

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**



**Comportamiento reproductivo de vaquillas Holstein manejadas intensivamente en el norte de México e inseminadas en cuerpo o en cuerno uterino**

Por:

**SALVADOR CORTÉS LÓPEZ**

Tesis

Presentada como Requisito Parcial para obtener el Título de

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

**Saltillo, Coahuila, México.**

**Diciembre de 2013**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

Comportamiento reproductivo de vaquillas Holstein manejadas intensivamente en el norte de México e inseminadas en cuerpo o en cuerno uterino

Por:

**SALVADOR CORTÉS LÓPEZ**

Tesis

Que somete a consideración del H. jurado examinador como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

**APROBADA**



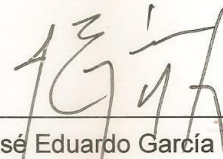
Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque

Asesor principal



Dr. Jesús Alberto Mellado Boque

Asesor



Dr. José Eduardo García Martínez

Asesor



Dr. Ramiro López Trujillo

Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2013

## **DEDICATORIAS**

La presente tesis esta dedicada a mis padres: Salvador Cortés Hernández y María Del Socorro López Vásquez que desde que llegue a este mundo me han apoyado, para formarme día a día, que a pesar de adversidades me han dado todo su cariño y protección. Además de inculcar valores para respetar y valerme por mi mismo

A mi querida e inigualable Alma Mater que me brindo la oportunidad de llegar a obtener un logro mas en mi vida y descubrir muchas cosas en el trayecto de mi preparación.

A productores de nuestro País que viven a diario el pesado trabajo y responsabilidad que representa obtener alimento para la población de la manera más adecuada y honesta. A mis compañeros y colegas para lograr grandes cosas en donde estemos, en especial a un querido amigo que no logro llegar al final de su preparación: Jonatán Torres Contreras que sé, nos seguirá apoyando desde arriba así como lo hacia en la escuela.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente a dios Padre por permitirme vivir en compañía de mi tan querida familia que con tantos obstáculos me han sabido apoyar de la mejor manera y que en todo lugar y a cada momento me llega su gran amor para poder continuar en el sendero.

Agradezco infinitamente al Doctor Miguel Mellado Bosque que me ayudo en todo momento de la elaboración de la presente, Al Ingeniero Alfonso Nava Cruz por permitir vivir de cerca el presente de la producción lechera en la Laguna, por transmitirme amplios conocimientos y colaborar ampliamente para que esta investigación se llevara a cabo.

A los profesores que compartieron ampliamente sus conocimientos y experiencias conmigo, con el fin de hacerme conocer el camino que aun falta por recorrer y los obstáculos que en el se encuentran, todo para ayudar a sacar a delante al entorno en el que me toque estar.

A mis compañeros y amigos “los gordos” por apoyarme, acompañarme y ser parte de mi estadía en nuestra querida Alma Terra Mater. Por esa gran fraternidad lograda a través de dificultades y carencias que vivimos juntos a mi gran amigo y hermano Omar Bautista Méndez. A mis compañeros y amigos del Porfirio 8 y 9 por compartir buenos momentos de platicas y festejos de sus apreciables vidas. Y que tienen la misma misión que yo, concluir satisfactoriamente la carrera para ser personas de bien y ayudar al avance de nuestro País.

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en un establo lechero comercial de Francisco I Madero, Coahuila, con el propósito de determinar los efectos que conlleva el depositar el semen en el cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo asumido como preovulatorio (IOFAP), comparado con la inseminación convencional realizada en el cuerpo uterino, esto para lograr un posible aumento en la tasa de preñez utilizando semen sexuado en vaquillas Holstein. La tasa de preñez para vaquillas inseminadas en el cuerpo (30.3%) no difirió de la tasa de concepción en vaquillas que recibieron el semen en el cuerno uterino (28.2%). Igualmente, los servicios por concepción no difirieron entre las vaquillas inseminadas en el cuerpo o en el cuerno uterino (2.13 vs. 2.37). Se concluyó que la deposición del semen sexuado en el cuerno del útero ipsilateral al ovario que contiene el folículo próximo a ovular, no mejora la tasa de preñez de las novillas.

**Palabras clave:** semen sexuado, cuerpo uterino, cuerno uterino, tasa de preñez.

# ÍNDICE

Pág.

<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE TEXTO.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS FIGURAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>I.- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivo.....	3
1.2 Hipótesis .....	3
<b>II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Proceso se Citometría de flujo.....	4
2.2 Proceso Para la Obtención de Semen Sexuado.....	4
2.3 Resultados con el Semen Sexuado.....	5
2.4 Recomendaciones de Uso.....	6
2.5 El Uso Actual del Semen Sexuado .....	7
<b>III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
3.1 Descripción del Área de Estudio.....	14
3.2 Vaquillas y el Manejo Aplicado .....	14
3.3 Análisis Estadístico.....	15

<b>IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>16</b>
4.1 Edad al Primer Celo .....	16
4.2 Edad Promedio a Primera Preñez.....	16
4.3 Comparación de Métodos de Inseminación .....	18
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>20</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>21</b>

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Pág.

**Figura 1.** Edad (promedio= 426 días) al primer celo de novillas Holstein en Francisco I madero, Coahuila, México..... 17

**Figura 2.** Edad a la preñez (promedio =430 días) de novillas Holstein en Francisco I madero, Coahuila, México. .... 17

**Cuadro 1.** Comportamiento reproductivo de vaquillas Holstein manejadas intensivamente en el norte de México e inseminadas en cuerpo o en el cuerno uterino..... 18



## I.- INTRODUCCIÓN

La eficiencia de las vacas lecheras altas productoras de leche es extremadamente alta, lo que típicamente conduce a problemas con su fertilidad, presentándose bajas tasas de preñez y altas tasas de mortalidad embrionaria. Debido a las grandes exigencias que se les da a las vacas lecheras, aunado a las condiciones climáticas típicas del norte de México, estas se ven sometidas a un estrés calórico, lo cual repercute directamente con su reproducción al bajar la fertilidad.

