

**Evaluación de la eficiencia reproductiva
implementando HeiferPlus™ para el sexado
de semen en bovinos**

**María Celeste García Herrera
Erika Estephanía Tituaña Cuichán**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**
Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación de la eficiencia reproductiva implementando HeiferPlus™ para el sexado de semen en bovinos

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingenieras Agrónomas en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**María Celeste García Herrera
Erika Estephanía Tituaña Cuichán**

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Evaluación de la eficiencia reproductiva implementando HeiferPlus™ para el sexado de semen en bovinos

**María Celeste García Herrera
Erika Estephanía Tituaña Cuichán**

Resumen. El sexado de semen es una herramienta que ha brindado al sector ganadero asegurar el reemplazo de los animales y permitir un progreso genético constante, ya que facilita determinar el sexo de cría deseado. El objetivo del estudio fue evaluar la eficiencia reproductiva utilizando Heiferplus™ para el sexado de semen en bovinos. Para este estudio se utilizaron 2065 vacas entre las razas Holstein, Jersey y su encastes, distribuidas en tres tratamientos: 1590 inseminaciones con semen convencional, 274 inseminaciones con semen sexado y 201 inseminaciones con el reactivo Heiferplus™. Todas las vacas fueron tonificadas previo a la inseminación. Las variables analizadas fueron Fertilidad y Sexo de cría utilizando un diseño completo al azar y un análisis de frecuencia (χ^2) exigiendo un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. La fertilidad presentó diferencias entre los tratamientos, siendo Heiferplus™ el de menor resultado (13.43%) y semen sexado el de mejor resultado (38.69%). No se encontró diferencia para el sexo de la cría entre los tratamientos convencional y Heiferplus™, sin embargo al comparar los tratamientos sexado vs Heiferplus™ y convencional vs sexado si se encontró diferencia del tratamiento convencional vs Heiferplus™. En conclusión el uso de Heiferplus™ en el sexado de semen no aumentó el porcentaje de fertilidad y no incide en el sexo de la cría.

Palabras clave: Fertilidad, inseminación artificial, sexo de cría, vial.

Abstract. The sexed semen is a tool which has brought to the livestock sector the possibility to replace the animals, allowing a constant genetic progress, since it can also determine the most convenient sex of the breeding. The objective of this study is to evaluate the reproductive efficiency using Heiferplus™ for the sexed semen in bovines. In order to accomplish this goal, for this paper it has been used 2065 Holstein and Jersey cows, and their chisels, distributed in three treatments: 1590 with conventional semen, 274 with sexed semen, and 201 inseminated with the Heiferplus™ reagent. All cows were toned before the insemination. The analyzed variables were Fertility and Sex of the breeding, using a complete random design and a frequency analysis (χ^2), demanding a significant level of ($P \leq 0.05$). Fertility showed differences between treatments, being Heiferplus™ the lowest result (13.43%) and sexed semen the best result (38.69%). No difference was found for breeding sex between conventional treatments and Heiferplus™, however when comparing the treatments sexado vs Heiferplus™ and conventional vs. sexed if found different from the conventional treatment vs Heiferplus™. In conclusion, the use of Heiferplus™ in the sexed semen did not increased the percentage of pregnancy and, thus do not influence the sex of the breeding.

Key words: Fertility, artificial insemination, sex of the calf, vial.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. METODOLOGÍA.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	10
5. RECOMENDACIONES	11
6. LITERATURA CITADA.....	12
7. ANEXOS	14

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Porcentaje de Fertilidad entre los tratamientos Heiferplus TM , Sexado y Convencional en vacas holstein, jersey y sus encastes en El Paraíso, Honduras.....	8
2. Porcentaje de Sexo de la cría (SCr) entre los tratamientos Heiferplus TM , Sexado y Convencional en vacas holstein, jersey y sus encastes en El Paraíso, Honduras.....	9
Figuras	Página
1. Descongelamiento de semen.....	4
2. Corte de la pajilla de semen convencional.....	4
3. Inserción de la pajilla en el vial.....	4
4. Adición de semen al vial de HeiferPlus TM	5
5. Proceso de mezclado del semen.....	5
6. Proceso de transferencia del semen sexado con HeiferPlus TM a la pajilla...	5
7. Incubación del semen sexado con HeiferPlus TM	6
8. Inserción de la pajilla en la pistola de inseminación.....	6
Anexos	Página
1. Indicaciones para el uso del vial espermático Heiferplus TM	14

1. INTRODUCCIÓN

La productividad de un hato depende de su capacidad reproductiva, la cual es un reflejo del bienestar animal y su relación con el ambiente, manejo nutricional y reproductivo. En un hato lechero una eficiencia reproductiva es indispensable para: asegurar nuevas lactancias y mantener producciones elevadas, asegurar el reemplazo de los animales y permitir un progreso genético constante (Vélez *et al.* 2014).

