

Extracción de semen en serpientes

Gisela Fuentes-Mascorro¹ y Agustín Álvarez Trillo²

Laboratorio de Investigación en Reproducción Animal¹, Herpetario *Reptilium*²

Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca¹, Zoológico de Zacango²

Oaxaca de Juárez, Oax.¹, Calimaya, Méx.²; México

lirauabjo@gmail.com

Abstract— Semen extraction methods are, based on the sacrifice of the organism, laparotomy, electroejaculation; use of local anesthetics combined with massage and massage the posterior third of the animal. Most of the samples obtained by these methods are used to describe the ultrastructure of sperm. Propose a massage technique in the posterior third, starting in the dorsal region, continues in the abdominal, once relaxed sphincters, washing the cloaca and sacs off hemipenes is carried out with a solution at 28 ° C, drying and then continue ventral massage combined with a circular bags hemipenes massage, which generally ejaculation is obtained.

Keyword— Ejaculate, *Crotalus*, *Coluber*, *Stenorhina*, *Boa*.

Resumen— Los métodos de extracción de semen, se basan en el sacrificio de los ejemplares, laparotomía, electroeyaculación, uso de anestésicos locales combinados con masaje y masaje del tercio posterior de los ejemplares. La mayor parte de las muestras obtenidas por estos métodos, han tenido como finalidad, describir la ultraestructura de los espermatozoides. Se propone una técnica de masaje del tercio posterior, iniciando en la región dorsal, continua en la abdominal, una vez relajados los esfínteres, se realiza el lavado de la cloaca y los sacos de los hemipenes con una solución a 28°C, secado y continuación del masaje ventral combinado con un masaje circular sobre los sacos de los hemipenes, con lo que generalmente se obtiene la eyaculación.

Palabras claves— Eyaculado, *Crotalus*, *Colubr*, *Stenorhina*, *Boa*.

I. INTRODUCCIÓN

Los métodos para extraer semen de serpientes, han sido desarrollados desde mediados del siglo XX, estos ejemplares se pueden mantener en cautiverio en pequeños espacios, se les alimenta con ratones o ratas, a excepción de las especies que tienen hábitos alimentarios muy específicos como las ofiófagas, permitiendo contar con una fuente de semen en el laboratorio. El propósito de extraer semen en ejemplares venenosos, es poder reproducir ejemplares que se encuentran en cautiverio en zoológicos y la hembra y el macho están alejados grandes distancias, pues es más sencillo y seguro transportar el semen que el ejemplar vivo. La reproducción de ejemplares venenosos, permite la extracción de mayores cantidades de veneno, que se emplean en la producción de faboterápicos, para el tratamiento de accidentes ofídicos.

Las interacciones del hombre con las serpientes en los países mega diversos como México, son altas, y generalmente concluyen con la muerte de la serpiente, aunado a esto su empleo como parte de la medicina tradicional, provoca la extracción de ejemplares de su hábitat, por lo que en la norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 [1], *C. trasversus* está catalogada en peligro de extinción, 9 especies amenazadas y 16 en protección especial. Paralelamente se ha puesto de moda, poseer reptiles como mascota, por lo que es común encontrar en cautiverio a estos ejemplares.

II. TRABAJOS RELACIONADOS

Las técnicas de extracción de semen de serpientes, varían desde el empleo de masaje, electroeyaculación, laparoscopia y sacrificio de los ejemplares. Se describirán en forma cronológica.

En 1961 [2], extrajo semen, realizando un masaje en la región posterior del abdomen con algunos golpes gentiles con el dedo pulgar, inmediatamente posterior a la placa anal (nombre que recibe la escama que cubre la cloaca), suficiente para tener unas gotas de semen, sugiere descartar la primera muestra y colocar algunas gotas de solución Ringer en la cloaca, repetir el masaje para obtener una muestra libre de excretas, haciendo énfasis en la ventaja que representa tener a estos ejemplares en el laboratorio, para obtener la muestra de semen fácilmente y permitir la evaluación inmediata por los estudiantes.

En 1990 [3], cita que Mendgen y col, reportaron en 1980, la extracción de semen de serpientes *Bitis gabonica* y *Phyton anchietae*, empleando masaje cloacal. En 1986 [4], se empleó electroeyaculación en *Lampropeltis triangulum sinaloae*, encontrando que este método es menos eficiente que el manual. En *Crotalus durissus terrificus*, para 1994 [5], sacrificaron los ejemplares y obtuvieron el semen de vasos deferentes.