En la región Lagunera se trabaja con la principal raza lechera; Holstein, debido a su alto potencial lechero, sin embargo, las condiciones dadas en esta región ha dado lugar a que se consigan animales de reemplazo de establos cercanos e incluso importan animales del extranjero. Lo anterior causa fuertes pérdidas económicas para los productores por los altos costos de los animales de reemplazo.

Una forma de solucionar este problema es evitar la importación de becerras y producirlas en cantidades suficientes en los establos lecheros, esto a través del uso de semen sexuado. Con esta tecnología, el 90% de las crías nacidas son hembras (Seidel *et al.*, 1999; Mellado *et al.*, 2011). El uso de semen sexuado es una tecnología relativamente nueva que ha demostrado producir una mayor proporción de terneras de semen convencional (DeJarnette *et al.*, 2009). Debido a que las terneras son más valiosas que los terneros machos, el uso de semen sexuado es económicamente atractivo, aunque la inseminación con semen sexuado reduce la fertilidad (DeJarnette *et al.*, 2009). Por consiguiente, el semen sexuado tendría una mayor proporción de hembras con una tasa de concepción inferior a la alcanzada con el semen convencional. Además de la proporción de sexos y tasa de concepción, hay otros factores que afectan a la economía de los programas reproductivos con semen sexuado. Por lo tanto, la decisión de dónde

usar semen sexuado debe ser de carácter económico, sobre la base de un análisis cuidadoso de los gastos de balance entre los costos adicionales y los ingresos potenciales. Además del aumento del costo de semen sexuado, la disminución de la tasa de concepción (CR) impide que algunos productores adopten esta tecnología. La tasa de concepción disminuye de un 12 a 20% en comparación con el semen convencional. Debido a esta característica indeseable, el semen sexuado ha sido utilizado principalmente y se recomienda su uso sólo en vaquillas vírgenes (Seidel, 1999; 2007).

En la década de los 40 del siglo pasado, la deposición del semen durante la inseminación artificial (IA) en los bovinos comenzó a efectuarse en el cérvix o en el cuerpo del útero. Esta práctica, que involucra la sujeción del cuello uterino por vía transrectal, reemplazó a la que se llevaba a cabo descargando el semen en el fondo de vagina y región anterior del cuello uterino, con la ayuda de un vaginoscopio. Varios años más tarde, se demostró que la fertilidad de las IA efectuadas en el cuerpo del útero era mayor que la de las intracervicales (Macpherson, 1968; Moller *et al.*, 1972).

En las últimas décadas se viene observando una disminución de la fertilidad en el ganado lechero (Butler, 1998; López-Gatius, 2000). Según los especialistas, este hecho es consecuencia principalmente de los desórdenes reproductivos asociados al aumento de producción de leche; sin embargo, se aconseja revisar todos los factores que pudieran influir en el problema. Entre ellos se encuentra el lugar de la descarga del semen durante la IA. Algunos investigadores proponen inseminar en los cuernos uterinos. Fundamentan su recomendación en que el principal reservorio espermático se encuentra en la unión útero-tubárica y no en el cérvix, y en que las inseminaciones "profundas" evitan las descargas intracervicales que tienen menor fertilidad (López-Gatius, 2000). La dificultad que tienen muchos técnicos para efectuar la descarga seminal en el cuerpo del útero se puso de manifiesto en un estudio que utilizando radiografía de contraste analizó 586 inseminaciones. Se observó que dicha maniobra se había efectuado en

realidad en el cuerpo del útero sólo en el 39 % de los casos y que en un 25 % de los intentos, el semen se había depositado en el cérvix (Moller et al., 1972).

Por lo anterior, se propone la hipótesis de que si el semen sexuado se coloca en el cuerno uterino ipsilateral al ovario que va a ovular, se podría tener una mayor tasa de concepciones, al colocar un mayor número de espermatozoides cerca del sitio de fertilización.

### **1.1 Objetivo:**

Determinar la diferencia en la tasa de preñez en vacas Holstein al inseminarse con el método convencional y hacerlo en cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo asumido como preovulatorio (IOFAP), utilizando semen sexuado.

### **1.2 Hipótesis:**

La tasa de preñez con ayuda de la inseminación dirigida (cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo ovulatorio) aumentará con respecto al método convencional de inseminación. Y consecuentemente ayudará en la eficiencia de los recursos utilizados con el fin de obtener mayor número de becerras por servicio.

## II.- REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Proceso se Citometría de Flujo

El semen pasa por proceso llamado citometría de flujo, el cual diferencia la masa de los cromosomas sexuales, separando éstos en función de su contenido de ADN. Con lo anterior se detectan los cromosomas X (femenino) y Y (masculino) la cual es obtenida de separar el semen convencional en 50% X y 50% Y. La fertilización de un óvulo con un espermatozoide con cromosoma X lleva a producir una hembra.

El espermatozoide con el cromosoma X en el semen sexuado forzosamente produce una hembra. Los productores de leche siempre han estado interesados en obtener mayor cantidad de hembras debido al valor que tienen en sus unidades de producción, mientras que la idea de obtener machos se la dejan a los productores de bovino de carne. La comercialización de semen sexuado avanzó en el 2003 pero se expandió notablemente hasta el 2006. En la actualidad su uso está diseminado en todo el mundo, utilizándose no sólo en ganado productor de leche, sino en ganado productor de carne (Domínguez *et al.*, 2011).

