracción líquida del eyaculado + espuma también fue mayor en el período pre-servicio ($8,10 \pm 1,90$ mL) respecto al post-servicio ($4,17 \pm 0,38$ mL; $p < 0,001$). En cuanto a la movilidad espermática, se observó una tendencia a una mayor movilidad en el período post-servicio. La funcionalidad de membrana fue superior en el período post-servicio ($32,28 \pm 3,44\%$) frente al pre-servicio ($22,23 \pm 1,71\%$; $p < 0,05$). La morfología espermática mostró un mayor porcentaje de espermatozoides normales en el período pre-servicio ($71,66 \pm 10,10\%$) que en el post-servicio ($48,60 \pm 2,65\%$; $p < 0,001$), con anomalías como cabezas sueltas y alteraciones de cola durante el período post-servicio. Estos resultados proporcionan información relevante para optimizar protocolos de manejo reproductivo y mejorar la productividad de esta especie.

Palabras clave: llama, análisis seminal, calidad seminal, vagina artificial.

Evaluation of parameters associated with seminal quality in llamas (*Lama glama*) during the pre- and post-mating periods

Abstract. South American camelids (SAC) have gained global relevance due to their productive characteristics, such as meat properties and fiber quality. However, many aspects of their reproductive physiology remain unknown. The llama (*Lama glama*), a domesticated SAC species raised in the northwestern region of Argentina, exhibits unique seminal characteristics, including ability to form thread of

variable length and variability in semen parameters, which may be influenced by environmental, nutritional, and health conditions. The aim of this study was to evaluate parameters associated with semen quality in llamas within their natural habitat during two periods: before and after the mating season. A total of 32 males were evaluated during the pre-mating period (October), with a 56.25% success rate in accepting the artificial vagina (AV). In the post-mating period (April-May), 41 males were evaluated, achieving a 90.25% AV acceptance rate during semen collection ($p < 0.001$). Additionally, the duration of copulation was significantly longer in the pre-mating period (6.33 ± 1.51 min) compared to the post-mating period (4.43 ± 2.27 min; $p = 0.002$). The volume of the liquid fraction of the ejaculate plus foam was also higher in the pre-mating period (8.10 ± 1.9 mL) than in the post-mating period (4.17 ± 0.38 mL; $p < 0.001$). Regarding sperm motility, a trend toward higher motility was observed in the post-mating period. Membrane functionality was significantly higher in the post-mating period ($32.28 \pm 3.44\%$) compared to the pre-mating period ($22.23 \pm 1.71\%$; $p < 0.05$). Sperm morphology analysis revealed a higher percentage of normal spermatozoa in the pre-mating period ($71.66 \pm 10.1\%$) compared to the post-mating period ($48.60 \pm 2.65\%$; $p < 0.001$), with abnormalities such as loose heads and tail defects being more prevalent in the post-mating period. These findings provide valuable insights for optimizing reproductive management protocols and improving the productivity of this species.

Key words: llama, seminal analysis, semen quality, artificial vagina.

INTRODUCCIÓN

Las especies domésticas y silvestres de camélidos sudamericanos (CSA) han adquirido en los últimos tiempos una importancia y notoriedad global desde una perspectiva socioeconómica. Esto se debe, en gran medida, a la difusión de sus características productivas, destacándose especialmente las propiedades y calidad de su carne. La carne de los CSA presenta características nutricionales particulares debido a su bajo contenido de grasa, colesterol y ácidos grasos saturados, y su alto contenido de ácidos grasos omega 3 en comparación con la carne vacuna (Polidori et al. 2007, Mamani-Linares y Gallo 2013). Además, la producción de su fibra es altamente valorada en los mercados internacionales por su fina textura (Miragaya et al. 2006, Vilá y Arzamendia 2022). A pesar de la expansión de la explotación de estos animales en diversos ambientes, persiste un vacío de conocimiento en relación a diferentes aspectos de su fisiología reproductiva, conocimiento que resulta crucial para la generación e implementación de biotecnologías reproductivas. Con el propósito de acelerar la propagación de animales genéticamente superiores de la especie *Lama glama* (especie doméstica de los CSA), ha surgido la necesidad particular de desarrollar biotecnologías como la inseminación artificial y otras técnicas de reproducción asistida (Miragaya et al. 2006, Huanca 2012, Carretero et al. 2025a, b). Sin embargo, actualmente, el progreso genético de estos animales se logra principalmente a través del traslado o intercambio de machos reproductores, lo que conlleva riesgos de transmisión de enfermedades y las complicaciones lógicas inherentes al transporte de los animales.

