

**Evaluación de la fertilidad de semen sexado
con HeiferPlus™ en vacas de ganado de
carne**

**Carlos Miguel Jaar Quiñonez
Samuel Armando Ventura Diaz**

**Zamorano, Honduras
Honduras**
Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación de la fertilidad de semen sexado con HeiferPlus™ en vacas de ganado de carne

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingenieros Agrónomos en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

**Carlos Miguel Jaar Quiñonez
Samuel Armando Ventura Diaz**

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2015

Evaluación de la fertilidad de semen sexado con HeiferPlus™ en vacas de ganado de carne

Presentado por:

Carlos Miguel Jaar Quiñonez
Samuel Armando Ventura Diaz

Aprobado:

Isidro A. Matamoros, Ph.D.
Asesor principal

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia
y Producción Agropecuaria

Kenia David, Ing. Agr.
Asesor

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Guillermo Zelaya, Ing. Agr.
Asesor

Evaluación de semen sexado con HeiferPlus™ en vacas de ganado de carne

Carlos Miguel Jaar Quiñonez y Samuel Armando Ventura Diaz

Resumen. El sexado del semen es una herramienta muy utilizada recientemente en las explotaciones ganaderas ya que este nos brinda la facilidad de determinar el sexo que deseamos en nuestras próximas generaciones. Se utilizaron vacas Brahman puras y sus cruces con Senepol, Simmental y Charolais. El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana, El Paraíso Honduras y tuvo como objetivo principal determinar la fertilidad utilizando HeiferPlus™ que es un producto utilizado para el sexado de semen en finca lo cual aumenta la producción de hembras en el hato. Las vacas fueron sincronizadas con un implante intravaginal DIV-B® para luego ser inseminadas con Semen Convencional (SC) tratado con HeiferPlus™; las cuales fueron comparadas con vacas inseminadas con Semen Convencional (SC) y Semen Convencional con HeiferPlus™ (SCHP). El porcentaje de preñez a primer servicio difiere ($P \leq 0.05$) entre SC (21.05%) y SCHP (34.5%), donde a su vez el número de servicios por vaca preñada fue de 2.88 para SC y 4.75 para SCHP, respectivamente. El porcentaje de preñez a segundo servicio no difiere entre SC y SCHP; sin embargo, el número de servicios por vaca preñada al segundo servicio difiere entre SC (2.22) y SCHP (3.40). El porcentaje de preñez acumulada no presentó diferencias entre SC y SCHP; sin embargo, el número de servicios por vaca preñada acumulada fue de 2.78 para SC y 3.38 para SCHP, los cuales fueron diferentes entre sí ($P \leq 0.05$). En conclusión el uso de HeiferPlus™ para sexar semen en finca, presenta mayores servicios por vaca preñada.

Palabras clave: Fertilidad, Inducción, Preñez, Servicios,

Abstract. Sexed semen has been recently used for farming purposes as this gives us the ability to determine the sex we want in our next generation. Pure Brahman, Senepol, Simmental and Charolais crosses cows were used. The study was conducted at the Escuela Agrícola Panamericana, El Paraiso, Honduras. The main objective was to determine fertility using HeiferPlus™ which is a product used for sexing semen in the farm which increases the production of females in the herd. The cows were synchronized with intravaginal implant DIV-B® then they were inseminated with Conventional Semen (SC) treated with HeiferPlus™ (SHCP); which were compared with conventional semen (SC). The pregnancy rate to first service different ($P \leq 0.05$) between SC (21.05%) and SHCP (34.5%), whereas in turn the number of services per pregnant cow was 2.88 and 4.75 for SC and SHCP, respectively. The pregnancy rate at second service does not differ between SC and SHCP; however, the number of services per pregnant cow to the second service differs between SC (2.22) and SHCP (3.40). The cumulative pregnancy rate was not different between SC and SHCP; however, the cumulative number of services per pregnant cow was 2.78 and 3.38 for SC to SHCP, which were different from each other ($P \leq 0.05$). In conclusion using HeiferPlus™ sexed semen increases services for pregnant cow.

