

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PARA GRADUADOS
INSTITUTO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL CÓRDOBA (IRAC)

ESPECIALIZACIÓN EN REPRODUCCIÓN BOVINA

**EVALUACION DE LA TASA DE PREÑEZ A
LA IATF EN VACAS LECHERAS EN
ORDEÑO INSEMINADAS CON SEMEN
PRODUCIDO POR DOS TECNOLOGIAS DE
SEXADO (Sexcel® vs SexedULTRA)**

CASTELLO MARIA EMILIA

Trabajo final

Para optar al Grado Académico de
Especialista en Reproducción Bovina

Cordoba-2021

INDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1. HIPÓTESIS.....	6
2.2. OBJETIVO GENERAL	6
2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
3. MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1 ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO	7
4. RESULTADOS	11
5. DISCUSIÓN	14
7. BIBLIOGRAFÍA.....	17

1. RESUMEN

El crecimiento de los rodeos lecheros es una problemática que enfrentan los tambos de nuestro país, las vaquillonas destinadas a la reposición difícilmente superan la venta y la mortandad. El semen sexado se introduce en la producción como una alternativa a esta problemática. El objetivo de este trabajo fue evaluar la tasa de preñez a través de dos tecnologías de sexado (Sexcel y SexedULTRA). El siguiente trabajo experimental se realizó en el Establecimiento SA La Sibila ubicado en la provincia de Santa Fe, en el cual se utilizaron 397 vacas raza Holando argentino en comienzo de lactancia. Las vacas se sincronizaron con protocolo doble ovsynch. La inseminación artificial (IA) se distribuyó en dos grupos, a las 72h y 78h, utilizando semen sexado con diferentes tecnologías. Los resultados obtenidos fueron P/IA al día 30 fue de 35,5% (141/397) no habiendo diferencias entre ambas tecnologías. Las vacas primíparas tuvieron una mayor tasa de preñez que las vacas multíparas [44,5% (65/146) vs 30,3% (76/251)]. Las vacas que manifestaron celo tendieron a tener mayor tasa de preñez que las que no la hicieron (40,4% vs 32,7). Ambas tecnologías pueden utilizarse para las IATF, seleccionando vacas de primera lactancia para obtener mejores resultados.

Palabras clave: semen sexado, tasa de preñez, reposición.

2.INTRODUCCIÓN

Cuando se analizan los indicadores productivos de los tambos en Argentina, se observa que la cantidad de vaquillonas de reposición que se producen por año difícilmente supera a la cantidad de vacas que se dan de baja por muertes y venta (Capitaine Funes, 2008).

Ante esta situación el uso de semen sexado en programas de inseminación artificial (IA) se ha convertido en una práctica cada vez más utilizada con la finalidad de incrementar el número de crías de hembras de reemplazo. Así mismo, el sexaje del semen permite el aprovechamiento del potencial genético de las madres a través de un mayor número de hijas. A parte de una serie de limitaciones como el costo y las tasas de concepción más bajas en comparación con el semen convencional (no sexado; DeJarnette y col., 2009), su uso ha demostrado ser eficiente en muchos centros de producción a nivel mundial (Ramos Coaguila, 2013).

Al inicio de este milenio, el semen bovino sexado ha comenzado a tener una alta aplicabilidad comercial. La preselección del sexo es de alto interés tanto para la industria de leche como para la de carne ya que tener nacimientos con un sexo deseado posee ventajas en la producción comercial. En producción bovina, la IA con espermatozoides seleccionados por sexo acelera el mejoramiento mediante un aumento del progreso genético anual. Además, en determinados sistemas como aquellos dedicados a la producción de leche, es de fundamental importancia para lograr una mayor rentabilidad. La eficiencia reproductiva del rodeo depende del producto de las tasas de servicios y de concepción, por lo que es fundamental lograr resultados de concepción con semen sexado similares a semen convencional (revista Taurus 43, 2016).

La tecnología del semen sexado se desarrolló inicialmente en los centros de investigación del gobierno de Estados Unidos. Los estudios comenzaron en el Laboratorio Nacional Lawrence Livermore en los años 70, donde los científicos que estudiaban los efectos de la radiación sobre la salud, usando esperma de ratón como modelo para indicar el daño a la línea germinal, desarrollaron técnicas de citometría de flujo que permitieron medir con precisión el contenido de ADN espermático. Para obtener semen sexado se utiliza una citometría de flujo, la cual da como resultado la producción de un semen que contiene al menos un 90% espermatozoides del sexo deseado (Urbina, 2012).