La producción ganadera de camélidos en sitios no tradicionales ha provocado el desarrollo de ciertas patologías específicas asociadas al estrés por manejos incorrectos, que pueden poner en riesgo tanto la supervivencia de los animales como la eficiencia de la producción (Marcoppido y Vila 2013). Aunque existen numerosos estudios reproductivos realizados en CSA en entornos que no se corresponden a su hábitat natural, cabe destacar la importancia que tiene realizar estudios a nivel reproductivo en las condiciones a las cuales estos animales

presentan una perfecta adaptación física. Los CSA tienen su hábitat natural en la región del altiplano andino de América del Sur, con una altitud comprendida entre los 3.000 y 5.000 metros sobre el nivel del mar, extendiéndose desde los 10° de latitud Norte en Perú hasta los 32° de latitud Sur en Argentina (Miranda-de la Lama y Villarroel 2023). Esta región se caracteriza por un clima seco, con fuertes vientos que pueden alcanzar los 100 km/h, una alta incidencia solar ($2200 \text{ kW/m}^2/\text{año}$), y temperaturas frías que pueden descender hasta los $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Matteucci 2012). Además, presenta una gran amplitud térmica entre el día y la noche (de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ a $-11 \text{ }^\circ\text{C}$) y escasa vegetación (Matteucci 2012). Estas condiciones extremas tienen impacto en los parámetros reproductivos de los CSA. Sin embargo, aún existen limitaciones en la comprensión de las posibles variaciones que podrían experimentar parámetros seminales en diferentes períodos reproductivos.

Tanto en machos como en hembras, los CSA presentan particularidades en su fisiología reproductiva que los diferencian de otros rumiantes domésticos (Tibary et al. 2007; Silva et al. 2020). En particular, el eyaculado de llama (*Lama glama*) se caracteriza por presentar alta filancia y viscosidad estructural (Tibary y Vaughan 2006, Casaretto et al. 2012) y características macroscópicas y microscópicas con gran variabilidad individual (Tibary y Vaughan 2006, Giuliano et al. 2008). Se destaca la baja movilidad espermática del semen de esta especie (Brown 2000), y para la obtención de espermatozoides con movilidad progresiva se puede tratar las muestras de semen con una concentración final de colagenasa de $0,2 \text{ mg/ml}$, procedimiento que produce una disminución de la viscosidad estructural y la filancia seminal (Giuliano et al. 2010). Por otra parte, la morfología espermática es un componente importante de la evaluación seminal, y en la mayoría de las especies la reducción del porcentaje de espermatozoides normales se correlaciona con una disminución en la fertilidad (Casey et al. 1997). Específicamente, son escasas las investigaciones acerca de las características seminales en llamas bajo diferentes condiciones ambientales y etapas reproductivas. Esta información resulta fundamental para establecer protocolos de manejo reproductivo de estos animales y la implementación de biotecnologías, como la inseminación artificial con semen fresco y/o criopreservado, así como su

uso para la fecundación *in vitro*, entre otras, con el fin de mejorar la productividad en esta especie.

El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar parámetros asociados a la calidad seminal en llamas (*L. glama*), el camélido sudamericano doméstico más representativo de Argentina (Frank 2005). Para ello, se analizarán variables como el volumen del eyaculado, la movilidad espermática, la funcionalidad de membrana de los espermatozoides y la morfología espermática en muestras seminales de llamas dentro de su hábitat natural en dos períodos específicos: a) Período pre-servicio (octubre), que corresponde a la etapa previa al inicio de la temporada reproductiva; y b) Período post-servicio (abril-mayo), en referencia a la etapa posterior a la temporada de servicio natural de la especie en la región estudiada. Cabe destacar que la temporada de servicio natural en esta región se extiende entre los meses de diciembre y febrero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones éticas del trabajo experimental.

El proceso experimental con los animales fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE) del INTA-Centro Regional Salta-Jujuy (Acta N° 21/21).

Localización del estudio y animales. La obtención de las muestras de semen se realizó utilizando animales que pertenecen a la Estación Experimental Agropecuaria (E.E.A.) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), situada a 17 km de la ciudad de Abra Pampa (22°49'S; 65°47'W), Departamento Cochinoqa, Provincia de Jujuy (Argentina) a 3.480 msnm. Se extrajo semen para su análisis de los reproductores del establecimiento, llamas macho adultos de entre 2 y 9 años de edad, con un peso promedio de 125 kg, sin anormalidades en la inspección en los órganos genitales externos. Los animales permanecieron en su hábitat natural permanentemente, con el manejo rutinario, alimentándose de pastura natural de la zona. En el pre-servicio (luego de pasar el invierno con una mayor escasez de pasturas de calidad) la condición corporal promedio de los machos fue de 2,5 (escala de 1 a 5). En el período post-servicio (momento en el cual los machos se alimentaron con mayor oferta y calidad forrajera) la condición corporal promedio fue de 3,5.