Keywords: Fertility, Pregnancy, Service, Synchronization.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4. CONCLUSIONES.....	7
5. RECOMENDACIONES.....	8
6. LITERATURA CITADA.....	9
7. ANEXOS.....	11

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Distribución de protocolo.....	3
2. Porcentaje de Preñez a Primer Servicio (PPPS), Porcentaje de Preñez a Segundo Servicio (PPSS) y Porcentaje de Preñez Acumulado (PPA) con ambos tratamientos.....	5
3. Número de Servicios por Vaca Preñada al Primer Servicio (NSVPPS), Número de Servicios por Vaca Preñada al Segundo Servicio (NSVPSS).....	6
4. Número de Servicios por Vaca Preñada (NSPVP).....	6
Anexos	Página
5. Preparación de pajuelas para inseminación.....	11

1. INTRODUCCIÓN

El adecuado manejo nutricional es un punto clave para el mantenimiento de la productividad en un sistema ganadero, ya que hay una fuerte influencia los índices zootécnicos especialmente en los parámetros reproductivos. Los productores y técnicos conocen la importancia de la nutrición en el desempeño productivo de rumiantes; innumerables tecnologías han sido adoptadas con el objetivo de atender las altas exigencias nutricionales desencadenadas por la intensa selección genética buscando la producción de carne y leche (Pires *et al.* 2011). La nutrición puede ser la causa principal de la pérdida de fertilidad en las hembras bovinas (Correa 2000) y es manejada de manera muy empírica, incluso en muchas explotaciones tecnificadas, lo que sin duda puede afectar el desarrollo de la inseminación artificial (Restrepo 2007).

La razón principal de emplear la inseminación artificial en bovinos es incrementar la utilización de material genético superior. De esta forma se acelera el mejoramiento de los rebaños y se obtiene un valor genético superior con cada generación (Urdaneta y Olivares 1985). La relevancia de la inseminación artificial en el mejoramiento de los parámetros reproductivos y productivos de la ganadería mundial es sumamente alta. El uso extendido de la inseminación artificial ha permitido a la industria lechera mundial adquirir avances espectaculares en el mérito genético del ganado lechero para la producción de leche (Hansen 2004).

La Inseminación Artificial ha mostrado que su uso ha tenido un enorme beneficio económico sobre el mejoramiento en la producción de leche así como ser un mecanismo de dispersión de genes de la mejor calidad, de la misma manera ayuda en el control de enfermedades venéreas y otras enfermedades de esta manera ayudando en la reducción de genes letales (Watson 1990).

El número de espermatozoides en un eyaculado sobrepasa mucho al necesario para asegurar la fertilización del óvulo, por esta razón la inseminación artificial permite así fertilizar un gran número de animales con un eyaculado (Vélez *et al.* 2002).

La principal causa de fallas en los programas de inseminación artificial es la pobre detección de celos, causante de bajas tasas de concepción y por ende de los largos intervalos entre partos, al no permitir obtener la preñez antes de los 85 días posparto, para adquirir un ternero cada 12.5 meses (Graves y McKee 2003).

La ventaja de la ovulación sincronizada incluye la eliminación de una buena parte del tiempo dedicado a la detección de celos en los programas de inseminación artificial, haciéndola más factible. Se logra el agrupamiento de la descendencia, de modo que se pueden tener lotes uniformes de terneros para la engorda o la venta (Zelaya Acosta 2008).

En los mamíferos el sexo está determinado por los cromosomas X o Y; siendo la combinación cromosómica XX en las hembras y XY en los machos. El sexado de semen se basa en la cantidad de ADN que hay entre el cromosoma X y Y. Las características de la membrana plasmática, el citoplasma y los autosomas de los espermatozoides entre machos y hembras son iguales, estos cromosomas se diferencian en tamaño siendo el cromosoma X el más grande y por el que tendrá mayor cantidad de ADN (Sobrados 2013).

Desde hace mucho tiempo ha existido interés por poder predeterminar el sexo de la descendencia, después de varios intentos con resultados poco confiables, el método más exitoso es el de la separación a través de la técnica de citometría de flujo desarrollada por el Dr. Lawrence Johnson, técnica que luego fue patentada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en 1992 (Arroyo 2008). La técnica se basa en la mayor cantidad de ADN que existe en los espermatozoides portadores de un cromosoma "X" respecto a los espermatozoides portadores de un cromosoma "Y", éstos necesarios ya que con su presencia dan origen a un individuo de sexo macho; en el caso de los bovinos, los espermatozoides con cromosoma "X" tienen un 3,8 por ciento más de ADN que los que portan un cromosoma "Y". El semen es teñido con un colorante (Hoechst 33342) que penetra la membrana espermática y se adhiere al ADN, y tiene la propiedad de producir fluorescencia cuando se lo somete a la luz de un rayo láser: a mayor cantidad de ADN (espermatozoides con cromosoma "X"), mayor fluorescencia o luminosidad. Mediante la utilización de un aparato "separador de células" se detecta esa diferencia en la fluorescencia de los espermatozoides, la cual es procesada por un software que permite seleccionar la población de espermatozoides con mayor o con menor luminosidad para luego seleccionarlos y desviarlos del flujo original (Arroyo 2008).