Los problemas nutricionales pueden ser la causa principal de la pérdida de fertilidad en las hembras bovinas (Correa 2000). La cantidad de alimento que un animal ingiere depende de sus requerimientos, la calidad nutritiva y digestibilidad del alimento, cuando los requerimientos no se satisfacen se altera el metabolismo de la vaca y se altera la reproducción. Una dieta baja en fibra y alta ingesta de proteína reduce la tasa de concepción, mayor incidencia de muertes embrionarias y menor manifestación del celo por efecto de trastornos metabólicos. Otro factor que influye en la reproducción y que es parte de una nutrición adecuada es garantizar que la vaca tenga las condiciones para ser inseminada y llegue al parto con una Condición Corporal (CC) de 3.5; usualmente después del parto a medida se pierde CC se aumentan los días de la primera ovulación, números de servicios por preñez y a la vaca le costara más tiempo quedar preñada. Esto no solo afecta la reproducción, también se incrementan los costos ya que se necesitan más dosis de semen para lograr la preñez (Hazard 2004).

Una de las principales metas para mejorar la eficiencia reproductiva es producir un ternero por vaca por año con sexo definido, esto se puede lograr utilizando programas de inseminación artificial con semen sexado y biotecnologías Heiferplus™ que estimulen la fertilidad y motilidad de los espermatozoides obteniendo un mayor porcentaje de crías hembras por cada servicio. El número de espermatozoides por pajueta, la calidad del semen, el sitio de deposición del semen y el momento de la Inseminación Artificial (IA) en relación al estro afectan la probabilidad de preñez después de la IA ya sea convencional o con semen sexado (Marini y Galassi 2011). Una excelente tasa de detección de celos acompañada por una alta tasa de concepción es de vital importancia en los programas de IA; por lo tanto, si una vaca no se ha visto dejándose montar será necesario tomar en cuenta eventos y actividades secundarias de celo como pelduras inflamadas o sanguinolientas sobre la cola y anca, mocos secos sobre la cola y formación de grupos (SelectSires 2017).

El uso de semen sexado ha sido una herramienta en la industria lechera que aumenta la probabilidad de tener más crías hembras, esto es importante ya que logra la expansión del hato, menos problemas de distocia ya que el tamaño de las hembras es menor que el de un becerro macho. Aunque representa un costo relativamente alto, el uso de semen sexado es

una tecnología que es adoptada cada vez por más productores para mejorar el desempeño (Rentería y Soto 2013).

HeiferPlus es un agente espermático liofilizado, utilizado para el sexado de semen, según investigaciones se reporta un aumento entre el 5-20% en la tasa de concepción. Esta biotecnología de sexado de semen estimula la fertilidad y acelera la motilidad del cromosoma X (femenino) retardando la motilidad del cromosoma Y (masculino). El agente espermático es activado por la adición de semen bovino directamente al vial Heiferplus™. El semen es descongelado normalmente y se mezcla con el vial, se incuba por 20 minutos y el semen sexado está listo para la inseminación artificial; al momento de la inseminación los espermatozoides entran en un proceso de clasificación en el tracto reproductivo resultando más óvulos fertilizados con espermatozoides X (Genetics 2013).

El objetivo de la investigación es evaluar la eficiencia reproductiva estimando:

- Fertilidad y sexo de cría con el uso del agente de sexado HeiferPlus™ utilizando inseminación artificial 24 horas después de observar el celo, en comparación con el uso de semen convencional y semen sexado aplicando la regla estándar AM/PM, PM/AM.

2. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en una lechería de bosque seco tropical según la escala de holdridge ubicada en El Paraíso, Honduras, con una elevación de 800 msnm, precipitación promedio anual de 1400 mm y una temperatura promedio de 21.5 °C en la época de diciembre de 2015 a enero de 2017. Las vacas estuvieron en un sistema semi estabulado, la alimentación suministrada en cada tratamiento consistió en pastoreo rotacional intensivo con pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), ensilaje de maíz, caña de azúcar y una suplementación de concentrado formulado y elaborado en la finca. Con sus programas sanitarios bien establecidos (vacunación y desparasitación) y suplementación de minerales, todos los registros son manejados en el programa Vampp bovino 3.0.

Se utilizaron 2065 vacas entre las razas Holstein, Jersey y sus encastes distribuidas en tres tratamientos: 1590 inseminaciones con semen convencional, 274 inseminaciones con semen sexado y 201 inseminaciones con el reactivo Heiferplus™ para este tratamiento se aplicó un protocolo de sincronización de celo. Los animales se seleccionaron de acuerdo a la condición corporal y desempeño reproductivo.

Se inseminó con semen convencional utilizando la regla estándar AM/PM, PM/AM es decir desde 10 horas posteriores una vez detectado el celo hasta un máximo de 18 horas, la misma regla se siguió para la inseminación con semen sexado, y para la inseminación con el vial Heiferplus™ se utilizó la regla establecida por Emlab Genetics (22-24 horas posteriores a la detección del celo), que en este estudio se realizó 24 horas después.

Se aplicó Selenio, vitaminas ADE, complejo B, masaje uterino como tonificante a todas las vacas, adicionalmente se aplicó el producto Catofos®, este es una mezcla de fósforo orgánico, vitamina B y Vitamina 12 esta formulación suplementa sus componentes a animales con deficiencias o que son propensos a desarrollarlas, así mismo en animales de alta producción. Estimula el metabolismo actuando en la formación de glóbulos rojos que ayudan a producir energía, ayuda a prevenir enfermedades metabólicas que son asociadas con el parto como la hipocalcemia y quistes ováricos. El fósforo actúa a nivel sanguíneo para mantener el pH corporal lo que ayuda a evitar problemas reproductivos y de fertilidad.

2.1 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Paso 1: Se descongela el semen convencional y el vial HeiferPlus™ en baño maría durante un periodo aproximado de 40 segundos a una temperatura de 35-37 °C



Figura 1. Descongelamiento de semen (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso 2: Se realiza un corte transversal con un ángulo de 60° utilizando tijeras muy afiladas.



Figura 2. Corte de la pajilla de semen convencional (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso 3: Se punza el frasco del vial con una aguja y luego se inserta la pajilla de semen convencional en el vial.



Figura 3. Inserción de la pajilla en el vial (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso 4: Se adiciona el semen convencional al vial de HeiferPlus™ para esto se sujeta el vial y la pajilla en la mano y se sacude de arriba hacia abajo.



Figura 4. Adición del semen al vial de HeiferPlus™ (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso 5: Se homogeniza la mezcla de semen con el vial HeiferPlus™ realizando movimientos suaves.

Figura 5. Proceso de mezclado de semen (imagen de Magaly Díaz 2016)



Paso 6: Luego de asegurar que se tiene una mezcla homogenizada se transfiere el semen sexado con el vial nuevamente a la pajilla y para eso se invierte el vial y se agita nuevamente de arriba hacia abajo



Figura 6. Proceso de transferencia del semen sexado con HeiferPlus™ a la pajilla (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso7: Luego de transferir el semen del vial a la pajilla esta pasa a un proceso de incubación en baño maría durante 20 minutos a una temperatura de 35.37 °C



Figura 7. Incubación del semen sexado con HeiferPlus (imagen de Magaly Díaz 2016)

Paso 8: Al terminar el proceso de incubación se retira la pajilla de la incubadora y se seca con papel toalla, luego se realiza un corte transversal y se carga a la pistola de inseminación para posteriormente inseminar las vacas del experimento.



Figura 8. Inserción de la pajilla en la pistola de inseminación (imagen de Magaly Díaz 2016)

2.2 ANALISIS ESTADÍSTICO

Las variables fueron analizadas utilizando un diseño completo al azar y una prueba de chi cuadrado (χ^2), el nivel de significancia exigido fue de $P \leq 0.05$ utilizando el programa “Statistical Analysis System” (SAS[®] 9.3), las variables analizadas fueron:

Fertilidad: Este parámetro se obtiene dividiendo el número de preñez obtenida entre el número de servicios totales.