### 2.2 Proceso Para la Obtención de Semen Sexuado:

Es llevado a cabo por un proceso llamado citometría de flujo, por medio de una máquina que detecta la variación del contenido del ADN en las diferentes células espermáticas que va de 3.6 a 4.1% entre el cromosoma X y el cromosoma Y (Keeler *et al.* 1983; Cui, 1997; Williamson, 2004; Morrell *et al.*, 2008) en base a la diferenciación de género del producto lechero o para carne, conforme al fin de la unidad de producción.

Los procedimientos de la clasificación de género del espermatozoide usado en el citómetro de flujo fueron estudiados por primera vez en los laboratorios de investigación del gobierno de EU en los años 80 (Seidel y Garner, 2002). En los 90's nació el primer becerro usando este procedimiento y desde entonces, los investigadores han trabajado para aumentar la eficiencia de la técnica para la separación del semen (Frijters *et al.*, 2009).

El citómetro de flujo, como ya se abordó anteriormente, detecta de un 3 a 4% de diferencia en el contenido del ADN entre las células espermáticas con cromosoma X o Y. El primer paso de este procedimiento es diluir los espermatozoides a una concentración muy baja y marcarlo con una tinta fluorescente. La muestra se lleva al citómetro de flujo y comienzan a desplazarla a una gran velocidad de 60 mph y a 40 ó 60 psi de presión (Johnson *et al.*, 1987).

A medida que el esperma pasa a través de un rayo laser de la máquina, la tinta fluorescente sufre un cambio debido a que el cromosoma X es más grande, por lo tanto, brilla un poco mas que el cromosoma Y. Detectores miden la cantidad de fluorescencia y asignan cargas positivas o negativas cada gota que contiene un solo espermatozoide.

Las placas de desviación de carga dividen el flujo único en tres flujos: las partículas con cargas positiva que contienen un sexo opuesto van al otro lado, mientras las gotas sin carga que contienen múltiples espermatozoides o espermatozoides sin sexo identificado, pasan directamente sin ir a ningún lado. En la clasificación del semen sexuado con cromosoma X, los espermatozoides múltiples o no identificados y espermatozoides masculinos se desechan. Sin embargo, uno de los principales problemas del uso del semen sexuado es la lentitud del proceso en el cual se clasifican de 150 a 200 dosis de semen sexuado por máquina por día; otro factor negativo de la técnica es la cantidad de espermatozoides dañados en el proceso que fluctúa alrededor del 70% de los espermatozoides que fallan al ser clasificados debido al daño o por la ausencia de distinción del espermatozoide al pasar por el citómetro (Weigel, 2004).

### **2.3 Resultados con el Semen Sexuado**

Las investigaciones han demostrado consistentemente que esta tecnología de clasificar semen sexuado produce alrededor de un 90% de becerras, (De Jarnette *et. al.*, 2008), por lo tanto, cada 10 gestaciones resultaran necesariamente en 9 becerras. La oportunidad aleatoria dice que el 26% de los hatos en donde se inseminaron artificialmente 10 animales, el 80% de las vaquillas

preñadas tendrán becerras, el 7% de las veces el 70% de las preñadas serán becerras.

Basándose en estas probabilidades es donde los ganaderos lecheros deben darse por enterados que el uso de esta tecnología dará como resultado un 90% de becerras de acuerdo a los datos evaluados.

El semen sexuado siempre ha sido recomendado para usarse en vaquillas debido a la técnica de sexuado se ve reducido el número de células espermáticas por pajilla y esto reduce la tasa de concepción de un 20 a un 30% en vaquillas en comparación con el uso de semen convencional (Olynk Wolf, 2006).

## **2.4 Recomendaciones de Uso**

La optimización del uso de semen sexuado depende de algunos factores económicos y biológicos. El retorno de la inversión del semen sexuado para un productor de leche depende desde el manejo reproductivo y sus resultados, primeramente por la reducción en la fertilidad de semen sexuado, en el precio que por supuesto es más caro que el semen convencional y el valor que representa producir una becerro a un becerro.

A todo esto se le suma que el producir más reemplazos para el uso del establo se debe tener en cuenta que un día se convertirán en vacas productoras de leche y por eso es necesario ser precavidos respecto a cual será su destino, en caso de tener donde vender excedentes de producción no habrá problema, de lo contrario se tendrá que vender a otros productores, por ejemplo. Se producirá más leche y puede bajar el precio de la misma y así mismo el precio de las vaquillas de reemplazo.

Estos factores son considerados por los productores de leche, por lo tanto, varía el uso de semen sexuado de un establo a otro. Existen varias razones que tienen que ver con la bioseguridad, ya que algunos ganaderos optan por no introducir becerras de otra parte que no sea de su establo.

Con todo y que se producen partos “fáciles” con el uso de semen sexuado, porque el tamaño de las becerras es mas pequeño en comparación de los becerros machos, puede verse un aumento de riesgos de enfermedad y

mortandad en la crianza, sobre todo en lugares donde no tienen un adecuado sistema de crianza.

En el análisis económico incluye también el número de servicios que se realizan en el caso de vaquillas y que por alguna razón no quedan preñadas, y cual será el destino de ese ganado, si no entraran a la línea de ordeña éstas serán vendidas a precio de bovino productor de carne (Olynk y Wolf, 2006; Feetrow *et al.*, 2007; De Vries, 2008). El uso de semen sexuado en vacas conduce a una reducida fertilidad, por eso algunos productores lo usan moderadamente o generalmente no es considerado.

## **2.5 El Uso Actual del Semen Sexuado**

El análisis económico sigue siendo el paso número uno de quien quiere hacer uso de esta tecnología y desde luego la revisión de resultados de las inseminaciones. Definitivamente se usa más en las vaquillas en la primera inseminación y una muy baja proporción en vacas.

Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y del laboratorio de mejoramiento animal revelaron que del 2006 a Abril del 2008 el 9.2% de las vaquillas Holstein habían tenido al menos un servicio con semen sexuado. (Hutchison y Norman, 2009).