La producción de semen sexado se basa en la diferencia en el contenido de ADN entre espermatozoides X e Y, que es de un 3,8 % aproximadamente. Las diferencias para la

mayoría de los mamíferos alcanzan un rango de 3 - 4,5 %, pero en otras especies la diferencia es mucho mayor (Johnson et al., 1987; Johnson, 2000). Los ácidos nucleicos presentes en el ADN se pueden unir a ciertos tintes fluorescentes permitiendo la cuantificación precisa de ADN nuclear en espermatozoides, en algunos casos, sin afectar la viabilidad celular. Muchas tinciones han sido utilizadas, pero solo después de la utilización del bis-bencimidazol Hoechst 33342 (H33342) para teñir espermatozoides intactos, la cuantificación del ADN mediante fluorescencia fue exitosa (Johnson et al., 1987; Martínez Pastor et al, 2010). El H33342 es una tinción para células vivas que penetra la membrana celular y se une selectivamente a los pares de bases de adenina y tiamina a lo largo del surco menor del ADN de doble cadena. Por lo general, se excita con una laser de Argón de 351 o 364nm u otras fuentes de excitación de fluorescencia, tales como lámparas de mercurio, permitiendo la evaluación cuantitativa del ADN celular. En resumen, las moléculas de colorante H33342 unidas al ADN son excitadas por un láser cuando los espermatozoides pasan entre dos detectores de Fluorescencia que miden la intensidad de la fluorescencia. La intensidad de las señales de fluorescencia depende del número de moléculas fluorescentes unidas al ADN, permitiendo así la diferenciación de los espermatozoides X e Y. Actualmente, las clásicas tinciones han sido reemplazadas por FD & 40 para evitar un potencial efecto mutagénico del Ioduro de propidio (Johnson & Welch, 1999; Schenke et al., 1999). Los espermatozoides que demuestran daño pueden ser removidos durante el proceso de separación por sexo.

Tradicionalmente, una vez identificado el espermatozoide del sexo deseado por la luz fluorescente, son separados mediante un citómetro de flujo (Johnson y Welch, 1999). Recientemente se ha desarrollado una nueva tecnología que en vez de separar los espermatozoides destruye los del sexo no deseado con un láser dejando los espermatozoides dañados en la pajuela no impactando esto en la tasa de concepción (Faust et al, 2016).

Cada dosis obtenida de semen sexado contiene al menos un 90% de espermatozoides del sexo elegido, es decir, de cada 100 partos al menos 90 serán del sexo deseado (Urbina, 2012). Previamente al sexado, para controlar la calidad del semen, se descongela una pajuela por partida y se evalúa la motilidad progresiva (mínimo un 35%). Luego de efectuado el sexado, se controla la pureza o proporción de espermatozoides del sexo deseado que debe ser como mínimo del 85% (Sharpe y Evans, 2009). Se evaluó con la nueva tecnología de destrucción de espermatozoides no deseados por láser y el porcentaje de espermatozoides X vivos fue en promedio del 87,2% (rango 73-93%), y la proporción de terneras nacidas hembras fue 84,6% (Faust et al., 2016).

Además de la nueva tecnología que destruye los espermatozoides del sexo no deseado, el método de sexado por separación de espermatozoides ha sufrido varios cambios que han mejorado sustancialmente su fertilidad. A este nuevo procedimiento simplificado y menos traumático para los espermatozoides sexados denominado SexedULTRA®, donde inclusive se ha planteado la opción de aumentar el número de espermatozoides por pajuela de 2.1 millones como se utilizaba con el semen XY a 4 millones de espermatozoides con el

SexedULTRA® (Vishwanath, 2015). Esta nueva tecnología consta de nuevos métodos para la manipulación y procesado antes de la separación espermática, fundamentalmente cambios en la composición de los medios utilizados en los estadios del proceso de separación, promoviendo un ambiente más inocuo que evita cambios de pH y temperatura, respetando la integridad de los espermatozoides (de Graaf et al., 2014). Estudios recientes reportaron que el proceso SexedULTRA® resulta en una mayor viabilidad e integridad de los espermatozoides pos descongelado (Gonzales-Marín et al., 2017), resultando en una mayor producción de embriones in vitro en comparación con el método más antiguo (llamado XY o Legacy; González-Marín et al., 2018). Es indudable que, para la utilización efectiva de esta tecnología, tanto en rodeos lecheros como de carne se deberían desarrollar protocolos de IATF para semen sexado (Kasimanickam, 2015).

La IA es la biotecnología reproductiva que ha hecho posible el uso de semen de progenitores seleccionados a la vez que permitió reducir la diseminación de enfermedades venéreas. Su utilización como estrategia para la diseminación del progreso genético logrado por selección artificial en vacas lecheras ha tenido un crecimiento exponencial dado que el uso de semen congelado es una práctica común en los tambos. Sin embargo, un pre-requisito obvio para aumentar la eficiencia en el uso del material genético seleccionado es obtener una fertilidad aceptable luego de la IA. Tanto el óvulo como los espermatozoides tienen una vida limitada en el tracto reproductor de la hembra razón por la cual, en los sistemas productivos que utilizan IA, el momento del ciclo de la hembra en el que se efectúa dicha inseminación adquiere particular trascendencia.