Colecta de las muestras de semen. Las extracciones de semen se llevaron a cabo mediante vagina artificial (VA) modificada (Bravo et al. 1997), utilizando hembras receptoras como súcubo. La VA consta de un tubo de PVC de 20 cm de largo por 4 cm de diámetro, recubierto por una camisa de goma que se dobla sobre los extremos del cilindro formando una cámara. Previo a la colecta, se llenó la cámara con agua caliente (38-40 °C) y aire, para proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión para permitir la eyaculación. Se utilizó, además, una almohadilla térmica para cubrir la VA y así mantener una temperatura constante. El eyaculado fue recogido en una bolsa colectora y se registró el tiempo de duración de la monta.

Se utilizaron 32 machos para el período pre-servicio (octubre) y 41 machos para el período post-servicio (abril-

mayo), siendo diferentes los animales de cada grupo. Se realizó una colecta de semen por cada macho, obteniéndose 18 eyaculados en el período pre-servicio y 37 eyaculados en el período post-servicio, los cuales fueron analizados. Durante la colecta, algunos animales no aceptaron la VA, por lo que no se obtuvieron muestras de ellos.

Es interesante destacar que las temperaturas ambientales en el período en el cual se colectaron las muestras de semen fueron muy variables oscilando la temperatura media entre 20,8 °C y -2,2 °C durante el período pre-servicio y con un rango de 19,2 °C a -9,9 °C durante el período post-servicio, según lo indicó la Estación Meteorológica de la E.E.O. del INTA Abra Pampa.

Evaluación de los parámetros seminales. Para cada eyaculado, se evaluaron los siguientes parámetros macroscópicos y microscópicos: volumen, movilidad individual de los espermatozoides, funcionalidad de membrana de los espermatozoides y morfología espermática. Las muestras azoospermicas fueron descartadas.

El volumen de la fracción líquida del eyaculado y la espuma se midió utilizando un tubo cónico graduado de 15 ml. El porcentaje de movilidad individual (porcentaje de espermatozoides móviles sobre el total) se estimó colocando una gota de semen entre porta y cubreobjetos, sobre platina térmica a 37 °C y observando a 40X con microscopio de contraste de fases. La funcionalidad de membrana de los espermatozoides se evaluó mediante prueba hipoosmótica (Hypo-Osmotic Swelling Test, HOST) según la técnica descrita por Giuliano et al. (2008). Se incubaron 50 µL de semen a 37 °C durante 20 min en 200 µL de solución hipoosmótica-fructosa (2,45 mg mL⁻¹); citrato de sodio (4,5 mg mL⁻¹) ajustado a 50 mOsm. Luego de la incubación, la reacción se detuvo añadiendo 62 µL de solución hipoosmótica de formol (3 µL de formaldehído en 1000 µL de solución hipoosmótica). Se consideraron espermatozoides con membrana funcional aquellos que presentaron hinchamiento (swelling), observado como anormalidades de cola típicas del engrosamiento sufrido al incorporar agua. Se evaluó un mínimo de 200 espermatozoides por muestra mediante un microscopio de contraste de fases (100x) con aceite de inmersión. Para la evaluación de la morfología espermática, se incubaron 50 µL de semen de cada muestra con 50 µL de solución salina formolada. Posteriormente se observó una gota de semen fijado entre porta y cubreobjetos, con microscopio de contraste de fases y objetivo de inmersión (100x). Se observaron 200 espermatozoides por muestra, clasificándolos como normales, cabezas sueltas, cabezas dobles, gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal, pieza intermedia anormal o cola anormal.

Análisis estadístico. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SigmaPlot 12.0 (Systat Software, USA). Se realizó un análisis comparativo de grupos mediante el test *t de Student* para la respuesta a la VA, duración del servicio, movilidad espermática, funcionalidad de membrana y parámetros de morfología espermática o el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para la variable volumen. En el análisis estadístico de los datos se realizó automáticamente la verificación del

supuesto de normalidad a través de la prueba de Shapiro-Wilk y del supuesto de homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Levene. Cuando el test de ANOVA reveló un efecto significativo, se utilizó el test de Tukey para establecer la significancia. En todos los casos, un valor de probabilidad de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Los resultados fueron expresados como media \pm error estándar.