En 2007 [6], compararon el método de extracción de Mengden y col., 1980, en el cual describen el proceso, como un acariciado ventral para lograr la relajación de la musculatura del animal y después proporcionan masaje sobre la escama anal, lo cual produce distención de la musculatura cloacal, a esta técnica agregaron un frotamiento en la base de los hemipenes con una sonda de plástico, de 1.5 mm de diámetro, la cual fue insertada 5 a 7 cm, dentro de la apertura cloacal, en un movimiento hacia adelante y hacia atrás, para lograr la eversión de los hemipenes y posterior eyaculación, estos autores lograron con la primer técnica una eversión parcial de los hemipenes acompañada de una relajación muscular de la cloaca, incremento de la irrigación en la zona, obteniendo solo la expulsión de heces y la eliminación de secreciones de la glándula anal. Con la técnica desarrollada por ellos lograron la eversión completa de los hemipenes, con la estimulación de la sonda de plástico, se logró la eyaculación, que no requiere de la eversión completa de los hemipenes, estos autores concluyen que la exposición de los hemipenes podría indicar un alto grado de estimulación.

En *Crotalus durissus terrificus*, modificaron la técnica de Mengden y col, 1980, usando anestesia local alrededor de la cloaca, una vez contenida la serpiente con gancho herpetológico y tubos transparentes, limpiaron con un antiséptico la piel alrededor de la cloaca, se aplicó por vía subcutánea una dosis de lidocaína al 1%. de 15mg por kilogramo de peso, se diluyó con solución salina, para obtener un mililitro de volumen y se aplicaron 0.25mL, en cada punto, ubicados cuatro puntos craneal, caudal y lateral derecho e izquierdo a la cloaca, una vez obtenida la relajación de la cola, se obtuvo con una jeringa de 1 centímetro cúbico sin aguja, el semen directamente de la papila, ayudando con un masaje vertical en dirección a la cloaca, obtuvieron un 71.80 por ciento de éxito en la obtención de eyaculados con esta técnica[7].

Para el género *Bothrops*, emplean la inyección intramuscular de tiopental sódico, para sacrificar a los ejemplares y obtener los espermatozoides [8], en otro trabajo anestesiaron a las serpientes empleando éter, para sacrificarlas, diseccionaron testículo, epidídimo y conducto deferente para obtener los espermatozoides [9].

Trabajando con colúbridos [10], lavan la cloaca antes de iniciar el masaje del tercio caudal, en la pared del cuerpo de la serpiente, con una gentil presión estimularon los ductos del semen, después de dos a cinco minutos el esperma emerge de la cloaca, la masa del líquido es forzada hacia afuera con una decisiva pero ligera presión del dedo pulgar. Estos autores mencionan que Zacariotti y col en 2007, trajeron semen por laparotomía y aspiración de los conductos deferentes.

III. PROPUESTA DE MÉTODO DE EXTRACCIÓN

La pérdida del hábitat, la contaminación, el calentamiento global, el uso en medicina tradicional, el empleo de sus pieles en la peletería y su auge como mascotas, está llevando a las serpientes a estados

críticos, poniendo en riesgo su permanencia en el ecosistema, a esto debemos sumar, que en un gran número de trabajos para entender su biología reproductiva y en especial la ultraestructura del espermatozoides, los ejemplares son sacrificados. En contra posición a estos sacrificios los estudios que se realizan en la actualidad en los venenos de las serpientes, han arrojado resultados como el de la crotamina, péptido de 42 aminoácidos que ha probado atravesar la barrera hemato-cerebral, penetra células en división en 5 minutos y permanece 24 horas en ellas y muestra toxicidad en las células de melanoma [11]. Sin duda se vuelve urgente contar con técnicas eficientes de reproducción asistida, que permitan incrementar el número de ejemplares, no solo de especies en peligro crítico de extinción, además de aquellas que presentan gran interacción con el hombre y por tanto son causa de un importante número de muertes, por lo que la producción de faboterápicos, requiere de un incremento en las especies disponibles para extracción y en el número de ejemplares.

De las técnicas de reproducción asistida, la extracción y conservación de semen, es básica. Un método adecuado de extracción de semen parte del conocimiento de la biología de la especie, conocer la época de apareamiento, la conducta que despliegan los ejemplares desde el cortejo hasta la conclusión de la cópula. La técnica de obtención del semen, intenta que el macho perciba sensaciones similares, para que de manera natural eyacule.

La técnica que ha sido efectiva para extraer semen de géneros *Crotalus*, *Coluber*, *Stenorrhina* y *Boa*, inicia con la contención del ejemplar, para *Crotalus*, *Stenorrhina* y *Boa*, se emplea la contención física, con ayuda de un tubo de plástico transparente en el que se introduce el primer tercio del ejemplar, esta maniobra debe ser realizada siempre por personal con experiencia, un segundo operador, que es el que extraerá el semen, recorre con las manos, el segundo y tercer tercio del cuerpo del ejemplar, para asegurarse de que se encuentra seca la piel, dar un masaje gentil, en dirección craneo caudal, sobre los músculos epaxiales, con lo cual se tranquilizan los ejemplares, proceder con un masaje ventral desde la altura de los testículos, hasta la cloaca, para relajación de los esfínteres de la cloaca, lavar la cloaca empleando una jeringa de un centímetro cúbico sin aguja, introducir gentilmente el diluyente que estará a 28°C, presionar suavemente para extraer el líquido, no siempre el ejemplar devuelve el líquido, de igual manera lavar los sacos de los hemipenes, secar con papel suave, continuar con el masaje ventral en dirección craneo – caudal, hasta que el ejemplar relaje la cola, dirigirla gentilmente en dirección dorsal, sujetar suavemente e iniciar un masaje circular suave, sobre los sacos de los hemipenes, el ejemplar dará inicio a la eyaculación [12]. En ningún momento es necesario exteriorizar los hemipenes. Algunos ejemplares, después del lavado de los sacos de los hemipenes, expulsan una sustancia pastosa, que al ser observada a 40X, en el microscopio fotónico, presenta restos de espermatozoides, por lo que pudiera estar constituida de semen que es eyaculado, en ausencia de hembra, no todos los ejemplares presentan la expulsión de esta sustancia pastosa.