La utilización de semen de sexado en vacas en ordeño está ampliamente documentado. Si bien la concepción es menor que con convencional y esto podría disminuir la rentabilidad (Hutchinson et al., 2013), lograr tener una concepción lo más alta posible en vacas en ordeño hace que la rentabilidad del tambo sea mayor y la aplicación de esta tecnología sea rentable.

2.1. HIPÓTESIS

La tecnología de sexado de semen Sexcel lograría similares tasas de preñez a la IA (P/IA) que la tecnología SexedULTRA en vacas lecheras en ordeño.

2.2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la performance de dos diferentes tipos de semen sexado en vacas en lactancia.

2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Evaluar la P/IA en vacas en Lactancia, utilizando el protocolo de sincronización para IATF Doble Ovsynch en dos horarios distintos de inseminación (72 vs 78 h post PG).

b) Evaluar el uso de semen sexado a través de diferentes tecnologías de procesos en un esquema de IATF.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO

El trabajo se llevó a cabo en un establecimiento Agrícola-Ganadero ubicado en Totoras, Provincia de Santa Fe, República Argentina, propiedad de la Empresa S.A La Sibila. El mismo posee 3000 vacas en ordeño, con dos ordeños diarios, un promedio de producción de 24 l/vaca/año, en un sistema pastoril con suplementación.

Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 6°C a 31°C y rara vez baja a -1°C o sube a más de 35°C. El promedio anual de lluvias es de 1038mm (promedio de la serie 1973-2018), registrándose como valor mínimo mensual promedio de 20mm (mes de Julio) y el promedio superior de 134mm (mes de marzo).

La alimentación en los cuatro tambos es un sistema de alimentación mixta (35% de pastoreo, más de un 65% de silaje de maíz y granos).

Para este trabajo se utilizaron 397 vacas Bos taurus de raza Holando argentino en comienzo de su lactancia de primer servicio. Se realizaron 23 réplicas comenzando en el mes de abril del año 2018 hasta el mes de octubre del mismo año.

Criterios de inclusión:

- 1- Primíparas (n=156) y multíparas (n=251) a partir del día 35 de lactancia (promedio 43, rango: 35-90) para ser inseminadas a tiempo fijo en promedio a los 72 días post parto.
- 2- Animales de primer servicio
- 3- Condición Corporal en la escala de mayor a 2,7 (escala 1-5)
- 4- Involución Uterina normal a la palpación rectal

Criterios de exclusión:

Animales con presencia de las siguientes enfermedades: mastitis, rengueras y enfermedades metabólicas.

Evaluación de datos

La recolección de datos fue a partir de un software (Dairy Com 305). De las vacas seleccionadas, se evaluó tasa de preñez por IA (P/IA), preñez por lactancia, preñez por producción lechera y porcentajes de Abortos.

Diseño experimental

Todas las vacas (n=397) fueron sincronizadas con el protocolo doble ovsynch (Souza y col., 2008; Figura 1) que consiste en una serie de tratamientos hormonales que combina la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) con prostaglandina (PGF₂) para sincronizar el momento de la ovulación en bovinos permitiendo la IATF. Las vacas fueron tratadas con 10 µg de acetato de buserelina (GnRH; 2,5 ml; Receptal®, MSD, Argentina) en el día experimental 0. En el día 7 se administró 25 mg de dinoprost trometamina (PGF; 5 ml; Lutalyse®, Zoetis, Argentina) y 56 h después (día 10) recibieron GnRH nuevamente. En el día 17 fueron tratadas con GnRH, 7 días más tarde (día 24) se administró PGF, 58 h después (día 26,5 aproximadamente) fueron tratadas con GnRH y fueron divididas al azar para ser inseminadas a tiempo fijo a las 72 h (n= 206) o a las 78 h (n=191; Tabla 1) post aplicación de PGF (día 27). Las vacas se pintaron en la base de la cola con crayón de color rojo en el día 24 para visualizar la manifestación de celo registrándose la ocurrencia o no de celo (más del 30% de pérdida de pintura) al momento de la IATF.

La inseminación se realizó seleccionando al azar dos tipos de metodologías de desarrollo de semen sexado: SexcedULTRA 2,1M® (US; 199) cuya técnica de separación de espermatozoides es la citometría de flujo (2,1 millones de espermatozoides por dosis, CIALE-ALTA GENETICS Argentina), y semen Sexcel® (SE; n=198) con ablación láser de los espermatozoides (2,5 millones de espermatozoides totales, estimada 1,6 millones de espermatozoides hembras, ABS Argentina). Se utilizaron dos toros de cada tecnología (Tabla 2).

El diagnóstico de Gestación fue realizado por ultrasonografía transrectal (Aloka 500V) a los 30 días de la IATF y se confirmó por palpación rectal a los 60 días.