Estudios realizados por EMLAB Genetics, demuestran que el HeiferPlus™ no ocasiona un descenso en el porcentaje de concepción del hato (Reidhead 2007). HeiferPlus™ estimula la determinación del sexo al intervenir la fertilidad y motilidad del cromosoma femenino X de los espermatozoides, mientras que frena la fertilidad y motilidad del cromosoma masculino Y. Cuando se realiza la inseminación los espermatozoides son ordenados en el tracto reproductivo. El resultado es obtener más óvulos fecundados por los espermatozoides X para poder obtener más hembras (EMLAB Genetics 2009).

El objetivo del estudio fue evaluar la fertilidad a partir del HeiferPlus™ en ganado de carne. Determinando los porcentajes de preñez y número de servicios por vaca preñada.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la unidad de Ganado de Carne en la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, ubicada en el kilómetro 30 de la carretera que conduce a la ciudad de Danlí, El Paraíso, Honduras. En los meses de febrero a junio de 2015, con una altura promedio de 800 msnm, una precipitación promedio anual de 1100 mm y una temperatura promedio de 26° C.

Se utilizaron 76 vacas Brahman puras y sus respectivos cruces con Holstein, Pardo Suizo, Senepol, Simmental y Charolais, previamente palpadas para confirmar su salud reproductiva. Se utilizaron vacas horras, con ternero al lado y vaquillas a primer servicio.

Los criterios de inclusión para este estudio fueron animales con una condición corporal entre 5 y 7 en una escala de 1 a 9, sistema reproductivo completamente funcional libre de enfermedades y con un mínimo de 45 días posparto.

Se dividió el grupo de vacas en dos lotes: el grupo horro que son las vacas vacías sin ternero y el grupo de las vacas recién paridas (con ternero al lado). Las vacas fueron tonificadas con Vitaminas AD₃E (Vitadel[®]), Selenio (SeVe[®]), fuente mineral de calcio y fosforo (Catofos[®]) y Complejo B (Compol B[®]). Previo al inicio de la monta estacional las vacas fueron sometidas a un protocolo de inducción de ovulación para el proceso de monta (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de protocolo

Día 0	Día 8 (días 9 a 11)	IACD
DIV-B [®] + 2mg BE	Retirar DIV-B [®] + 500µg PGF ₂ α (Ciclase [®]) + 400UI eCG (Novormón [®]) + 1mg BE	150µgGnRH

BE: Benzoato de Estradiol

eCG: Gonadotropina Coriónica Equina

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas

PGF₂α: Prostaglandina F₂ alfa

IACD: Inseminación A Celo Detectado.

DIV-B[®]: Dispositivo intravaginal

Para la inseminación artificial utilizando Semen Convencional (SC) + HeiferPlus™ se siguió el procedimiento recomendado por EMLAB Genetics y se detalla a continuación:

- Descongelar el producto en agua a 35°C por 30 segundos
- Descongelar el SC a 35°C por 35 segundos
- Secar el frasco y la pajilla de semen
- Perforar la membrana superior del frasco con una aguja para facilitar la introducción de la pajilla de semen dentro de ella
- Hacer un corte en un ángulo de 45° a la pajilla de semen convencional
- Introducir la pajilla de SC hasta dos terceras partes del frasco
- Hacer un movimiento brusco de muñeca sosteniendo firmemente la pajilla y el frasco en su lugar hasta que todo el semen ya descongelado quede dentro del frasco
- Mezclar por tres a cuatro segundos
- Retirar la pajilla de semen hasta que solo quede un centímetro aproximadamente dentro del frasco
- Regresar el semen a la pajilla repitiendo el movimiento brusco de muñeca sosteniendo firmemente la pajilla y frasco en su lugar.
- Incubar por 21 minutos en agua a 35°C este proceso se debe llevar a cabo sin separar el frasco de la pajilla
- Retirar y secar la pajilla y el frasco del agua
- Secar la pajilla
- Introducir a la pistola de inseminación y hacer corte horizontal (EMLAB Genetics 2009).