En el 6.8% de las vaquillas inseminadas se uso semen sexuado y en el mismo periodo se reportó que el 2.4% de las vacas Holstein inseminadas al menos una vez se realizó con semen sexuado.

Los establos más grandes y los de más altas producciones de leche son los que usan con frecuencia el semen sexuado. El uso del semen sexuado ha crecido grandemente y da como resultado que la venta de máquinas para sexar semen haya incrementado de una manera importante.

En un estudio de Norman *et al.* (2010) se monitoreó el desempeño de vacas y vaquillas Holstein inseminadas con semen sexuado en los Estados Unidos (1.3 millones de inseminaciones) y en vacas (10.8 millones de inseminaciones). Se

monitoreó de acuerdo al año de las inseminaciones, el número de partos, el número de servicios, la región, el tamaño de hato y la producción lechera por hato. En el 2008, las inseminaciones con semen sexuado, fueron del 80.5% y del 68.6% para primeros servicios en vaquillas y vacas, respectivamente. En vacas, el 63.1% del semen sexuado durante el 2008 se utilizó en vacas de primer parto. La disponibilidad del semen sexuado fue examinada en toros Holstein activos; de 700 toros nacidos después de 1993, el 37% del semen sexuado se comercializó para mediados de agosto del 2009. El efecto del empleo del semen sexuado en la tasa de concepción, el sexo de la cría, las distocias y los natimortos también fueron evaluadas tanto en vaquillas como en vacas. La tasa de concepción promedio para vaquillas fue del 56% con semen convencional y del 39% con semen sexuado, correspondiendo las tasas de concepción para vacas del 30 y del 25%, respectivamente. Para los nacimientos de inseminaciones con semen sexuado, el 90% fueron hembras. Las distocias y los natimortos fueron más frecuentes en vaquillas (6 y 10.4%, respectivamente, con semen convencional; y el 4.3 y 11.3%, respectivamente con el semen sexuado). Los partos distócicos disminuyeron en un 28% en vaquillas y en un 64% en vacas con el uso de semen sexuado. Los natimortos fueron más prevalentes en nacimientos gemelares, excepto para vaquillas inseminadas con semen sexuado. Los natimortos de crías machos de vaquillas fueron más frecuentes de inseminaciones con semen sexuado (15.6%) comparado con los convencionales (10.8%). Esta diferencia no fue observada en vacas, ya que la frecuencia de natimortos de crías machos en partos simples disminuyó (2.6 contra un 3.6%). Estos datos indican que la frecuencia en general de natimortos se ve reducida con el empleo del semen sexuado en vacas, pero no en vaquillas.

El objetivo de un estudio de Marini y Galassi (2011) fue estudiar la relación entre la duración del período transcurrido entre la detección del celo y la inseminación con semen sexuado y el porcentaje de preñez en vaquillas Holstein y, en caso de existir, si dicha relación es afectada por el toro. Se evaluó información recolectada durante el año 2009 sobre 607 períodos celos–servicios



correspondientes a 607 vaquillas Holstein. Para los servicios efectuados durante el período analizado se utilizó semen de cinco toros. Se registraron observaciones de celos e IA durante cuatro veces por día. Las vaquillas se categorizaron de acuerdo al lapso transcurrido (horas) entre la detección del celo y su inseminación, en cuatro grupos: 9:00 a 10:59, 11:00 a 12:59, 13:00 a 14:59 y 15:00 a 17:00 horas. No hubo diferencias entre los distintos grupos y el porcentaje de preñez. Por otro lado, el efecto toro provocó diferencias significativas en el porcentaje de preñez. Estos autores concluyeron que en las inseminaciones efectuadas entre los lapsos estudiados después de la iniciación del celo no existen repercusiones negativas sobre el porcentaje de preñez, pero sí con el tipo de toro utilizado. En un estudio en Argentina se utilizaron ovocitos obtenidos a partir de ovarios de vacas sacrificadas en el rastro y diferentes dosis de semen sexuado y convencional proveniente de dos toros Holstein (Medina et al., 2002). La concentración de semen utilizada fue de  $1$  o  $2 \times 10^6$  espermatozoides para semen sexuado y  $1 \times 10^6$  espermatozoides para semen convencional. La tasa de fertilización obtenida con semen sexuado, aún con la mayor dosis utilizada, fue menor que con el semen convencional: toro A, 31% versus 77,3% y toro B, 52% versus 78,5%, respectivamente. El desarrollo embrionario con semen sexuado fue más bajo que con semen convencional, independientemente del toro y de la concentración espermática utilizada.

En otro trabajo, Palma et al. (2007) usaron semen sexuado de 6 toros Holstein para estudiar su eficiencia en un programa de producción in vitro de embriones y comparar la ultra estructura de estos embriones con la de aquéllos producidos con semen convencional. Los ovocitos ( $n= 1852$ ) provenientes de animales de rastro fueron divididos en 6 grupos y fecundados con semen sexuado de 6 toros Holstein o con semen convencional ( $n= 330$  ovocitos) de un toro control. Las tasas de división y desarrollo a blastocistos fueron determinadas a los 2 y 7 días post-inseminación, respectivamente. Cuando se utilizó semen sexuado, se observó una frecuencia significativamente alta de sesiones contaminadas. La cantidad de ovocitos fecundados en cada gota fue significativamente más baja con

semen sexuado. La tasa de división celular con el semen sexuado fue muy variable; con algunos toros se obtuvieron tasas que no difirieron del grupo control, mientras que con otros las diferencias fueron significativas.

En un trabajo realizado por Hayakawa et al. (2009) con vacas incluidas en programas comerciales de transferencia embrionaria, se efectuaron tres ensayos utilizando diferentes esquemas de inseminación y dosis de semen sexuado. En el primer ensayo utilizaron vaquillas que fueron inseminadas con semen sexuado y convencional 12 y 24 horas luego de haber sido detectadas en celo, utilizando  $5 \times 10^6$  espermatozoides en cada inseminación. Los porcentajes de ovocitos fecundados y de embriones transferibles fueron similares para semen sexuado y convencional, no obstante, el número de embriones transferibles fue menor para semen sexuado.

