

Sexo de la cría según el ovario de la ovulación en llamas (*Lama glama*) de la Puna argentina

Sex of the calf according to the ovary of ovulation in llamas (*Lama glama*) of the Argentinean Puna

Marcos C. Abalos¹, Francisco A. Acuña¹, Andrea K. Cancino², Juan F. Aller^{3*}

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la relación de sexos de las crías nacidas provenientes de ovulaciones de los ovarios izquierdo o derecho en llamas naturalmente apareadas. Hembras (n=188) con presencia de un folículo ovárico ≥ 7 mm recibieron monta natural controlada (Día 0). Se confirmó la ovulación en el día 2 por la desaparición del folículo ovárico (n=146). Se obtuvieron 104 (71.2%) hembras diagnosticadas preñadas por medio de ultrasonografía a los 40-45 días de la monta. Se registró la fecha de monta y parición, sexo y peso vivo de la cría al nacimiento en 92 llamas. La relación sexo de la cría y la relación de sexo de las crías provenientes de cada ovario fueron comparadas mediante la prueba de Chi cuadrado de bondad de ajuste, siendo la relación esperada de 1:1. Ovulaciones provenientes de ambos ovarios produjeron similar (p=0.14) proporción de crías nacidas y la relación macho: hembra fue similar. Sin embargo, más crías de sexo macho fueron originadas del ovario izquierdo que del derecho (65.2 vs. 34.8%, respectivamente; p=0.04), aunque los porcentajes de machos nacidos originados de ovulaciones del ovario izquierdo (30/53=56.6%; p=0.33) y ovario derecho (16/39=41.0%; p=0.26) no fueron diferentes de la relación esperada (1:1). La duración de la gestación y el peso vivo al nacimiento fueron estadísticamente similares entre sexos.

Palabras clave: ovario, ovulación, cría, relación de sexo, llama

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Abra Pampa, Jujuy, Argentina

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Bariloche, Río Negro, Argentina

³ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Balcarce, Buenos Aires, Argentina

* E-mail: alleratucha.juan@inta.gob.ar

Recibido: 17 de enero de 2023

Aceptado para publicación: 10 de marzo de 2023

Publicado: 29 de junio de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the sex ratio of the offspring born from ovulations of the left or right ovaries in naturally mated llamas. Females (n=188) with the presence of an ovarian follicle ≥ 7 mm received controlled natural mating (Day 0). Ovulation was confirmed on day 2 by the disappearance of the ovarian follicle (n=146). Then, 104 (71.2%) females diagnosed pregnant by ultrasonography were obtained 40-45 days after mating. The mating and calving date, sex and body weight of the calf at birth were recorded in 92 individuals. The overall sex ratio of the offspring and the sex ratio of the offspring from each ovary were compared using the Chi-square goodness-of-fit test, with the expected ratio being 1:1. Ovulations from both ovaries produced a similar (p=0.14) proportion of calves born and the male: female ratio was similar. However, more male offspring originated from the left ovary than from the right (65.2 vs. 34.8%, respectively; p=0.04), although the percentages of males born originated from ovulations from the left ovary (30/53=56.6%; p=0.33) and right ovary (16/39=41.0%; p=0.26) were not different from the expected ratio (1:1). The length of gestation and live weight at birth were statistically similar between sexes.

Key words: ovary, ovulation, offspring, sex ratio, llama

INTRODUCCIÓN

Usualmente se asume que los mamíferos producen igual proporción de crías macho y hembra (Rosenfeld y Roberts, 2004), pero existen diversos factores en algunas especies domésticas y silvestres que pueden influenciar el sexo de la cría, como el momento de la inseminación artificial respecto del comienzo del estro (Wehner *et al.*, 1997; Martínez *et al.*, 2004), el sitio de deposición del semen (Zobel *et al.*, 2011), la concentración de testosterona en el fluido folicular preovulatorio (Grant *et al.*, 2008), el estado de maduración del ovocito al momento de la fecundación *in vitro* (Agung *et al.*, 2006), la condición corporal y la dieta con alta energía de la madre (Green *et al.*, 2008) y el grado de dominancia materna (Meikle *et al.*, 1993), entre otros. En mamíferos, se ha establecido que el sexo primario es determinado por la probabilidad de que un espermatozoide con cromosoma X o Y fertilice un ovocito, mientras que el sexo secundario es determinado al nacimiento (crías). Actualmente, no está

claro si la relación macho: hembra al momento de la concepción (sexo primario) y al nacimiento (sexo secundario) pueden ser sesgadas de la relación teórica 1:1 esperada (Jongbloet *et al.*, 2004).