Sexo de la cría (SCr): Para ello se inseminó con semen convencional y semen sexado utilizando la regla estándar AM/PM, PM/AM (12 horas posterior al celo) y con el tratamiento Heiferplus[™] 24 horas después de presentar el celo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fertilidad: Para el porcentaje de fertilidad entre los tratamientos de Semen Convencional contra Heiferplus™ si existe una diferencia ($P \leq 0.05$), siendo 31.07% para Semen Convencional y 13.43% para Heiferplus™. De igual manera con una diferencia ($P \leq 0.05$) entre la comparación de Semen Sexado contra Heiferplus™, siendo 38.69% para Semen Sexado y 13.43% para Heiferplus™.

Al comparar los porcentajes de fertilidad entre tratamientos de Semen Convencional contra Semen Sexado, obtuvimos el mayor valor de diferencia ($P=0.0127$) en comparación a los anteriores tratamientos, obteniendo 31.07% para Semen Convencional y 38.69% para Semen Sexado (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de Fertilidad entre los tratamientos Heiferplus™, Sexado y Convencional en vacas holstein, jersey y sus encastes en El Paraíso, Honduras.

Tratamiento	N° de animales	N° de sv/preñez	(%)
Sexado	274	2.5846	38.69 ^a
Convencional	1590	3.2185	31.07 ^b
Heiferplus™	201	7.446	13.43 ^c
Probabilidad			0.0127

a y b= Medidas en la misma columna seguidas de diferente letra, difieren entre sí ($P \leq 0.05$)

(Campos Reyes y Vargas Coba 2016) reportan resultados similares a este estudio con un porcentaje de fertilidad para Semen Convencional de 19.3% y para Semen Sexado de 41.3%, con diferencias entre ambos tratamientos. De igual manera Jaar Quiñonez y Ventura Díaz (2015) obtuvieron un porcentaje de fertilidad para Semen Convencional de 34.50% y para Heiferplus™ de 21.05%, con diferencias entre ambos tratamientos. Durante el estudio el mayor porcentaje de fertilidad que se obtuvo fue de 38.69% con Semen Sexado, lo cual difiere a lo sugerido por EMLAB (2013) de que el aditivo Heiferplus™ aumenta en un 5-20% la tasa de concepción.

Sexo de la cría (SCr): Para la comparación del porcentaje del sexo de las crías entre los tratamientos de Semen Sexado contra Heiferplus™ si existe una diferencia ($P \leq 0.05$), obteniendo 90.57% hembras y 9.43% machos para Semen Sexado, así como 51.85% hembras y 48.15% machos para Heiferplus™.

De igual manera hubo diferencia ($P \leq 0.05$) al comparar los tratamientos de Semen Convencional contra Semen Sexado, se obtuvo 48.56% hembras y 46.26% machos para Semen Convencional, así como 90.57% hembras y 9.43% machos para Semen Sexado. Sin embargo, al comparar el porcentaje del sexo de las crías entre los tratamientos de Semen Convencional contra Heiferplus™ no existe diferencia ($P > 0.05$) obteniendo 48.56% hembras y 46.26% machos para Semen Convencional, así como 51.85% hembras y 48.15% machos para Heiferplus™ (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de Sexo de la cría (SCr) entre los tratamientos Heiferplus™, Sexado y Convencional en vacas holstein, jersey y sus encastes en El Paraíso, Honduras.

Tratamiento	%Hembras	% Machos
Sexado	90.57 ^a	9.43 ^a
Heiferplus™	51.85 ^b	48.15 ^b
Probabilidad	<0.001	<0.001
Convencional	51.21 ^a	48.79 ^a
Sexado	90.57 ^b	9.43 ^b
Probabilidad	<0.001	<0.001
Convencional	51.21 ^a	48.79 ^a
Heiferplus™	51.85 ^a	48.15 ^a
Probabilidad	0.9486	0.9486

a y b= Medidas en la misma columna seguidas de diferente letra, difieren entre sí ($P \leq 0.05$)

Rentería Briceño y Soto García (2013) reportan diferencias entre los tratamientos de Semen Convencional y Semen Sexado, obteniendo 57.4% hembras y 45.3% machos para Semen Convencional, así como 91.2% hembras y 8.8% machos para Semen Sexado, lo cual no difiere de los resultados obtenidos en el estudio. De igual manera, Cabrera (2010) reporta resultados similares a este estudio, con un porcentaje de crías hembras con semen convencional de 46.7% y para semen sexado 89%.