El momento de inseminación fue a celo detectado (Cuadro 1) siguiendo la regla de AM-PM, PM-AM, de tal forma que las vacas fueron inseminadas con un mínimo de 10 horas hasta un máximo de 18 horas luego del celo detectado. La detección de celo se hizo con vaqueros en turnos de vigilancia.

Las variables a medir fueron Porcentaje de preñez primer servicio, Porcentaje de preñez a segundo servicio, Porcentaje de preñez acumulado se obtuvo dividiendo el número de vacas preñadas entre el total de vacas que entraron a monta para cada servicio, Número de servicios por vaca preñada, Número de servicios por vaca preñada a primer servicio y Número de servicios por vaca preñada a segundo servicio el cual se obtuvo determinando el número de pajillas necesarias para obtener una preñez para el número de vacas que se inseminaron en cada servicio.

Se utilizó estadística descriptiva para comparar el desempeño reproductivo de vacas con celos sincronizados, luego se realizó análisis de varianza para variables numéricas, mientras que para las variables porcentuales fueron analizadas con una prueba de Chi-cuadrado utilizando un diseño completo al azar, usando un sistema computarizado de análisis estadístico (SAS® 2013). El nivel de significancia exigido fue de ($P \leq 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de Preñez a Primer Servicio (PPPS). Hubo una diferencia ($P \geq 0.05$), SC con 34.50% y 21.05% para SC + HeiferPlus™ (Cuadro 2). Sin embargo, EMLAB Genetics (2009) quien produce el HeiferPlus™ afirma que normalmente cuando se utiliza semen sexado los porcentajes de preñez se ven reducidos pero con el uso de SC + HeiferPlus™ los porcentajes de preñez son igual a el uso de SC. Rentería Briceño y Soto García (2013) evaluaron porcentajes de preñez con Semen Sexado y SC en vaquillas encontraron un PPPS de 64.4% utilizando SC y 54.4% para Semen Sexado (Cuadro 2).

Porcentaje de Preñez al Segundo Servicio (PPSS). No se encontró diferencia ($P \geq 0.05$) entre SC con 42.53% y 45.00% para SC + HeiferPlus™ (Cuadro 2). A diferencia de Rentería Briceño y Soto García (2013) quienes encontraron diferencia a favor del semen sexado, con un PPSS de 54.4% para SC y 70.4% con Semen Sexado (Cuadro 2).

Porcentaje de Preñez Acumulado (PPA). No hubo diferencia ($P \geq 0.05$), en la comparación entre SC con 51.00% y 56.58% para SC + HeiferPlus™. Según estudios de EMLAB Genetics (2009) la empresa creadora del producto se debe esperar el mismo porcentaje de preñez que con SC. Comparando con Türk *et al.* (2015) quienes evaluaron las fertilidades y cantidad de hembras nacidas en vacas de la raza Holstein con un porcentaje de preñez acumulado a 23 días de no retorno a celo (NRC) de 52% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de Preñez a Primer Servicio (PPPS), Porcentaje de Preñez a Segundo Servicio (PPSS) y Porcentaje de Preñez Acumulado (PPA) con ambos tratamientos

Tratamiento	Nº Vacas	PPPS (%)	PPSS (%)	PPA (%)
SC	200	34.50 ^a	42.53 ^a	51.00 ^a
SC + HeiferPlus™	76	21.05 ^b	45.00 ^a	56.58 ^a
Probabilidad		0.03	0.77	0.41

^{ab}= Medias en la misma columna seguidas por diferentes letra, difieren entre sí ($P \leq 0.05$)

SC= Semen Convencional

Número de Servicios por Vaca Preñada al Primer Servicio (NSVPPS). Hubo diferencia ($P \leq 0.05$). Para SC + HeiferPlus™ se encontró una media de 4.75 servicios y para SC una media de 2.88 servicios por concepción beneficiando al SC (Cuadro 3).

Número de Servicios por Vaca Preñada al segundo servicio (NPVPSS). No hubo una diferencia entre las pajuelas con SC y pajuelas con SC + HeiferPlus (Cuadro 3).