RESULTADOS

Respuesta a la vagina artificial durante la colecta de las muestras seminales. Durante el período pre-servicio

se procedió a realizar un total de 32 extracciones de semen, de las cuales 18 resultaron exitosas, evidenciando una tasa del 56,25% en cuanto a la aceptación de la VA por parte del macho. En 14 ocasiones, la extracción de semen no pudo completarse debido a la negativa del macho a aceptar la VA, representando así un 43,75% de los casos (Tabla 1).

En el período post-servicio, se procedió a realizar un total de 41 extracciones de semen, de las cuales 37 fueron exitosas en relación a la aceptación de la VA (90,25%), indicando una mejora significativa respecto al período pre-servicio. Durante este período sólo en 4 ocasiones, lo que equivale al 9,75% de los casos, el macho no aceptó la VA (Tabla 1).

Tabla 1: Respuesta a la vagina artificial en las temporadas pre- y post-servicio.

Período	Extracciones totales	Extracciones exitosas	Extracciones no exitosas	Porcentaje de aceptación	Porcentaje de no aceptación
Pre-servicio	32	18	14	56,25% ^a	43,75% ^a
Post-servicio	41	37	4	90,25% ^b	9,75% ^b

Diferentes letras (a, b) indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Duración del servicio. Se determinó que el tiempo de duración de la monta fue significativamente superior durante el período pre-servicio, con un promedio de $6,33 \pm 1,51$ min para las 18 extracciones exitosas, en comparación con el período post-servicio, donde el promedio fue de $4,43 \pm 2,27$ min para las 37 extracciones que resultaron exitosas (Tabla 2; $p = 0,002$).

Tabla 2: Duración promedio del servicio, expresada en minutos, durante los períodos pre- y post-servicio.

Período	Número de extracciones	Duración de la monta (min)
Pre-servicio	18	$6,33 \pm 1,51^a$
Post-servicio	37	$4,43 \pm 2,27^b$

Diferentes letras (a, b) indican diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,002$).

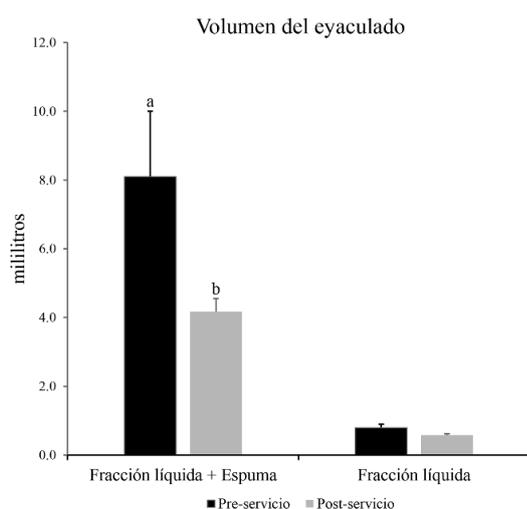


Figura 1. Volumen del eyaculado de llamas en los períodos pre- y post-servicio. Las barras representan los mililitros correspondientes al volumen de la fracción líquida + espuma y la fracción líquida del eyaculado. Los valores se expresan como la media \pm error estándar. Letras diferentes (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas entre los períodos evaluados ($p < 0,001$).

Volumen del eyaculado. Se encontró una notable diferencia en el volumen correspondiente a la fracción líquida y la espuma durante el período pre-servicio ($8,10 \pm 1,90$ mL) respecto al período post-servicio ($4,17 \pm 0,38$ mL), con una significativa superioridad en el primero ($p < 0,001$). Sin embargo, al comparar específicamente la fracción líquida de las muestras entre ambos períodos, no se determinaron diferencias significativas (Figura 1).

Movilidad espermática. La movilidad espermática total fue estadísticamente similar entre las extracciones del grupo pre-servicio ($18,22 \pm 6,15\%$) y las del grupo post-servicio ($30,38 \pm 4,63\%$). Sin embargo, es importante destacar una tendencia hacia una mayor movilidad espermática en el grupo post-servicio (Figura 2).

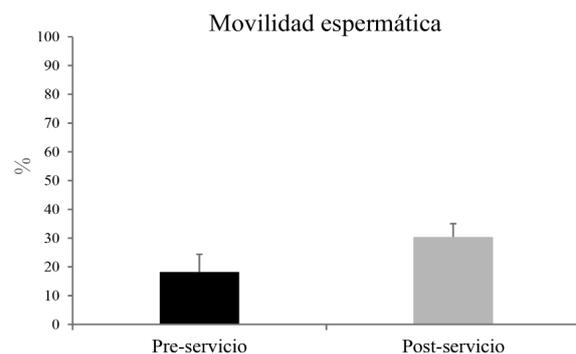


Figura 2. Movilidad espermática en muestras de semen de llamas en los grupos pre- y post-servicio. Las barras representan los porcentajes de movilidad espermática, expresados como media \pm error estándar.