4. CONCLUSIONES

- El uso de Heiferplus™ en el sexado de semen no aumentó el porcentaje de fertilidad.
- El uso de Heiferplus™ no influye en el sexo de la cría presentando valores similares los obtenidos con semen convencional.

5. RECOMENDACIONES

- Repetir el estudio utilizando vaquillas ya que según Emlab Genetics este producto es más efectivo.
- Realizar pruebas de fertilidad alternas en semen convencional, semen sexado y semen tratado con Heiferplus™ para conocer si existen muertes espermáticas en el proceso de incubación.
- Probar nuevas tecnologías como Semen Sexado Ultra.

6. LITERATURA CITADA

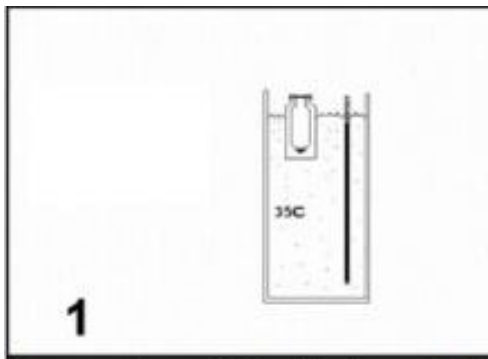
- Cabrera VE. 2010. Valor del Semen Sexado para la Industria Lechera. Reporte, International Horizons, 1-4; [consultado 2017 jul 4]. http://www.reproduccionanimal.com.mx/AISS_Valor%20%20Semen%20sexado%20Ind%20Lechera.pdf.
- Campos Reyes JA, Vargas Coba DO. 2016. Evaluación de la implementación de BullPlus™ y HeiferPlus™ como biotecnologías para el sexado de semen en bovinos [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 21 p.
- Correa H. 2000. Relación producción-reproducción en hatos de alto potencial genético y propuestas nutricionales para mejorarla.
- EMLAB Genetics. 2013. Emlab Genetics; [consultado jul 5]. <http://www.emlabgenetics.com/Pages/HEIFERPLUS.aspx>.
- García Diaz M. 2016. «efecto de la adición del heiferplus al semen de ganado vacuno sobre la tasa de concepción y la proporción de nacimiento de terneras-chiclayo".» tesis, Perú.
- Hazard S. 2004. Alimentación de Vacas Lecheras. Reporte, INIA Carillanca. <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2017/02/AD3.pdf>.
- Jaar Quiñonez CM, y Ventura Diaz SA. 2015. Evaluación de la fertilidad de semen sexado con HeiferPlus™ en vacas de ganado de carne [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 17 p.
- Marini PR, y Galassi I. 2011. «Relación entre celo–inseminación con semen sexado y porcentaje de preñez en vaquillonas Holstein.» (Revista Veterinaria) 22 (1); [consultado 2017 jul 4]. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/185-Marini.pdf.
- Rentería Briceño CA, y Soto García SD. 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]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 19 p.
- SelectSires. 2017. Detección de celos y tiempo de inseminación. Reporte, Select Reproductive Solutions, 1-4; [consultado 2017 jul 5].

http://www.selectsires.com/programs/images/Brochures/pdf/HeatDetectionAndTimingofAI_Spanish_Web.pdf?version=20170404.

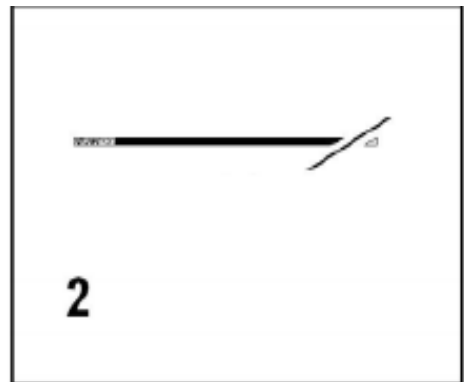
Vélez M, Hincapié JJ, Matamoros I. 2014. Producción de Ganado Lechero en el trópico. 2014. Tegucigalpa: Zamorano.