En bovinos se ha reportado que la proporción de machos gestados en el cuerno derecho de vacas apareadas naturalmente fue significativamente más alta en comparación con el sexo de los terneros gestados en el cuerno izquierdo (Hylan *et al.*, 2009). Asimismo, estos autores determinaron una mayor proporción de embriones hembra producidos de ovocitos del ovario izquierdo en estudios *in vitro*; sin embargo, en vacas ovariectomizadas y supero-vuladas, la relación de sexos de los embriones no fue diferente entre ovarios. Por otro lado, ha sido sugerido que el ovocito ovulado podría estar adaptado a recibir espermatozoides con cromosoma X o Y (Grant y Chamley, 2007). En contraste, estudios experimentales *in vitro* demostraron que el ovocito mamífero no es selectivo hacia espermatozoides con cromosomas X o Y (Zuccotti *et al.*, 2005; Bermejo-Álvarez *et al.*, 2008).

La relación de sexos de los embriones o de las crías nacidas en camélidos sudamericanos (CSA) provenientes de ovulaciones de los ovarios izquierdo o derecho es desconocida, no habiéndose hallado literatura internacional sobre este evento fisiológico. Una relación sesgada de sexos estaría indicando que el ovario de origen del ovocito podría influenciar la selección para la fecundación por un espermatozoide X o Y, ya que el 95% de los embriones/fetos se desarrollan en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1970); en consecuencia, el cuerno de gestación tendría poca o nula incidencia en la relación de sexos secundaria. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la relación de sexos de las crías nacidas provenientes de ovulaciones de los ovarios izquierdo o derecho en llamas (*Lama glama*) naturalmente apareadas. Adicionalmente, se comparó el largo de la gestación y el peso al nacimiento de las crías nacidas de ambos sexos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

El trabajo se llevó a cabo en el rebaño de llamas (*Lama glama*) de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Abra Pampa del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicada en la provincia de Jujuy, Argentina a 3484 msnm. Esta región es una zona agroecológica de puna seca con un régimen de lluvia de 250-300 mm anuales en temporada estival (diciembre a marzo) y sin precipitación pluvial el resto del año. Los ensayos experimentales se realizaron bajo las normas de Bioética y Bienestar Animal aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE), Protocolo CRS-J N° 9/19 del INTA.

Animales y Diseño Experimental

En las temporadas reproductivas de 2020 y 2021 (enero-febrero) se evaluaron 188 llamas (peso: 107.4 ± 6.7 kg, condición cor-

poral [CC]: 4.1 ± 0.5 , en la escala de 1 a 9). Todos los animales tenían presencia de un folículo ovárico preovulatorio (FOP) ≥ 7 mm de diámetro observado por ultrasonografía transrectal (transductor lineal 5 MHz, Honda HS101V, Japón) y una sola monta natural controlada (Día 0). Se utilizaron 32 machos adultos en cada temporada reproductiva. En el Día 2, la ocurrencia de la ovulación fue confirmada por ultrasonografía (desaparición del FOP) y entre los días 40-45 pos-monta se realizó el diagnóstico de gestación por medio de ultrasonido.

Se registraron las fechas de nacimiento y sexo y peso vivo de 92 crías. El largo de la gestación (días) se determinó al comparar el día de nacimiento con la fecha de monta. Se relacionó el sexo de la cría nacida viva con el ovario (izquierdo o derecho) de la ovulación. Todos los animales recibieron similar régimen de manejo y fueron alimentados en pasturas naturales.

Análisis Estadístico

Los datos fueron procesados mediante el software SAS. Las variables diámetro del FOP registrado en cada ovario al momento del apareamiento (Día 0), los días de gestación y el peso vivo de las crías macho y hembra fueron comparadas por análisis de varianza. La prueba de Chi cuadrado de bondad de ajuste se utilizó para comparar la relación total de sexos de las crías (relación esperada 1:1-macho: hembra) y la relación de sexos de las crías nacidas proveniente de cada ovario (izquierdo o derecho). Se trabajó con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS

De 146 llamas con ovulación confirmada por ultrasonografía (Día 2 pos-monta), 104 (71.2%) se diagnosticaron preñadas a los 40-45 días del apareamiento. De estas, se registraron 92 crías nacidas vivas (88.5%). El diámetro del FOP no difirió entre ovarios al momento del apareamiento ($p=0.20$).