Tabla 1. Distribución de los toros utilizados por horario de inseminación a tiempo fijo

		Horario de IATF
--	--	-----------------

Tecnología de Sexado	% (N/N)	72h % (N/N)	78h % (N/N)
SexcedULTRA2,1M®			
KADO	24,5% (98/397)	53,1% (52/98)	46,9% (46/98)
LEGA	25,2% (100/397)	51% (51/100)	49% (49/100)
Sexcel®			
MONE	24,9% (99/397)	55,6% (55/99)	44,4% (44/99)
HATT	25,2% (100/397)	48% (48/100)	52% (52/100)
TOTAL	100% (397/397)	51,9% (206/397)	48,1% (191/397)

Tabla 2. Distribución de los toros utilizados por número de partos.

Tecnología de Sexado	%	Número de partos	
		Primíparas % (N/N)	Múltiparas % (N/N)
Ultra-Sexed2,1M®	(N/N)		

KADO	24,5% (98/397)	39% (38/98)	61% (60/98)
LEGA	25,2% (100/397)	39% (39/100)	61% (61/100)
Sexcel®			
MONE	24,9% (99/397)	33% (33/99)	67% (66/99)
HATT	25,2% (100/397)	36% (36/100)	64% (64/100)
TOTAL	100% (397/397)	36,8% (146/397)	63,2% (251/397)

3.2 ANALISIS ESTADISTICO

Las variables de respuesta analizadas fueron la P/IA a los 30 días (si/no), porcentaje de manifestación de celo al día de la IATF, y el porcentaje de pérdidas de preñez entre los d 30 y 60 (si/no). Las variables explicativas fueron el tipo de semen sexado (SexcedULTRA®/ Sexcel®), manifestación de celo al protocolo (si/no), tambo donde se realizó (1, 4, 6 o 9), Toro utilizado (HATT, KADO, LEGA, MONE), técnico inseminador (BARR, GERM, MARI, YANN), hora de IATF (72h/78h), el número de parto (primíparas o multíparas), la producción de leche categorizada por la mediana (BAJA= menos o igual 32 lts; ALTA= más de 32 lts), y los DEL y la producción de leche último control (como covariables continuas) y las interacciones. El efecto de los tratamientos en las variables de respuesta fue analizado por regresión logística múltiple con distribución binomial y función de enlace logit utilizando el PROC GENMOD de SAS®. El ajuste del modelo se efectuó mediante el método de eliminación manual paso a paso de variables explicativas con un criterio de exclusión de $P > 0,15$ (Agresti, 1996). La vaca fue considerada como una variable aleatoria (Littell y col., 1996). La significación estadística se fijó en $P < 0,05$ y la tendencia en $P < 0,10$.

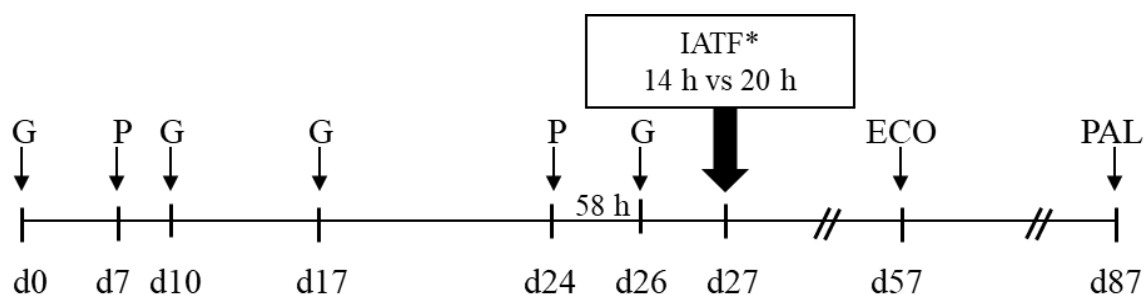


Figura 1. Diseño experimental. G= 10 µg de acetato de buserelina; P= 25 mg de dinoprost trometamina; ECO= diagnóstico de preñez por ecografía; PAL= confirmación de preñez por palpación rectal; IATF*= inseminación a tiempo fijo (los animales fueron distribuidos al azar para ser inseminados a las 14 o 20 h luego de la aplicación de G (72 h y 78 h luego de la aplicación de GnRH), con semen proveniente de distinto tipo de sexado (Ultra-Sexed2,1M® vs Sexcel®) de cuatro toros diferentes (dos toros de cada tecnología de sexado).