En un experimento de Kurykin et al. (2007) se evaluó la utilización del semen sexuado en un programa de IATF que incluyó 209 vaquillas Holstein, la sincronización de la ovulación se efectuó mediante dos dosis de PGF2 $\alpha$  separadas por 14 días. La inseminación se realizó a las 80–82 h post–2da dosis de PGF2 $\alpha$  utilizándose una dosis de  $2 \times 10^6$  espermatozoides, proveniente de toros Holstein. El semen fue depositado en diferentes sitios: el cuerpo del útero, la mitad de uno de los cuernos uterinos, o cerca de la unión útero–tubárica. Para determinar el cuerno donde depositar el semen se utilizó la ultrasonografía, con el objetivo de detectar la presencia de un folículo preovulatorio. En el momento de la inseminación, las vaquillas fueron clasificadas según la intensidad del celo, el cual podía ser fuerte o débil. Los porcentajes de preñez en inseminaciones efectuadas en el tercio anterior del cuerno uterino: 39% y en el tercio medio: 49% resultaron similares entre sí y no difirieron de las realizadas en el cuerpo del útero: 42%. En cambio, el porcentaje de preñez de vaquillas con signos intensos de celo (46%) fue superior al de aquellas con signos débiles (21%). Seidel y Schenk (2008) llevaron a cabo una serie de experimentos en los que se inseminaron vaquillas y vacas, utilizando semen congelado en dosis que oscilaron entre 1 y 6 millones de espermatozoides sexuados, los cuales fueron depositados en el cuerpo del útero o en el tercio medio de ambos cuernos uterinos. Como testigo, se usó semen

convencional con dosis de  $20 \times 10^6$  espermatozoides. Cuando se utilizaron dosis que variaron entre  $1.5$  y  $6 \times 10^6$  espermatozoides sexuales, el porcentaje de preñez resultó similar. Del mismo modo, el lugar donde se efectuó la descarga del semen no modificó los resultados. En cambio, cuando se utilizó la dosis  $1 \times 10^6$  espermatozoides, el porcentaje de preñez resultó inferior y la deposición del semen en los cuernos uterinos afectó negativamente la tasa de preñez. En la mayoría de estos experimentos, el porcentaje de preñez obtenido con el semen sexual fue menor que el logrado con el semen convencional. Factores como condición corporal, edad, manejo reproductivo y sanitario, y eficiencia en la detección de celo, fueron importantes para obtener una adecuada fertilidad.

En un trabajo muy similar al anterior, se comparó el porcentaje de preñez en vaquillas inseminadas con semen sexual con una dosis de  $2 \times 10^6$  espermatozoides y convencional cuya dosis fue  $15 \times 10^6$  espermatozoides. El experimento incluyó 9 toros Holstein, Jersey y Rojo Danés. Las diferencias en los porcentajes de preñez, siempre a favor del semen convencional fueron 12%, 7% y 5%, respectivamente (Borchersen y Peacock, 2009).

En un estudio pionero del uso de semen sexual, Seidel *et al.* (1999) llevaron a cabo un experimento donde se inseminaron 1,000 novillas con semen sexual y 370 con semen convencional. El semen utilizado era de 22 toros productores de carne o leche, de fertilidad desconocida. El semen fresco se sometió a la técnica de citometría de flujo. Los datos mostraron que el porcentaje de hembras fue cerca de 90%. Hubo una ligera diferencia en la tasa de preñez al comparar el semen fresco sexual y el semen congelado sexual. También hubo poca diferencia en las tasa de preñez al utilizar  $1.0$  a  $1.5 \times 10^6$  *versus*  $3.0 \times 10^6$  espermatozoides sexuales congelados. El uso del semen sexual no afectó la sobrevivencia de embriones entre el primer y segundo mes de preñez. El semen sexual tampoco afectó la integridad de los becerros nacidos de madres inseminadas con semen sexual.

Fricters *et al.* (2010) indican que hasta ahora no está claro por qué razón se reduce la fertilidad con semen sexual en la industria lechera. Se cree que esta

baja fertilidad es causada por el bajo número de espermatozoides por dosis o por el proceso de separación. Estos autores evaluaron el efecto de dosis reducidas de espermatozoides con o sin haberse sometido al proceso de sexuado, sobre la fertilidad de las vacas. También se evaluó el efecto de los toros, con el objeto de optimizar el uso de semen sexuado. Los resultados de este experimento muestran una disminución de 13.6% en la tasa de no retorno a los 56 días. Aproximadamente dos tercios de esta disminución se debió a la baja cantidad de espermatozoides por dosis, y una tercera parte de la disminución al proceso de separación. Se detectó una diferencia entre toros en cuanto a la tasa de no retorno. También se observó que se produjo un 91.6% de becerras cuando se utilizó el semen sexuado.