A. Consideraciones para ejemplares de vida libre.

Generalmente los ejemplares que provienen de vida libre y que se encuentran en periodo reproductivo, tienden a eyacular rápidamente, con el inicio del masaje. Algunos de estos organismos que tardan en eyacular, suelen hacerlo, si se depositan algunas gotas de diluyente a 28°C, sobre el exterior de la cloaca. Es básico en estos animales, lograr que se relajen, una excelente estimulación, hace que los ejemplares, permanezcan quietos.

B. Consideraciones en los ejemplares en cautiverio.

Algunos de estos ejemplares, se vuelven difíciles de introducir a el tubo, pues han sido manejados, con frecuencia, después de trabajar con los ejemplares, por un periodo de aproximadamente seis meses, realizando extracciones cada mes, se ha logrado que algunos ejemplares de *Crotalus*, se estimulen

rápidamente, llegando a lograr que realicen el movimiento lateral de cabeza que hacen durante la cópula. Con los ejemplares que se han manejado por periodo de tres años, el tiempo de colecta se reduce grandemente.

Siempre se debe ser sumamente cuidadoso en vigilar, las reacciones del animal, pues estas indican si se está estimulando adecuadamente o si el organismo está agotado o su temperatura corporal ha bajado por el tiempo que se encuentra fuera de las fuentes de calor.

Recordar que cada animal, presenta una conducta particular, por lo que es sumamente importante aprender a interpretar la conducta de cada ejemplar.

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al personal del Herpetario *Reptilium*, por su gentileza en el manejo de los ejemplares. A la administración central de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, por el financiamiento recibido.

REFERENCIAS

- [1] Norma Oficial Mexicana 059 Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales 2010.
- [2] SH. Fitch, "The snake as a source of living spermatozoa in the laboratory". Turtox News. Universidad de Kansas, vol. 39, No. 10, pp 247, October 1961.
- [3] BS. Durrant. "State of art: semen collection, evaluation, and cryopreservation in exotic animal species: maximizing reproductive potential", Ilar News, vol.32,2-10, 1990
- [4] JH Samour,. "Recent advances in artificial breeding techniques in birds and reptiles", Int. zoo Yearbook 24/25, 143-148
- [5] FG, Langlada, S Santos, LL Ferreira. "Techniques of artificial insemination in *Crotalus durissus terrificus* (VIPERIDAE-CROTALINAE)", Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. vol 31, No. 2, 1994, pp 141-144
- [6] M Tourmente, GA Cardozo, HA, Guidobaldi, LC Giojala, M, Bertona and M Chiaraviglio. "Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of *Boa constrictor occidentalis*, a threatened snake species", Research in Veterinary Science 82, 2007, pp93-98
- [7] RL Zacariotti, KF Grego, W Fernandes, SS Sant'Anna and MA de Barros. "Semen collection and evaluation in free-ranging Brazilian Rattlesnakes". Zoo Biology, vol.26, 2007, pp155-160
- [8] M Tourmente, L Giojalas and M Chiaraviglio. "Sperm ultrastructure of *Bothrops alternatus diporus* (viperidae, Serpentes), and its possible relation to the reproductive features of the species". Zoomorphology, vol.127, 2008, pp.241-248
- [9] L Gang, L Qiao-Qiao, Y Hu-Hu, W Qiang-Xia. "Histological and immunocytochemical study of deferens ducts in the Chinese rat snake (*Zaocys dhummades*)". Zoological Research, vol. 32, No. 6, 2011, pp663-669
- [10] M Oliveri, GM Alvarez, L ANel, PLA Valentin and CM Fernandez. "Sperm extraction, dilution and morphology in North American Colubrids". Cairns, 2014 pp131-143
- [11] I Kerkis, MAF Hayashi, ARB Prieto da Sivila, A Pereira, PLde Sá Junior, AJ Zaharenko, G Rádis-Baptista, A Kerkis and T Yamane. "State of the Art in the Studies on Crotamine, a cell penetrating peptide from south american rattlesnake". Bio Med Research International. Vol 2014 9 pages.
- [12] G. Fuentes-Mascorro, A. Álvarez, M. Bautista, D.Giron, L. Ramirez, . "Diluciones como metodo de conservación de semen del género *Crotalus*". Actas iberoamericanas de Conservación Animal. 4, 2014, pp. 303-304.