Funcionalidad de membrana. Los porcentajes de espermatozoides con funcionalidad de membrana fueron significativamente mayores en los eyaculados obtenidos en el grupo post-servicio ($32,28 \pm 3,44\%$) respecto al grupo pre-servicio ($22,23 \pm 1,71\%$) ($p < 0,05$; Figura 3).

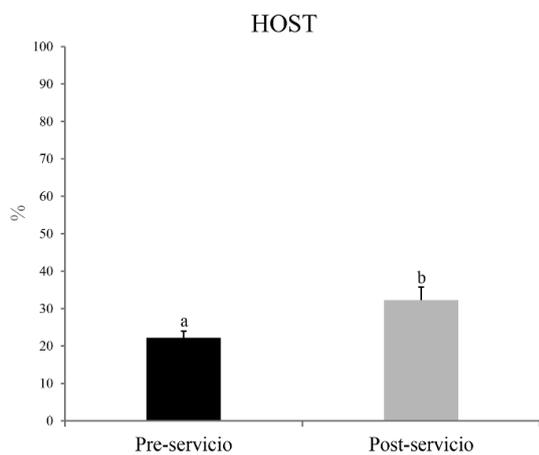


Figura 3. Evaluación de la funcionalidad de membrana espermática mediante prueba hiposmótica (HOST) en muestras de semen de llamas obtenidas durante los períodos pre- y post-servicio. Las barras representan los porcentajes de funcionalidad de membrana, expresados como media ± error estándar. Letras diferentes (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas entre los períodos ($p < 0,05$).

Morfología espermática. En relación a la evaluación de la morfología espermática, se evidenció un porcentaje mayor de espermatozoides normales en las muestras del grupo pre-servicio ($71,66 \pm 10,10\%$) en comparación con las del grupo post-servicio ($48,60 \pm 2,65\%$; $p < 0,001$).

Como se muestra en la Figura 4, en los eyaculados del período post-servicio se observó un incremento significativo en la presencia de cabezas sueltas ($19,95 \pm 3,70\%$), gota citoplasmática distal ($8,39 \pm 1,83\%$) y alteraciones de cola ($14,32 \pm 3,06\%$) respecto al período pre-servicio (cabezas sueltas: $1,03 \pm 0,42\%$; gota citoplasmática distal: $0,12 \pm 0,06\%$; alteraciones de cola: $2,26 \pm 0,6\%$; $p < 0,001$). Por otro lado, en las muestras del grupo pre-servicio se encontró una mayor proporción de gota citoplasmática proximal ($21,49 \pm 4,01\%$), presentando diferencia significativa respecto al período post-servicio ($10,20 \pm 1,89\%$). En cuanto a las alteraciones de cabeza doble y de pieza intermedia, no se observaron diferencias entre ambos períodos (pre-servicio: $0,48 \pm 0,13\%$ y $7,12 \pm 1,78\%$ vs. post-servicio: $1,66 \pm 0,70\%$ y $13,97 \pm 2,91\%$; respectivamente).

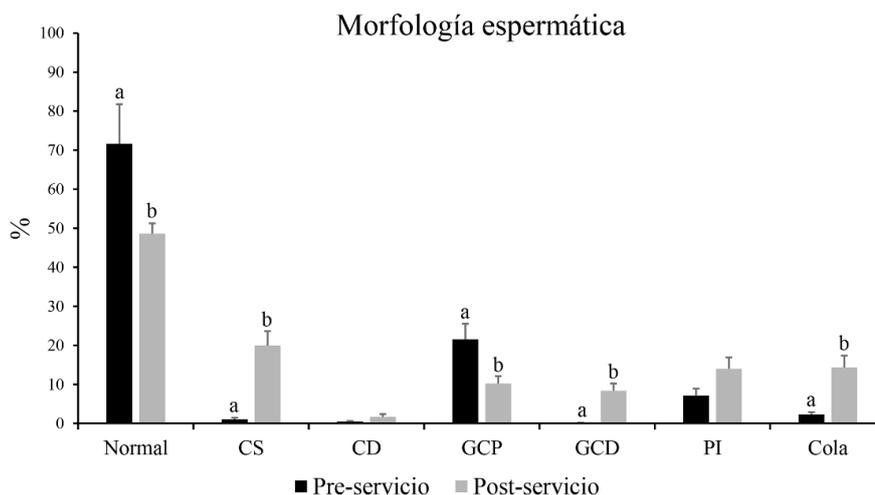


Figura 4. Evaluación de la morfología espermática. Las barras representan el porcentaje de cada tipo de morfología espermática analizado, expresado como media ± error estándar. Se incluyen las categorías: normal, cabeza suelta (CS), cabeza doble (CD), gota citoplasmática proximal (GCP), gota citoplasmática distal (GCD), anomalías de pieza intermedia (PI) y anomalías de cola. Las letras a y b indican diferencias estadísticamente significativas para cada parámetro analizado ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron diferentes parámetros asociados a la calidad seminal en muestras colectadas de llamas, mantenidas en su hábitat natural antes y después de su temporada reproductiva.