Borchencen *et al.* (2009) compararon las tasas de concepción, las tasas de no retorno y la proporción de machos y hembras con el uso de semen convencional o sexuado de los mismos toros en explotaciones comerciales de Dinamarca. El semen se produjo de 3 toros Holstein, 3 Jersey y 3 Rojo Danés (9 toros en total), con el objeto de detectar diferencias entre razas. La inseminación se llevó a cabo usando un mínimo de 150 dosis de semen sexuado y 50 dosis de semen no sexuado de cada toro. La tasa de concepciones con el uso de semen sexuado fue 5% menor que con el semen convencional en el caso de los toros Rojo Danés, en el caso de los toros Jersey se redujo 7 puntos porcentuales, y en el caso de los Holstein 12 puntos porcentuales. Hubo una diferencia de 10 a 20 puntos porcentuales entre toros en cuanto a tasa de no retorno. La proporción macho – hembra varió de 89 a 93 % a favor de la hembras. Otro estudio reciente se enfocó hacia la eficacia de la selección sólo de vacas lecheras lactantes “reproductivamente normales” para la inseminación artificial programada (Ovsynch) con semen sexuado (Crichton *et al.*, 2006). Todas las vacas (de 1 a 9 lactancias) se enrolaron inicialmente en un programa Presynch (dos inyecciones de prostaglandina con 14 días de intervalo). Se realizó ultrasonografía aproximadamente 14 días después de la segunda inyección de prostaglandina y sólo se enrolaron en el programa Ovsynch las vacas con estado normal del ovario y el útero (55% del total evaluado). Se realizó la inseminación artificial de 16 a 19

horas después de la segunda inyección de GnRH o del Ovsynch. Las tasas generales de concepción fueron 40.4% para las vacas que recibieron el semen sexuado y 55.6% para las que recibieron el semen convencional sin sexar. La tasa de concepción obtenida con el semen sexuado fue 72.6% de la obtenida con el semen sin sexar. Aun cuando estos autores concluyeron que las tasas de concepción obtenidas en las vacas lactantes, reproductivamente normales y presincronizadas, después de la inseminación artificial programada eran aceptables, estos autores advierten que en su estudio se usaron pocas vacas (aproximadamente 115 animales) por lo que su interpretación debe tomarse con precaución.

### **III.- MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 Descripción del Área de Estudio**

El presente estudio fue realizado en la Comarca Lagunera en un establo comercial con alrededor de 2,400 vacas Holstein en ordeña. El mencionado establo se ubica en el municipio de Francisco I madero, Coahuila, México. La localización geográfica donde se identifica a la unidad de producción lechera tiene de latitud 25° 54´Norte y Longitud 103° 17´ Oeste, con una altitud de 1140 msnm. La zona donde se desarrolló el estudio presente un clima desértico, con una precipitación anual de 230 mm y una temperatura anual promedio de 27° C en verano y una temperatura mínima de -5° C en invierno. Presenta una humedad relativa promedio de 58%, con una máxima de 83% y como mínima de 29% (CONAGUA, 2008). Se presentan vientos máximos de 5 km/h y la evaporación es de 2,500 mm anual.

#### **3.2 Vaquillas y el Manejo Aplicado**

Para el presente estudio se utilizaron 61 animales de características semejantes, esto es, vaquillas de edades semejantes con una edad promedio en días de 426 al primer celo, las cuales se mantuvieron en un constante monitoreo (observación visual) para la detección del celo y su oportuno servicio (12 h después de que se detectaba el celo). El diagnóstico de preñez se realizó a los 40 días post-inseminación por parte del MVZ encargado del diagnóstico de gestación, por medio de la palpación transrectal.

La alimentación de estas novillas fue a base de forraje y concentrado a una razón de 90:10 correspondientemente, 2 veces al día con respecto a sus necesidades nutricionales, o a la etapa fisiológica (crecimiento). El suministro de agua se proporciono a libre acceso.

Las novillas para el estudio tuvieron que cumplir con una condición corporal de 3.5 puntos (escala de 1 a 5), debían estar clínicamente sanas y aptas para su reproducción, con un peso mínimo de 340 kg.

Las vaquillas fueron distribuidas al azar en dos grupos según el lugar de IA: Cuerpo, se depositó el semen en el cuerpo del útero al momento de la IA y Cuerno, se depositó el semen en el tercio medio del cuerno del útero ipsilateral al folículo preovulatorio, determinado previamente por palpación transrectal.

### **3.3 Análisis Estadístico:**

Para las tasas de preñez Se llevó a cabo un análisis para variables categóricas, utilizando el procedimiento GENMOD de SAS (SAS Institute, Raleigh, North Caroline)