7. ANEXOS

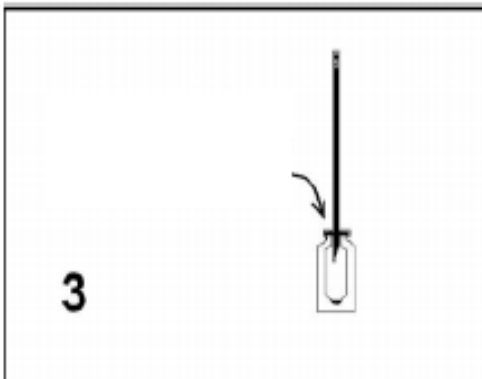
Anexo 1. Indicaciones para el uso del vial espermático Heiferplus™



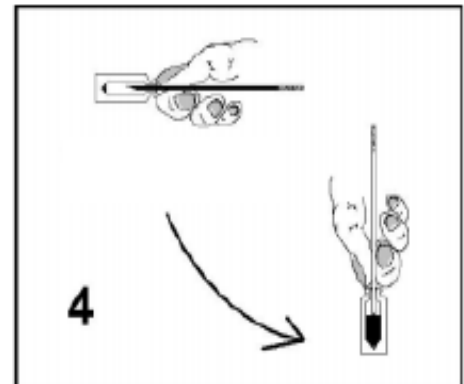
Descongelar a Baño María a 35 °C tanto el vial como la dosis de semen.



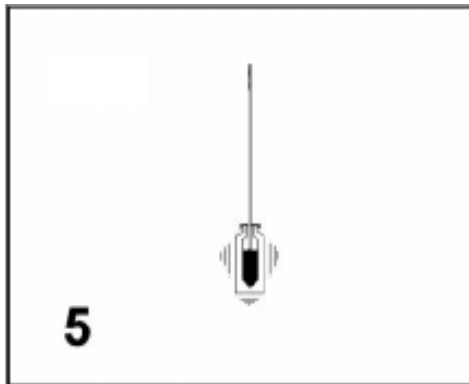
Realizar un corte de 60° a la pajilla.



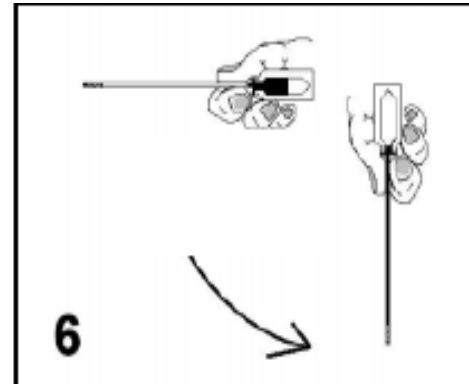
Introducir la pajilla de semen dentro del vial.



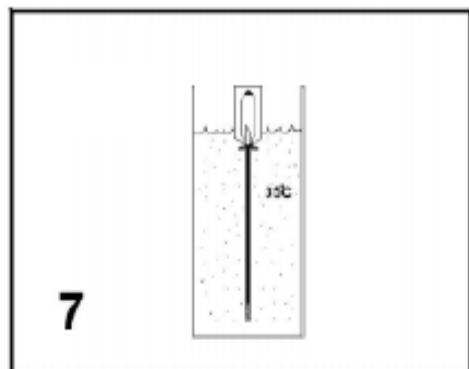
Agitar de 3-4 veces colocando todo el semen dentro del vial.



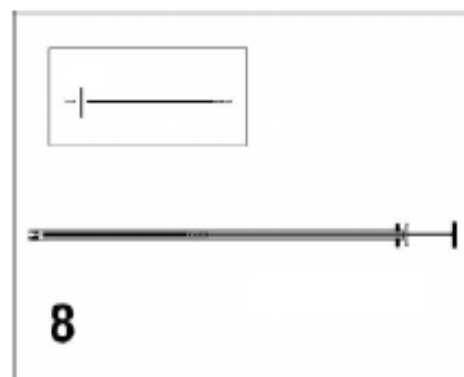
Homogenizar la mezcla del semen con el contenido del vial.



Transferir el semen enriquecido a la pajilla, agitando de forma invertida de 3-4 veces.



Incubar la mezcla en baño María a 35 °C durante 20 minutos.



Retirar la pajilla, hacer un corte transversal y continuar con el protocolo de inseminación artificial.