Número de Servicios por Vaca Preñada (NSVP). Hubo una diferencia con una probabilidad de 0.0003 con una media de 2.78 para SC y una media de 3.38 para el SC+ HeiferPlus™ (Cuadro 4). Estos datos difieren a los obtenidos por Rentería Briceño y Soto García (2013) en los cuales necesitan una menor cantidad de servicios para preñar una vaca utilizando SC con una media de 1.80.

Cuadro 3. Número de Servicios por Vaca Preñada al Primer Servicio (NSVPPS), Número de Servicios por Vaca Preñada al Segundo Servicio (NSVPSS).

Tratamientos	NSPPS	NSVPSS
SC	2.88 ^a	3.40 ^a
SC + HeiferPlus™	4.75 ^b	2.22 ^b
Probabilidad	<.0001	<.0001
CV%	30.44	16.86

^{ab}: Medidas en la misma columna seguidas por diferentes letras, difieren entre sí ($P \leq 0.05$)

SC: Semen Convencional

CV: Coeficiente de variación

Cuadro 4. Número de Servicios por Vaca Preñada (NSPVP)

Tratamiento	NSVP
SC	2.78 ^a
SC + HeiferPlus™	3.39 ^b
Probabilidad	0.0003
CV %	30

^{ab}: Medidas en la misma columna seguidas por diferentes letras, difieren entre sí ($P \leq 0.05$)

SC: Semen Convencional

CV: Coeficiente de variación

4. CONCLUSIONES

- El porcentaje de preñez a primer servicio fue menor cuando se usó Semen Convencional que fue sexado con HeiferPlus™.
- No hubo diferencias en las variables de porcentaje de preñez a segundo servicio (PPSS) y porcentaje de preñez acumulado (PPA) cuando se compara el uso de Semen Convencional con semen sexado con HeiferPlus™.
- Se utilizan más servicios para obtener una preñez utilizando Semen Sexado con HeiferPlus™.
- En la variable de número de servicios por vaca preñada a segundo servicio (NSVPSS) hubo menor efectividad utilizando Semen Sexado con HeiferPlus™ a diferencia de semen convencional ya que se utilizan menos servicios para obtener una preñez con HeiferPlus™.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar el porcentaje de hembras nacidas de vacas preñadas con HeiferPlus™.
- Evaluar las mismas variables de este estudio utilizando SC + HeiferPlus™ en un hato Lechero.
- Evaluar la capacidad de sexado comparando SC + HeiferPlus™ y semen sexado.
- Se recomienda el uso de HeiferPlus™ para sexar semen en finca, como herramienta de manejo reproductivo.

6. LITERATURA CITADA

Arroyo, A. 2008. Sexado de semen una nueva herramienta para la producción de carne. *Angus*. 37-39.

Correa, H. 2000. Relación producción-reproducción en hatos de alto potencial genético y propuestas nutricionales para mejorarla. Universidad Nacional de Colombia, Medellín: Documento sin publicar.

EMLAB Genetics, 2009. [Emlabgenetics.com](http://www.emlabgenetics.com/Pages/HEIFERPLUS.aspx). Consultado 17 de Julio de 2015. Disponible en <http://www.emlabgenetics.com/Pages/HEIFERPLUS.aspx>

Graves, W. y I. McKee, 2003. Dairy herd synchronization programs. *Valley State University Bulletin*.

Hansen, P. B. J. 2004. Towards an embryo centric world; the current and potential uses of embryo technologies in dairy production. *Reproduction Fertility and Development*. 1-14.

Pires A, C. Ribeiro, y C. Mendes. 2011. Aspectos nutricionais relacionados à reprodução. Págs. 537-563 En: Berchielli, T.T., Pires, V.A., De Oliveira, S.M. *Nutrição de ruminantes (2ª edição)*, Jaboticabal: FUNEP.

Reidhead, P. 2007. \$6.50/Vial: HeiferPlus™ Dramatically Boosts Heifer Calf Numbers. *The Milkweed*. 6-7p.

Rentería Briceño, C. y S. Soto García, 2013. Evaluación del uso de semen sexado contra semen convencional en vaquillas de leche en la finca de Ingeniería Agrícola y Ganadera S.A. (IAGSA), Comayagua, Honduras. Tesis Ing. Agr., El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamerica. 12 p

Restrepo, G. 2007. Biotecnologías reproductivas aplicables a la producción bovina en Colombia. Medellín: Grupo de investigación en biotecnología animal.