Cuadro 1. Distribución del sexo de la cría según ovulación de los ovarios izquierdo y derecho en llamas (*Lama glama*)

Ovulación	Folículo preovulatorio (mm)	Sexo de la cría		Total n (%)	P valor
		Macho n (%)	Hembra n (%)		
Ovario izquierdo	8.3±1.8 ^a	30 (65.2) ^a	23 (50.0) ^a	53 (56.6) ^a	0.33
Ovario derecho	8.7±1.6 ^a	16 (34.8) ^b	23 (50.0) ^a	39 (41.0) ^a	0.26
Total		46 (100.0)	46 (100.0)	92 (100.0)	1.0
P valor	0.20	0.04	1.0	0.14	

^{a,b} Porcentajes con diferentes letras dentro de una misma columna son significativamente diferentes (χ^2 bondad de ajuste) y difieren de la paridad 1:1

La frecuencia del sexo de las crías con base al ovario donde ocurrió la ovulación se presenta en el Cuadro 1. No hubo diferencias significativas ($p=0.14$) en la proporción de crías nacidas provenientes de ovulaciones de ambos ovarios; sin embargo, se encontró mayor proporción de crías de sexo macho que de sexo hembra producidas del ovario izquierdo que del derecho (65.2 vs. 34.8%, respectivamente; $p=0.04$), en tanto que la proporción de crías hembras producidas por ambos ovarios fue similar (50% de cada ovario; $p=1.00$). Por otro lado, las proporciones de machos nacidos originados de ovulaciones del ovario izquierdo (30/53=56.6%; $p=0.33$) y ovario derecho (16/39=41.0%; $p=0.26$) no fueron significativamente diferentes de la paridad esperada 50:50. El largo de la gestación y el peso vivo al nacimiento fueron similares para ambos sexos (Cuadro 2).

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que, en llamas apareadas naturalmente, la relación de sexo de crías nacidas no fue diferente de la paridad esperada (50:50). Asimismo, los registros de 4615 hembras apareadas entre 2007 y 2022 en la población de llamas de la EEA Abra Pampa (INTA), indican el nacimiento de 2843 (61.6%) crías, de las cuales 1427

(50.2%) fueron machos y 1416 (49.8%) fueron hembras, demostrando que las proporciones de sexos no difieren de lo esperado (1:1). En este sentido, los resultados de la relación del sexo de crías del presente trabajo coinciden con los datos de nacimientos registrados en la población del centro experimental. Por otro lado, una mayor proporción de crías de sexo macho fueron originadas de ovulaciones del ovario izquierdo. En este trabajo, la tasa de natalidad fue 48.9% (92/188), lo que se encuentra dentro de los rangos esperados, teniendo en cuenta que se realizó una sola monta natural por hembra.

El diámetro folicular promedio de ambos ovarios al momento previo al apareamiento fue similar y no tuvo influencia sobre el sexo de la cría nacida. Este resultado coincide con lo observado en ensayos de fecundación *in vitro* en bovinos (García-Herreros *et al.*, 2010).

Es ampliamente establecido que el sexo de la cría en los mamíferos es un tema de probabilidad, dependiendo si un espermatozoide con cromosoma X o Y del macho arriba primero al ovocito. Sin embargo, un número importante de estudios publicados reportaron la ocurrencia de una relación de sexos secundaria atípica en una gran variedad de mamíferos, y en casi todos esos estu-

Cuadro 2. Duración de la gestación en llamas (*Lama glama*) y peso al nacimiento promedio (\pm DE) según el sexo de la cría

Variables	Sexo de la cría		P valor
	Macho (n=46)	Hembra (n=46)	
Gestación (días)	370.3 \pm 8.6	372.1 \pm 8.4	0.32
Peso al nacimiento (kg)	10.6 \pm 1.5	10.8 \pm 2.0	0.47

díos, la relación de sexos atípica estuvo asociada con características o comportamiento maternos (Meikle *et al.*, 1993; Green *et al.*, 2008; Grant y Chambley, 2010).