Actualmente, se emplean diversos métodos para la extracción de semen en los CSA (Morrell y Abraham 2020). En particular, el uso de la VA es el método más utilizado para la recolección de muestras de semen en llamas y alpacas (Bravo et al. 2013), y presenta la ventaja de que la muestra obtenida es similar a la fisiológica y no entra en contacto con las secreciones del tracto reproductivo de la hembra

(Abraham et al. 2017, Bravo 2023). Resulta interesante señalar que en este estudio se encontró una clara mejora en la aceptación de la VA por parte del macho durante el período post-servicio, respecto al grupo de animales del período pre-servicio. La tasa de aceptación aumentó del 56 al 90%, lo que sugiere que los factores relacionados con la experiencia previa del macho o las condiciones fisiológicas tras el servicio podrían favorecer un comportamiento más receptivo. En particular, esta diferencia podría deberse al entrenamiento en la monta que han experimentado los animales durante el período de encaste (temporada reproductiva en que la hembra es cubierta por el macho), así como a la libido incrementada que presentan los animales luego del período de servicio (Abraham et al.

2017). En cuanto a la duración del servicio, se observó una disminución significativa en el tiempo promedio de monta en el período post-servicio. Esta reducción en la duración puede atribuirse a una familiaridad del macho con el proceso de extracción tras el servicio, como así también, a nivel fisiológico, con una motivación sexual incrementada; lo que justificaría la menor duración observada.

La extracción mediante VA tiene la particularidad, en esta especie, de generar espuma en la muestra de semen. Trabajos previos reportaron la dificultad en la medición del volumen del eyaculado en esta especie debido a su carácter viscoso y la abundante espuma que presenta (Von Baer y Helleman 1998, Huanca y Adams 2007). Al parecer, los movimientos cráneo-caudales y de rotación del pene dentro de la VA podrían ser responsables de la generación de espuma (Von Baer y Hellemann 1998, Aller et al. 2003). En nuestro estudio los datos muestran una diferencia significativa en el nivel de espuma del eyaculado entre ambos períodos, siendo significativamente mayor en el período pre-servicio. Este resultado podría estar correlacionado con el tiempo de servicio más prolongado observado en los animales durante este período, lo que podría haber resultado en una mayor producción de espuma. Sin embargo, es importante destacar que no se encontraron diferencias en lo que respecta a la fracción líquida seminal entre los períodos analizados, indicando que el componente líquido de las muestras se mantiene constante y es independiente del período en el cual se realiza la extracción de la muestra de semen.

El análisis de la movilidad espermática total no reveló diferencias estadísticamente significativas entre los grupos pre-servicio y post-servicio. En llamas, el eyaculado se caracteriza por su alta filancia y elevada viscosidad estructural (Casaretto et al. 2012, Tibary et al. 2021) y, en general, la movilidad espermática en llamas es menor que en otras especies de rumiantes (Giuliano et al. 2008). En este trabajo se analizó la movilidad sin realizar ningún tratamiento enzimático para disminuir la filancia del semen. Actualmente, se reconoce que el plasma seminal influye en el patrón de movilidad espermática, aunque esta influencia parece estar mediada más por señales bioquímicas que por un efecto mecánico del eyaculado (Bertuzzi et al. 2020, Carretero et al. 2025a). Es importante destacar la tendencia observada hacia un aumento en la movilidad espermática en el grupo post-servicio. Esta tendencia podría estar relacionada con diferentes factores fisiológicos asociados al proceso reproductivo, tales como un aumento en la actividad de los órganos reproductivos o la influencia de hormonas específicas durante el servicio, que podrían favorecer la producción de espermatozoides con mejor movilidad. Asimismo, durante el pre-servicio, los machos experimentan un prolongado período de abstinencia sexual, manteniéndose separados de las hembras, por lo que se infiere que esta condición podría afectar en alguna medida la movilidad espermática durante dicho período.