SAS®. 2013 SAS User Guide. Statistical Analysis Institute Inc. Cary N.C.

Sobrados M. S. R. 2013. Espermatozoides *in vitro*. Universidad de Oviedo, Oviedo.

Türk, G., M. Yuksel, M. Sonmez, S. Gur, S. Kaya y E. Demirci1 2015. Effects of semen sexing kits (Heiferplus™ and Bullplus™) supplemented to frozen-thawed bull semen on pregnancy rates, fetal sex ratios and selected reproductive parameters in caws. Veterinární Medicina. p 309-313.

Urdaneta R. y R. Olivares. 1985. Uso de la Técnica de Inseminación Artificial en Bovinos. FONAIAP Divulga. 3 pag

Vélez M, I. Matamoros, J.J. Hincapié y R. Santillán. 2002. Producción de Ganado Lechero en el Trópico Zamorano, Francisco Morazán, Honduras: Zamorano Academic Press. p 135.

Watson, P. 1990. Artificial insemination and preservation of semen. Laming Ge Editor. En Marshall's physiology of reproduction. Inglaterra Edinburgh Churchill Livingstone: p 747-869.

Zelaya Acosta, G. 2008. Sincronización de celo en ganado de carne para la introducción de la Inseminación Artificial y utilización de semen sexado para el mejoramiento genético del hato. Tesis Ing. Agr., El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana, 13 p.

7. ANEXOS

Anexo 1 Preparación de pajuelas para inseminación

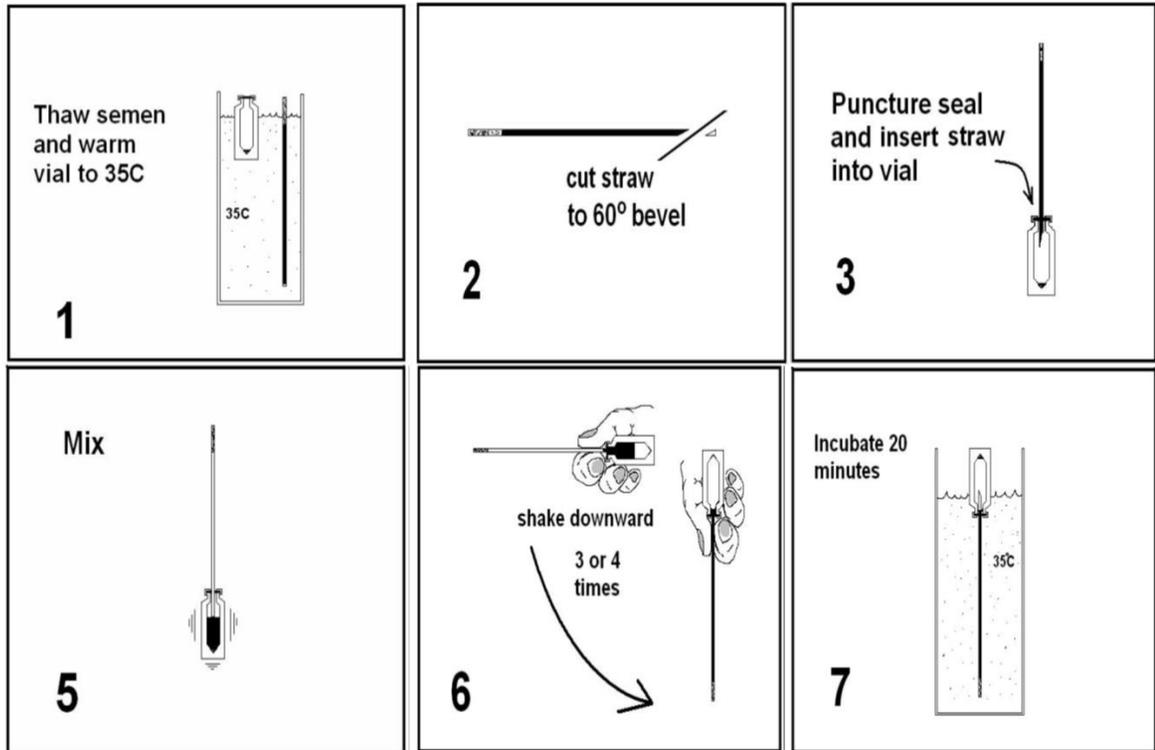


Foto: EMLAB Genetics