Hylan *et al.* (2009) observaron en bovinos que no hubo selección preferencial para el sexo del embrión en los cuernos uterinos. Más aún, la relación de sexo en embriones y terneros producidos del apareamiento natural en aquel estudio, sugiere que el ovario de origen de la cual la preñez es derivada puede influenciar el sexo de la cría antes que el cuerno uterino de gestación. En consecuencia, los CSA son un excelente modelo animal para estudiar el origen ovárico del sexo de la cría, debido a que el embrión proveniente de la ovulación del ovario derecho permanece muy pocos días en el cuerno derecho y migra al cuerno izquierdo (Picha *et al.*, 2013), donde el 98% de los fetos se desarrollan en ese cuerno uterino (Bravo y Varela, 1993).

En el presente trabajo, es sorprendente que una mayor proporción de machos hayan sido originados de ovulaciones del ovario izquierdo, por lo que el sexo de la cría nacida puede proveer evidencias acerca del ovario de origen, indicando que el ovocito podría influenciar la selección para la fecundación de un espermatozoide con cromosoma Y. Sin embargo, estudios experimentales demostraron que los ovocitos no son selectivos hacia espermatozoides de un sexo u otro (Zuccotti *et al.*, 2005; Bermejo-Álvarez *et al.*, 2008).

Tratando de encontrar alguna explicación a aquel evento fisiológico observado en el presente trabajo, Zobel *et al.*, (2011) demostraron en bovinos, que la deposición intrauterina profunda en la inseminación artificial resultó en una más alta proporción de terneras hembra, mientras que la deposición del semen en el cuerpo del útero resultó en una más alta proporción de terneros macho, probablemente debido a las diferencias fisiológicas en motilidad, periodo de capacitación y vida media de los espermatozoides con cromosomas X o Y. Sin embargo, en los CSA la deposición natural del semen es intrauterina distribuida en los dos cuernos uterinos y la relación de sexos secundaria observada en el presente trabajo y en las estadísticas poblacionales de la EEA Abra Pampa no difiere de la paridad esperada.

Se ha sugerido que la concentración de testosterona en el fluido folicular preovulatorio puede predisponer al ovocito ovulado a ser preferencialmente fertilizado por un espermatozoide X o Y (Grant *et al.*, 2008). Estos autores demostraron una correlación positiva entre la concentración de testosterona en el fluido folicular *in vivo* y la probabilidad que el ovocito recuperado sea fertilizado *in vitro* por espermatozoides con cromosoma Y. Estudios similares deberían ser llevados a cabo en CSA para tratar de explicar la mayor proporción de crías de sexo macho originada del ovario izquierdo.

La duración de la gestación fue mayor que la reportada por San Martín *et al.* (1968), que fue de 342 a 350 días. El peso vivo al nacimiento de las crías fue similar entre sexos en el presente estudio y no difiere de lo informado por Brown (2000), ni por lo registrado en la población de la EEA Abra Pampa (machos: 10.4 kg y hembras: 10.2 kg).

En resumen, los cambios en la relación de sexos de los embriones o crías resultan de mecanismos que ocurren tanto previo a la fertilización a través de la habilidad de un espermatozoide X o Y alcance o penetre el ovocito, como después de la fertilización, vía pérdida selectiva del concepto de un sexo relativo al otro sexo. Aunque el mecanismo para el sesgo de la relación de sexos sigue sin estar claro y discutido en la literatura internacional, los resultados preliminares del presente trabajo podrían tener una considerable implicancia práctica en el manejo comercial de los rebaños de CSA, cuando las crías de un sexo pueden ser preferidas por sobre el otro sexo.

CONCLUSIONES

Los resultados proveen evidencias que las ovulaciones de ambos ovarios producen similar proporción de crías nacidas y que las ovulaciones del ovario izquierdo producen mayor proporción de crías de sexo macho. La duración de la gestación y el peso vivo al nacimiento fueron similares para ambos sexos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la asistencia técnica del personal de campo de la EEA INTA Abra Pampa (Jujuy) y al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Proyecto PD-E5-I107-001) y la Fundación ArgenINTA por la financiación de este trabajo.