La funcionalidad de la membrana espermática es fundamental para garantizar la viabilidad celular y constituye un indicador clave de la capacidad fecundante en diversas especies de mamíferos (Zubair et al. 2015, Hecht y Jeyendran 2022). La prueba hipoosmótica (HOST) se ha utilizado previamente en el estudio de la integridad funcional de la membrana en espermatozoides

de llama (Giuliano et al. 2002, 2008, Casaretto et al. 2012). Nuestros resultados muestran un mayor porcentaje de espermatozoides con membranas funcionales en el período post-servicio. Esto sugiere que, durante este período, las muestras de semen presentan un mayor número de espermatozoides con membranas íntegras y funcionales, lo que les permite responder positivamente al HOST.

La morfología del espermatozoide constituye un aspecto fundamental en la evaluación de la calidad seminal. Respecto al análisis de esta variable, se determinó que el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales era significativamente mayor en las muestras obtenidas durante el período pre-servicio, lo que sugiere que los machos están en un estado fisiológico que favorece la producción de espermatozoides morfológicamente normales durante dicho período. Sin embargo, resulta interesante destacar que se observó un porcentaje mayor de gotas citoplasmáticas proximales durante este período en comparación con el período post-servicio. Este tipo de anomalía, que se asocia con espermatozoides inmaduros o defectos en el desprendimiento del citoplasma residual, puede sugerir que, en el período pre-servicio, los espermatozoides se encuentran en una etapa más inmadura. Se ha reportado que los machos de llama presentan una alta incidencia de alteraciones morfológicas en su eyaculado, con variaciones significativas entre individuos (Giuliano et al. 2008). En el período post-servicio, se evidenció un incremento significativo en la presencia de anomalías como cabezas sueltas, gotas citoplasmáticas distales y alteraciones en la cola, en comparación con los valores obtenidos en el período pre-servicio. Además, se ha demostrado que la morfología de los espermatozoides de llama varía según la temporada en que se obtienen las muestras. Por ejemplo, se ha reportado que los eyaculados recolectados utilizando el mismo método de obtención empleado en este trabajo, durante la temporada de verano a nivel del mar, presentan un mayor porcentaje de colas anormales en comparación con aquellos obtenidos en la temporada de invierno (Giuliano et al. 2008). Esto sugiere que la temperatura ambiental tiene una influencia significativa en la espermatogénesis y la morfología espermática. Por lo tanto, basándonos en nuestras observaciones y en las de otros autores, se puede inferir que, en la llama, la morfología de los espermatozoides depende en gran medida del período en el que se realice la recolección de la muestra de semen.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que los parámetros asociados a la calidad seminal de llamas mantenidos en su hábitat natural varían entre los períodos pre- y post-servicio. En los eyaculados obtenidos durante el período post-servicio, la movilidad y la funcionalidad de membrana espermática se presentaron incrementadas respecto a los eyaculados obtenidos durante el período pre-servicio, sugiriendo una mejora en la calidad seminal. Sin embargo, el aumento de alteraciones morfológicas, como cabezas sueltas y anomalías en la cola durante el período post-servicio, resalta la necesidad de explorar las posibles

causas de estas variaciones, que podrían estar relacionadas con factores fisiológicos o ambientales. Estos hallazgos marcan la importancia de optimizar los protocolos de manejo y evaluación seminal en llamas para mejorar la selección de reproductores, contribuyendo al desarrollo de estrategias reproductivas más eficientes.

Agradecimientos. Este estudio fue financiado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Católica de Salta (RR N° 1374/19, Proyecto N° 262). Agradecemos a la Dra. Elina Vanesa García por su colaboración en el análisis de datos y a todo el personal del INTA Abra Pampa por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