## IV. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

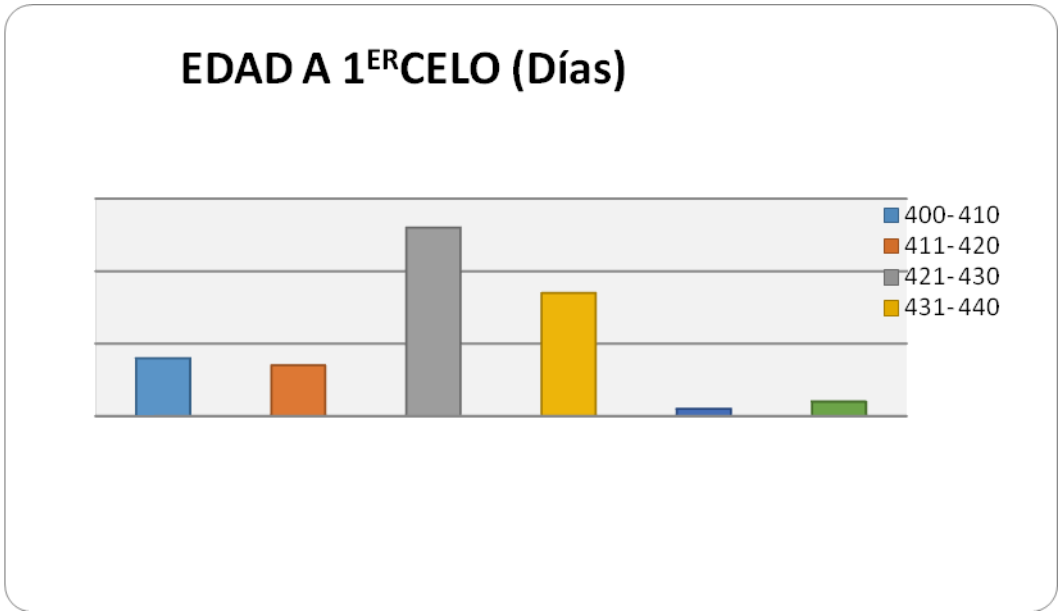
### 4.1 Edad al Primer Celo

La edad promedio al primer celo en las vaquillas Holstein con las características propias del Municipio Francisco I madero, Coahuila fue de 426 días. Como se muestra en la Figura 1 con los 6 grupos realizados con un rango de 10 días cada uno de ellos. 7 % de las vaquillas presentaron celo entre los 400 y 410 días, mientras que algunas vaquillas (3%) requirieron más de 450 días para mostrar celo. Estos datos muestran que la mayoría de las vaquillas estaban en posibilidad de tener su primer parto alrededor de los dos años, lo cual es la meta de establos lecheros intensivos. Estos datos son cercanos a los reportados por otros autores quienes han señalado 438 y 423 días a primera inseminación en vaquillas con una dieta convencional o sobrealimentadas (Davis-Rincker *et al.*, 2011).

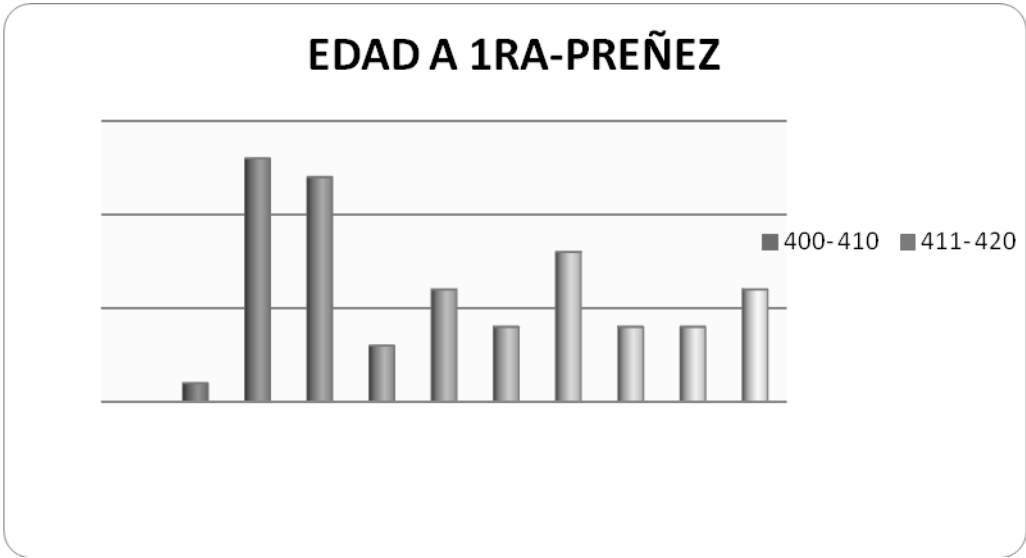
### 4.2 Edad Promedio a Primera Preñez

En la Figura 2, se puede observar el intervalo entre el primer celo hasta la preñez. La mayor parte de las vaquillas quedaron gestantes entre los 421 y 440 días de edad, lo cual indica que la mayor parte de las vaquillas de este estudio parieron a los dos años de edad.





**Figura 1.** Edad (promedio= 426 días) al primer celo de novillas Holstein en Francisco I madero, Coahuila, México.



**Figura 2.** Edad a la preñez (promedio =430 días) de novillas Holstein en Francisco I madero, Coahuila, México.

### 4.3 Comparación de Métodos de Inseminación

Como se muestra en el Cuadro 1, tanto la tasa de preñez como los servicios por preñez no difirieron entre vaquillas inseminadas con semen sexuado depositado en el cuerno del útero o cuerpo del útero. La tasa de preñez del presente estudio es mayor a lo observado por Mellado et al. (2010) con vacas Gyr X Holstein, pero es muy inferior a lo observado por Sá Filho *et al.* (2010), quienes alcanzaron tasas de preñez de alrededor de 50% con semen sexuado en novillas, aunque en este último estudio el programa reproductivo incluyó el uso de GnRH.

**Cuadro 1.** Comportamiento reproductivo de vaquillas Holstein manejadas intensivamente en el norte de México e inseminadas en cuerpo o en el cuerno uterino.

Tratamiento	Preñez (%)	Servicios por preñez (media ± DE)
Inseminación en cuerpo	20/66 (30.3)	2.13 ± 1.23 (n=31)
Inseminación en cuerno	20/71 (28.2)	2.37 ± 1.19 (n= 30)

Para las dos variables no se detectaron diferencias ( $P > 0.10$ ).

Otros investigadores han mejorado notablemente la tasa de preñez de las vacas con inseminación profunda en el cuerno del útero en comparación con el cuerpo del útero (67.4 vs. 48.8%) con bajas dosis de espermatozoides (Meirelles *et al.*, 2012). Sin embargo existen también reporte de no diferencias entre la deposición del semen en el cuerpo o cuerno del útero en vacas (Verberckmoes *et al.*, 2005) con dosis de semen de 2, 4, 8 o 12 millones de espermatozoides). Kurykin *et al.* (2006), por otra parte encontró una tendencia a mejorar la tasa de concepción al depositar los espermatozoides en el cuerno de útero, comparado con el cuerpo uterino.

Con base a estudios realizados es recomendable la utilización del semen sexuado en animales de primer servicio (novillas) esto por producir animales (hembras) mas ligeros y su mayor fertilidad, en comparación del vacas multíparas. Sin embargo, estos datos no apoyan la hipótesis que entre más cercano se deposite el semen sexuado del sitio de la fertilización resulta en mayores tasas de concepción.

## **V. – CONCLUSIONES**

La deposición del semen sexuado en el cuerno uterino ipsilateral a la presencia del folículo próximo a ovular no incrementó la tasa de preñez de vaquillas Holstein, al comparar esta técnica con la deposición del semen en el cuerpo uterino. Lo anterior sugiere que, a pesar de la baja densidad de espermatozoides usados con semen sexuado, el “acercar” los espermatozoides al sitio de la fertilización no cambia el número de células espermáticas que llegan al encuentro del óvulo en el oviducto.