4. RESULTADOS

La P/IA al día 30 fue del 35,5% (141/397) no habiendo diferencias entre SexcedULTRA2,1M® y Sexcel® [39,2% (78/199) vs 31,8% (63/198) respectivamente; P=0,4062]. Las vacas primíparas tuvieron mayor tasa de preñez que las vacas multíparas [44,5% (65/146) vs 30,3 % (76/251); P=0,028]. Las vacas que manifestaron celo tendieron a tener mayor preñez que las que no lo hicieron (40,4% (59/146) vs 32,7% (82/251); P=0,0816]. Los resultados se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3. Tasa de preñez al día 30 de acuerdo según las variables analizadas

Variable	Tasa de preñez al día 30 (n/n)	Valor P
Tipo de Sexado		<i>P=0,4062</i>
SexcedULTRA2,1M®	39,2% (78/199)	
Sexcel®	31,8% (63/198)	
Horario de Inseminación		<i>P=0,483</i>
72 h	36,9% (76/206)	
78 h	34,0% (65/191)	
Número de Parto		<i>P=0,028</i>

Primípara	44,5% (65/146)	
Múltipara	30,3% (76/251)	
Toro		<i>P=0,3492</i>
KADO	40,8% (40/98)	
LEGA	38,0% (38/100)	
MONE	30,3% (30/99)	
HATT	33,0% (33/100)	
Manifestación de celo		<i>P=0,0816</i>
Si	40,4% (59/146)	
No	32,8% (82/251)	

La tasa de preñez al día 30 también fue afectada por la interacción de producción de leche categorizada por la mediana (32 litros) y manifestación de celo ($P=0,0266$). Mientras que las vacas de alta producción se preñaron igual las que manifestaron o no celo, las de baja producción se preñaron más las que manifestaron celo respecto a las que no (Figura 2).

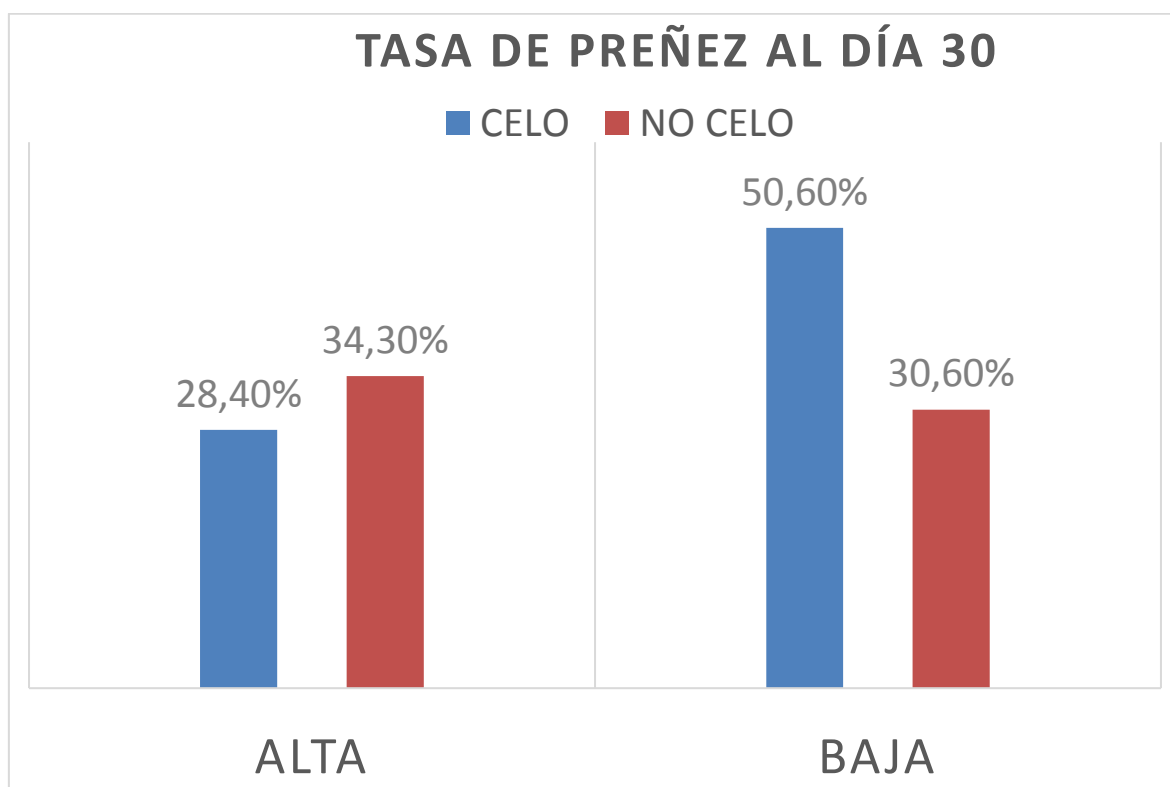


Figura 2. Interacción entre manifestación de celo y categoría de producción de leche dicotomizado por la mediana de 32 litros. Las vacas de alta producción (mayor a 32 litros) tuvieron el mismo porcentaje de preñez haya o no manifestado celo [28,4% (19/67) vs 34,3% (49/143) respectivamente], las vacas de baja producción (igual o menor a 32 litros) tuvieron mayor preñez las que manifestaron celo que las que no [50,6% (40/79) vs 30,6% (33/108); interacción manifestación de celo x producción, $P=0,0266$].