ORCID

Barrera, A.D.  <https://orcid.org/0000-0001-5258-1693>

REFERENCIAS

- Abraham MC, de Verdier K, Båge R, Morrell JM. Semen collection methods in alpacas. *Vet. Rec.* 2017; 180: 613-614.
- Aller JF, Rebuffi GE, Cancino AK, Alberio RH. Influencia de la criopreservación sobre la movilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*). *Arch. Zootec.* 2003; 52: 15-23.
- Bertuzzi ML, Fumuso FG, Giuliano SM, Miragaya MH, Gallelli MF, Carretero MI. New protocol to separate llama sperm without enzymatic treatment using Androcoll-ETM. *Reprod. Domest. Anim.* 2020; 55: 1154-1162.
- Bravo PW. Sperm Physiology of South American Camelids. 2023. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.112876.
- Bravo PW, Flores U, Garnica J, Ordoñez C. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology.* 1997; 47: 619-626.
- Bravo PW, Alarcon V, Baca L, Cuba Y, Ordoñez C, Salinas J, Tito F. Semen preservation and artificial insemination in domesticated South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 2013; 136: 157-163.
- Brown BW. A review on reproduction in South American Camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 28: 169-195.
- Carretero MI, Giuliano SM, Miragaya MH, Neild DM. Male reproductive biotechnologies in South American Camelids Part I: semen collection, evaluation and handling. *Anim. Reprod. Sci.* 2025a; 272: 107634.
- Carretero MI, Neild DM, Bertuzzi ML, Giuliano SM. Male reproductive biotechnologies in South American Camelids Part II: semen dilution, cryopreservation and artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 2025b; 272: 107646.
- Casaretto C, Lombardo DM, Giuliano S, Gambarotta M, Carretero MI, Miragaya MH. Morphometric analysis of llama (*Lama glama*) sperm head. *Andrologia.* 2012; 44: 424-430.
- Casey PJ, Gravance CG, Davis RO, Chabot DD, Liu IKM. Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions. *Theriogenology.* 1997; 47: 575-582.
- Frank E. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Argentina. Proyecto de cooperación técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los camélidos sudamericanos en la Región Andina: Food and Agriculture Organization; 2005. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_de_camelidos/camelidos_general/162-situacion.pdf. 2017.
- Giuliano S, Ferrari M, Spirito S, Campi S, Director A, Fernández H. Methodological advances on the hypoosmotic swelling test (HOS test) in llama (*Lama glama*) spermatozoa. *Biocell.* 2002; 27: 149.
- Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Anim. Reprod. Sci.* 2008; 104:359-369.
- Giuliano S, Carretero M, Gambarotta M, Neild D, Trasorras V, Pinto M, Miragaya M. Improvement of llama (*Lama glama*) seminal characteristics using collagenase. *Anim. Reprod. Sci.* 2010; 118: 98-102.
- Hecht BR, Jeyendran RS. The hypo-osmotic swelling test: Is it a sperm vitality or a viability assay? *F. S. Sci.* 2022; 3: 18-20.
- Huanca W. Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos domésticos como alternativas para la mejora genética. In XVI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, Asociación Venezolana de Producción Animal. 2012.
- Huanca W, Adams GP. Semen collection and artificial insemination in llamas and alpacas. In: Current Therapy in Large Animal Theriogenology. WB Saunders. 2007. p. 869-873.
- Mamani-Linares LW, Gallo C. Effects of supplementary feeding on carcass and meat quality traits of young llamas (*Lama glama*). *Small Rum. Res.* 2013; 114: 233-239.
- Marcoppido G, Vila B. Manejo de Llamas extra-andinas: Observaciones que contribuyen a su bienestar en un contexto no originario. *Revista Argentina de Producción Animal.* 2013; 33: 139-154.
- Matteucci S. Ecorregión Puna. In: Morello J, Matteucci SD, Rodríguez A, Silvia M, editors. Ecorregiones y Complejos Ecosistémicos Argentinos. 1st ed. Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora. 2012; p. 87-127.
- Miragaya MH, Chaves MG, Agüero A. Reproductive biotechnology in South American camelids. *Small Rum. Res.* 2006; 61: 299-310
- Morrell JM, Abraham MC. Semen handling in South American camelids: state of the art. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7: 586858.
- Miranda-de la Lama GC, Villarroel M. Behavioural biology of South American domestic camelids: An overview from a welfare perspective. *Small Rum. Res.* 2023; 220: 106918.
- Polidori P, Renieri C, Antonini M, Passamonti P, Pucciarelli F. Meat fatty acid composition of llama (*Lama glama*) reared in the Andean highlands. *Meat Science.* 2007; 75: 356-358.

26. Silva M, Paiva L, Ratto MH. Ovulation mechanism in South American Camelids: The active role of β -NGF as the chemical signal eliciting ovulation in llamas and alpacas. *Theriogenology*. 2020; 150: 280-287.
27. Tibary A, Vaughan J. Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: a review and clinical observations. *Small Rum. Res.* 2006; 61(2-3): 283-298.
28. Tibary A, Anouassi A, Sghiri A, Khatir H. Current knowledge and future challenges in camelid reproduction. *Soc. Reprod. Fertil Suppl.* 2007; 64: 297-313.
29. Tibary A, Campbell A, Rodriguez JS, Ruiz AJ, Patino C, Ciccarelli M. Investigation of male and female infertility in llamas and alpacas. *Reprod. Fertil. Dev.* 2021; 33: 20-30.
30. Vilá B, Arzamendia Y. South American Camelids: their values and contributions to people. *Sustain Sci.* 2022; 17: 707-724.
31. Von Baer L, Hellemann C. Variables seminales en llama (*Lama glama*). *Arch. Med. Vet.* 1998; 30: 171-176.
32. Zubair M, Ahmad M, Jamil H. Review on the screening of semen by hypo-osmotic swelling test. *Andrologia.* 2015; 47: 744-750.