## VI. - LITERATURA CITADA

Borchersen, S., Peacock, M. 2009. Danish A.I. field data with sexed semen. *Theriogenology*, 71, 59–63.

CONAGUA, 2008

Crichton, E.G., Huffman, S.W., McSweeney, K.D., Schenk, J.L. 2. Artificial insemination of lactating Holstein cows with sexed sperm. In: Proc. Int'l. Emb. Transf. Soc., Orlando, FL, 2006 p. 281. (Abstr.)

Cui, K.H., 1997. Size differences between human X and Y spermatozoa and prefertilization diagnosis, *Molecular Human Reproduction*, 23, 11-20.

L.E. Davis-Rincker, M. J. VandeHaar , C. A. Wolf , J. S. Liesman , L. T. Chapin , M. S. Weber Nielsen Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. *J. Dairy Sci.* 94, 3554–3567

DeJarnette, J. M., R. L. Nebel, and C. E. Marshall. 2009. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology*, 71, 49-58.

Domínguez, J.H.E, Costa D.S, Centurion, V.J., Faria, F.J.C. 2011. Pregnancy rate of Nelore females inseminated with male-sexed semen. *Animal Reproduction Science*, 129, 127-131.

Frijters, A.C.J., Mullaart, E., Roelofs, R.M.G., van Hoorne, R.P., Moreno, J.F., Moreno, O., Merton, J.S. 2009. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology*, 71, 64–67.

Hayakawa, H., Iría, T., Takimoto, A., Ideta, A., Aoyagy, Y. 2009. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm *Theriogenology*, 71, 68–73.

- Johnson, L.A., Flook, J.P., Look, M.V., 1987. Flow cytometry of X and Y chromosome-bearing sperm for DNA using an improved preparation method and staining with Hoechst 33342, *Gamete Research*, 47, 203-212
- Keeler, K.D., Mackenzie, N.M., Dresser, D.W., 1983. Flow microfluorometric analysis of living spermatozoa stained with Hoechst 33342, *Journal Reproduction and Fertility*, 68, 205-212.
- Kurykin, J., Jaakma, U., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A., Majas, L. 2007. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm and different sites whiting the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*, 67, 754-759.
- Kurykin J, Jaakma U, Waldmann A, Jalakas M, Aidnik M, Majas L, Padrik P. Low semen dose intracornal insemination of cows at fixed time after PGF2 $\alpha$  treatment or at spontaneous estrus. *Animal Reprod Sci*. 2006; 95:116-24.
- Marini, P.R., Galassi, I. 2011. Relación entre celo-inseminación con semen sexuado y porcentaje de preñez en vaquillas Holstein. *Revista Veterinaria*, 22, 52-54.
- .
- Medina M, Cattaneo L, Caballero J, Cerrate H, Panarace M, Ferré L, Dalla Lasta M. 2002. Semen sexuado y congelado en Argentina. Resultados de su utilización en programas de inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización *in vitro*. *Taurus* 13, 4-8.
- C. Meirelles<sup>I</sup>; L. Ernandes-Kozicki<sup>I,\*</sup>; R.R. Weiss<sup>II</sup>; M. Saporiski-Segui; A. Souza; I.W. dos Santos<sup>II</sup>; J.C. dos Santos-Breda. Comparison between deep intracornual artificial insemination (dIAI) and conventional artificial insemination (AI) using low concentration of spermatozoa in beef cattle. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 55, 371-374.
- Mellado, M., Coronel, F., Estrada, A. Ríos, F.G., 2010. Fertility in Holstein  $\times$  Gyr cows in a subtropical environment after insemination with Gyr sex-sorted semen, *Tropical Animal Health and Production*, 42, 1493-1496

- Morrell, J.M., Dalen, A.M., Rodriguez-Martinez, H., 2008. Prolongation of stallion sperm survival by centrifugation through coated silica colloids: a preliminary study, *Animal Reproduction*, 5, 121–126
- Nava A. 2012. Tasa preñez y tasa de hembras con novillas Holstein inseminadas con semen sexuado y convencional en la comarca Lagunera. Tesis Licenciatura UAAAN. Saltillo, México
- Norman, H.D., Hutchison, J.L., Miller, R.H. 2010. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *Journal of Dairy Science* 93, 3880-3890.
- Palma, G.A., Olivier N., Neumuller C., Sinowatz F. 2007. Efecto del semen sexuado por medio de citometría de flujo sobre la eficiencia de la fecundación *in vitro* y la ultra estructura de blastocistos producidos *in vitro*. Resúmenes del VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba (Argentina), p. 205.
- Sá Filho, M.F, Ayres, H., Ferreira, R.M., Nichia, M., Fosado, M., Campos-Filho, E.P, Baruselli, P.S. 2010. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology*, 74, 1636–1642.
- Seidel, Jr. G.E., 1999. Sexing mammalian sperm and embryos—state of the art, *Journal of Reproduction and Fertility Suppl*, 54, 475–485
- Seidel GE, Schenk JL. 2008. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Anim. Reprod. Sci.* 105: 129–138.
- Seidel GE, Schenk JL, Herickhoff SP, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, 52,1407–1420.
- Seidel Jr. G.E. 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology*, 68, 443–446.

Verberckmoes S, Soom AV, Dewulf J, Thys M, de Kruif AA. Low dose insemination in cattle with the Ghent device. *Theriogenology* 2005; 64:1716-28.

Weigel, K. 2004. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *J. Dairy Sci.* 87:(E. Suppl.):E120-E130.

Williamson, S., 2004. Sex (1st) selection?, *Medical Law International*, 6, 185-206