El porcentaje de manifestación de celo a la IATF fue en promedio 36,8% (146/397) y fue afectado por el tambo, el número de partos y la hora de IATF. La manifestación de celo fue 63,8% (60/94), 28,4% (29/102), 23,0% (20/87) y 32,5% (37/114) para los tambos 1, 4, 6 y 9 respectivamente ($P<0,001$). Las primíparas tuvieron más expresión de celo que las vacas múltiparas [43,8% (64/146) vs 32,7% (82/251); $P=0,005$]. Y las vacas inseminadas a las 72 h manifestaron más celo que las inseminadas a las 78 h [50,5% (104/206) vs 22,0% (42/191); $P<0,001$].

El porcentaje de pérdidas de preñez fue del 18,4% (26/141) y fue afectado por el tambo ($P<0,0001$) y la interacción entre el número de partos y manifestación de celo ($P=0,0318$) y por la hora de IATF ($P=0,0614$). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Pérdidas de preñez entre el día 30 y 60 de gestación

Variable	Tasa de preñez al día 30 (n/n)	Valor P
Tambo		$P<0,0001$
1	0,0% (0/28)	
4	20,9% (09/43)	
6	20,0% (7/35)	
9	28,6% (10/35)	
Horario de IATF		$P=0,0614$
72 h	22,4% (17/76)	
78 h	13,8% (9/65)	
Número de Parto		$P=0,005$
Primípara	10,8% (7/65)	
Múltipara	25,0% (19/76)	

Tipo de Sexado		<i>P=0,3358</i>
SexcedUltra2,1M®	17,5% (11/63)	
Sexcel®	19,2% (15/78)	
Manifestación de celo		<i>P=0,5752</i>
Si	13,6% (13/59)	
No	22,0% (18/82)	
Interacción Número de partos por Celo		<i>P=0,0318</i>
Primípara		
Celo Si	15,2% (5/33)	
Celo No	6,3% (2/32)	
Múltipara		
Celo Si	11,5% (3/26)	
Celo No	32,0% (16/50)	

5. DISCUSIÓN

La utilización de semen sexado está ampliamente difundida en rodeos lecheros comerciales en vaquillonas, no siendo una práctica común en vacas donde en caso de tener bajas tasas de preñez puede no ser rentable (Hutchinson et al., 2013). El desafío de los establecimientos lecheros es lograr mayor cantidad de preñeces con semen sexado hembra sin bajar los parámetros reproductivos. En el presente trabajo la P/IA a la IATF fue 35,5%, siendo un muy buen resultado con semen sexado en vacas en ordeño. Datos de usuarios de DC305 (Sebastián Wirsh, comunicación personal) la tasa de concepción promedio fue del 32% sobre aproximadamente 333 mil inseminaciones (con semen convencional la mayoría). El promedio logrado a primer servicio en este trabajo con un protocolo doble ovsynch y semen sexado fue superior a la media de usuarios de DC305. De Jarnette et al., (2009) en un análisis de 49 rodeos y 2298 inseminaciones reportaron tasas de concepción con uso de semen sexado en vacas en ordeño del 27%, por lo que en este trabajo se obtuvo un resultado satisfactorio en preñez con semen sexado.

No hubo diferencias entre las dos tecnologías de sexado del semen que se utilizó. No hay reportes en la bibliografía donde comparen las dos tecnologías de sexado en vacas para cría o para leche. Si bien idealmente para obtener un correcto diseño experimental en este trabajo deberíamos haber utilizado semen de los mismos toros cada uno sexado por las dos metodologías. Es por eso que se decidió incorporar dos toros de cada metodología para ver si había efecto de algún toro individual. La tasa de preñez al día 30 no fue diferente entre los toros. En un trabajo reciente (Perry et al., 2020) se comparó la utilización de los mismos toros con semen convencional o sexado mediante la tecnología Sexcel® en vacas y vaquillonas de cría que fueron IATF y se observó 78% de P/IA menos del semen sexado que del convencional. Resultados similares fueron reportados con tecnología tradicional de citometría de flujo, donde la reducción en la tasa de concepción con semen sexado ronda aproximadamente entre el 70 y 80% en vaquillonas y 50 a 60% en vacas (Seidel y col., 1999; Seidel y Schenk, 2008; Butler y col., 2014).