LITERATURA CITADA

1. **Agung B, Otoi T, Wongsrikeao P, Taniguchi M, Shimizu R, Watari H, Nagai T. 2006.** Effect of maturation culture period of oocytes on the sex ratio of *in vitro* fertilized bovine embryos. *J Reprod Develop* 52: 123-127. doi: 10.1262/jrd.17055
2. **Bermejo-Álvarez P, Rizos D, Rath D, Lonergan P, Gutiérrez-Adán. 2008.** Can bovine *in vitro*-matured oocytes selectively process X- or Y-sorted sperm differentially? *Biol Reprod* 79: 594-597. doi: 10.1095/biolreprod.108.070169
3. **Bravo PW, Varela MH. 1993.** Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim Reprod Sci* 32: 245-252. doi: 10.1016/0378-4320(93)90096-A
4. **Brown B. 2000.** A review of reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 58: 169-195. doi: 10.1016/S0378-4320(99)00081-0
5. **Fernández-Baca S, Hansel W, Novoa C. 1970.** Embryonic mortality in the alpaca. *Biol Reprod* 3: 43-251. doi: 10.1093/biolreprod/3.2.243
6. **García-Herreros M, Bermejo-Álvarez P, Rizos D, Gutiérrez-Adán A, Fahey A, Lonergan P. 2010.** Intrafollicular testosterone concentration and sex ratio in individually cultured bovine embryos. *Reprod Fert Develop* 22: 533-538. doi: 10.107/RD09157
7. **Grant VJ, Chamley LW. 2007.** Sex-sorted sperm and fertility: an alternative view. *Biol Reprod* 76: 184-188. doi: 10.1095/biolreprod.106.056259
8. **Grant VJ, Irwin RJ, Standley NT, Shelling AN, Chamley LW. 2008.** Sex of bovine embryos may be related to mother's prevulatory follicular testosterone. *Biol Reprod* 78: 812-815. doi: 10.1095/biolreprod.107.066050
9. **Grant VJ, Chamley L. 2010.** Can mammalian mothers influence the sex of their offspring peri-conceptually? *Reproduction* 140: 425-433. doi: 10.1530/REP-10-0137

10. **Green MP, Spate LD, Parks TE, Kimura, K, Murphy CN, Williams JE, Kerley MS, et al. 2008.** Nutritional skewing of conceptus sex in sheep: effects of a maternal diet enriched in rumen-protected polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Reprod Biol Endocrinol* 6: 21. doi: 10.1186/1477-7827-6-21
11. **Hylan D, Giraldo AM, Carter JA, Gentry Jr GT, Bondioli KR, Godke RA. 2009.** Sex ratio of bovine embryos and calves originating from the left and right ovaries. *Biol Reprod* 81: 933-938. doi: 10.1095/biolreprod.109.077727
12. **Jongbloet PH. 2004.** Over-ripeness ovopathy. A challenging hypothesis for sex ratio modulation. *Hum Reprod* 19: 769-774. doi: 10.1093/humrep/dhe136
13. **Martínez F, Kaabi M, Martínez-Pastor F, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, de Paz P, Anel L. 2004.** Effect of interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenology* 62: 1264-1270. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.01.002
14. **Meikle DB, Drickamer LC, Vessey SH, Rosenthal TL, Fitzgerald KS. 1993.** Maternal dominance rank and secondary sex ratio in domestic swine. *Anim Behav* 46: 79-85. doi: 10.1006/anbe.1993.1163
15. **Picha Y, Tibary A, Memom M, Kasimanickam R, Sumar J. 2013.** Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology* 79: 702-708. doi: 10/1016/j.theriogenology.2012.11.027
16. **Rosenfeld CS, Roberts MR. 2004.** Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio: a review. *Biol Reprod* 71: 1063-1070. doi: 10.1095/bioreprod.-104.030890
17. **San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 16: 395-399. doi: 10.1530/jrf.0.0160395
18. **Wehner GR, Wood C, Tague A, Barker D, Hubert H. 1997.** Efficiency of the OVATEC unit for estrus detection and calf sex control in beef cows. *Anim Reprod Sci* 46: 27-34. doi: 10.1016/S0378-4320(96)01604-1
19. **Zobel R, Geres D, Pipal I, Buice V, Graèner D, Tkalcic D. 2011.** Influence of the semen deposition on the calves' sex ratio in Simmental dairy cattle. *Reprod Dom Anim* 46: 595-601. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01708.x
20. **Zuccotti M, Sebastiano V, Garagna S, Redi CA. 2005.** Experimental demonstration that mammalian oocytes are not selective towards X- or Y-bearing sperm. *Mol Reprod Dev* 71: 245-246. doi: 10.1002/mrd.20252