La tasa de preñez a los 30 días fue similar entre los dos horarios de inseminación con semen sexado. Si bien se recomienda inseminar más cerca de la ovulación con semen sexado, este efecto no fue observado en este trabajo. En un trabajo reciente realizado sobre vaquillonas Holstein tampoco se encontraron diferencias cuando la inseminación se atrasó 12 h con semen sexado (Chebel y Cunha, 2020). Por el contrario, algunos trabajos proponen que atrasar el horario de inseminación con semen sexado de 4 a 12 h de iniciado el celo mejora la tasa de concepción (Sá Filho et al., 2010; Sales et al., 2011; Bombardelli et al., 2016). Luego de la aplicación de la GnRH en el protocolo ovsynch la ovulación se da en promedio a las 30 h (El horario ideal entre la aplicación de la GnRH para inducir la ovulación y la inseminación depende de la sincronía entre la ocurrencia del celo, la ovulación, la capacitación espermática y la fertilización. Inseminaciones muy tempranas podrían resultar en embriones de peor calidad y aumentar las pérdidas (Dalton, Joseph Simposio IRAC, 2015). El semen sexado viene pre-capacitado, la manipulación del semen durante el sexado podría producir una pre-capacitación en algunos toros al inducir cambios en las membranas de los espermatozoides que aceleraran el proceso de reacción 82 acrosomal post-descongelado (Mocé et al., 2006).

6. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo demuestran que no hubo diferencias estadísticas en tasa de preñez usando tecnología Sexcel® y SexcedULTRA2,1M®. Las vacas primíparas tuvieron mayor tasa de preñez que las vacas multíparas y las vacas que manifestaron celo tendieron a una mayor tasa de preñez. En cuanto a la hora de inseminación tampoco hubo diferencia. El porcentaje de pérdida de preñez se vio afectado por el tambo y la interacción entre el número de partos y manifestación de celo. Este permite seguir utilizando semen sexado en vacas de primera lactancia previamente sincronizadas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Agresti A. An introduction to categorical data analysis. 1^{era}. Edición, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996
2. Barrena Reyes, J. G., Chinchilla Vargas, J., 2015. Análisis del desempeño reproductivo con la utilización de semen en vacas y vaquillas. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
3. Bombardelli, G. D., H. F. Soares, and R. C. Chebel. 2016. Time of insemination relative to reaching activity threshold is associated with pregnancy risk when using sex-sorted semen for lactating Jersey cows. *Theriogenology* 85:533–539
4. Bruno, R., 2012. Evaluando semen sexado en vaquillonas lecheras. Texas Agrilife Extension Service.
5. Butler ST, Hutchinson IA, Cromie AR, Shalloo L. 2014. Applications and cost benefits of sexed semen in pasture-based dairy production systems. *Animal*, 8:165-172.
6. Cabrera, V. E., 2010. Valor del semen sexado para la industria lechera. *CRI International Horizons*. Pág.: 10-13.
7. Capitaine Funes, A., 2008. Semen sexado, una técnica que llevo para quedarse. *Producir* xxi, Buenos Aires, 16 (197): 54-57.
8. Chebel, R.C., Cunha, T. 2020. Optimization of timing of insemination of dairy heifers inseminated with sex-sorted semen. *Journal of Dairy Science*, article in press.
9. Cotinot, C., Mcelreavery, K., Fellous, M., 1993. Sex determination. In:Thibault, C., Levasseur M. C. and Hunter RHF *Reproduction in Mammals and Man* Ellipses. Paris. 213-226.
10. Graaf S.P., Leahy T. and Vishwanath R. 2014. Biological and practical lessons associated with the use of sexed semen. *Rumin. Reprod. Symp. Proceedings, 9th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminantes*. Pp 125-140.
11. De Vries A. 2010. The economics of using sexed semen. *Adv in dairy technology* 22, 357-370.
12. DeJarnette J.M., M.A. Leach, R.L. Nebel, C.E. Marshall, C.R. MacCleary, J.F. Moreno. 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holsteins heifers: is comparable fertility of sexed sorted and conventional semen plausible? *J Dairy Sci* 94, 3477-3483.
13. DeJarnette, J. M., Nebel, R. L., Marshal, C. E., 2009. Evaluating the succes of sex sorted semen in US dairy herds from on farm record. *Theriogenology* 71: 49-58.
14. DeJarnette, J. M., R. L. Nebel, C. E. Marshall, J. F. Moreno, C. R. McCleary, and R. W. Lenz. 2008. Sexed semen vs convencional semen.
15. Espinosa, R., Espinosa, I. O., 2010. El semen semen sexado y su efecto en la tasa de concepción, el sexo de la cría, las distocias y los mortinatos en la raza Holstein en los Estados Unidos. *Dairy Sci*. Vol 93, Issue 8, Pag: 3880- 3890.
16. Faust MA, Betthausen J, Crego S, Storch A. Fertility and sex of calf results from a new commercial scale technology platform for producing sexed sperm. *J Anim Sci* 2016;94:534 (abst 1134).
17. Garner, D .L., 2006. Flow cytometric sexing of mammalian sperm.*Theriogenology*, 65: 943-957.
18. Garner, D. L., Seidel Jr. G.E., 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*. 69: 886-895.

19. González-Marín C, Góngora CE, Gilligan TB, Evans KM, Moreno JF, Vishwanath R. 2018. In vitro sperm quality and DNA integrity of SexedULTRATM sexed-sorted sperm compared to non-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, 114:40-45.
20. González-Marín C, Lenz RW, Gilligan TB, Evans KM, Góngora CE, Moreno JF and Vishwanath R. 2017. SexedULTRATM, a new method of processing sex sorted bovine sperm improves post-thaw sperm quality and in vitro fertility. *Reprod Fertil Dev*, 29(1) 204-204 (abstract).
21. Gozalvez J, MA Ramirez, C López-Fernandez, F Crespo, KM Evans, ME Kjelland, JF Moreno, 2011. Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: I. statics features. *Theriogenology* 75,197-205.
22. Herlihy M.M., Giordano J.O., Souza A.H., Ayres H., Ferreira R.M., Keskin A., Nascimento A.B., Guenther J.N., Gaska J.M., Kacuba S.J., Crowe M.A., Butler S.T., Wiltbank M.C. Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. 2012. *Journal of Dairy Science*, 95(12):7003-7014.
23. Hernández Flores, F.J. 2015. Parámetros reproductivos en vacas de alta fertilidad, usando semen sexado. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 12p.
24. Jaramillo Ojeda, F. I., 2012. Desarrollo y utilización del semen sexado en el rebaño bovino lechero. Revisión bibliográfica. Universidad austral de Chile.
25. Johnson LA, Welch GR. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology* 1999;52:1323e41.
26. Kasimanickam R. 2015. Utilization of sexed-sorted semen. *Bovine Reproduction*. Chapter 72. *Bovine Reproduction*, R.M.Hopper, Wiley Blackwell. Pp 673.
27. Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD. SAS system for mixed models. SAS Institute Inc, Cary, NC, Estados Unidos, 1996.
28. López H. 2011. Optimización del uso de semen sexado en ganado lechero. Resúmenes I Simposio latinoamericano en Reproducción Animal, Viña Del Mar, Chile, Pág: 35-40.
29. Lozano H., 2009. Factores que afectan la calidad seminal en toros. *Rev Med Vet Zoot* 56, 258-272.
30. Mocé, E., Graham, J. K., Shenk, J. L., 2006. Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction. *Theriogenology* 66: 929-936.
31. Norman HD, JL Hutchinson, RH Miller. 2010. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia and stillbirth of Holsteins in the United States. *J Dairy Sci* 93, 3880- 3890.
32. Palma, G. A., 2001. Biotecnología de la reproducción. 1ª Edición. Capítulo xvi.
33. Paniagua Sánchez, D. I., 2013. Correlaciones entre la calidad seminal del semen sexado y la fertilidad del toro. Trabajo fin de Máster. Universidad de Oviedo.
34. Pérez, C. C., 2009. Impacto de la utilización de semen sexado. *Mundo ganadero*. Pág.: 34-37.
35. Ramos Coaguila, O., 2013. Utilización de semen sexado en producción de vacunos. Universidad nacional Mayor de San Marcos.
36. Sa Filho, M. F., H. Ayres, R. M. Ferreira, M. Nichi, M. Fosado, E.P. Campos Filho, and P. S. Baruselli. 2010. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology* 74:1636–1642.
37. Sales, J. N., K. A. Neves, A. H. Souza, G. A. Crepaldi, R. V. Sala, M. Fosado, E. P. Campos Filho, M. de Faria, M. F. Sa Filho, and P. S. Baruselli. 2011. Timing of

- insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. *Theriogenology* 76:427–435.
38. Seidel GE, Schenk JL, Herickhoff LA, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, 52:1407-1420.
 39. 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.
 40. Seidel, G. E., 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology* 68: 443- 6.
 41. Sharpe, J. C., Evans, K. M., 2009. Advances in flow cytometry for sperm sexing. *Theriogenology* 66: 929-936.
 42. Souza A.H., Ayres H., Ferreira R.M., Wiltbank M.C. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70(2):208-215.
 43. Tubman, L.M., Brink, Z., Suh, T.K., Seidel, G.E., 2004. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. *Journal of Animal Science* 82, 1029-1036.
 44. Urbina, C. E., 2012. Utilización del semen bovino en IA, transferencia embrionaria y fertilización in vitro. Monografía de grado. Escuela de medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Ecuador.
 45. Velasco Molina, J.H., 2002. El sexaje de semen de toro: ¿sueño o realidad? *Producción animal*.
 46. Villanueva, E., Mellisho, E., 2011. Fertilidad de semen sexado “x” comercial en vacunos de leche. *Spermova* 1(1):106 -107. Bó G.A., Cutaia L. y Tríbulo R. 2002.