

# INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN BOVINOS: EL LUGAR DE DESCARGA DEL SEMEN Y LA DOSIS INSEMINANTE, FACTORES EN CONSTANTE REVISIÓN

Oses, V.(1); Callejas, S.(2) y Cabodevila, J.(2). 2008. Taurus, 10(38): 26-37

(1) Becaria de Entrenamiento de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC).

(2) Área de Reproducción, FISFARVET. Proyecto subsidio CIC 2006. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Campus Universitario (7000) Tandil.

[virgyoses@hotmail.com](mailto:virgyoses@hotmail.com)

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Inseminación artificial en cría y tambo](#)

1. Introducción
2. Aspectos biológicos y técnicos
3. Trabajos efectuados comparando diferentes sitios de descarga del semen y dosis inseminantes
  - 3.1. Inseminación artificial sobre celo natural
  - 3.2. Inseminación artificial sobre celos sincronizados y/o inducidos
  - 3.3. Inseminación artificial de "donantes" de embriones
4. Conclusiones
5. Bibliografía

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue efectuar un análisis actualizado acerca del efecto del lugar de descarga del semen durante la inseminación artificial (IA), la dosis inseminante y la interacción entre ambos sobre la fertilidad. Se analizaron IA a celo natural y sobre celos sincronizados y/o inducidos, también en "donantes" de embriones. Dicho análisis incluyó inseminaciones efectuadas con semen congelado, convencional y sexado. Si bien los resultados de los trabajos realizados en la última década no pueden ser englobados en una única conclusión, del análisis efectuado surge que si la IA está a cargo de profesionales o técnicos con un manejo correcto del tracto genital que les permita evitar la descarga del semen en el cuello del útero, no existen evidencias que demuestren la conveniencia de inseminar en los cuernos uterinos con respecto al cuerpo. Tampoco que sea beneficioso el empleo de un dispositivo que permita descargar el semen cerca de la unión útero-tubárica. Por otra parte, las dosis inseminantes bajas ( $1-2 \times 10^6$  espermatozoides) de semen congelado, tanto convencional como sexado, producen en general una menor fertilidad. Esto se observa principalmente en vacas lecheras en producción y las donantes de embriones. Por último, se debe resaltar que en el resultado de la inseminación influyen también otros factores. Surge del análisis de varios trabajos que los resultados se ven afectados o influenciados por diferentes elementos. Así pueden describirse diferentes efectos: establecimiento, toro, categoría del vientre, número de servicios, intensidad del celo e inseminador.

Palabras clave: bovino; inseminación artificial; semen.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la década del 40, la descarga del semen durante la inseminación artificial (IA) de los bovinos comenzó a efectuarse en el cérvix o en el cuerpo del útero. Esta práctica, que involucra la fijación del cuello uterino por vía transrectal, reemplazó a la que se llevaba a cabo descargando en 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<sup>(13, 15)</sup>.

En las últimas décadas se viene observando una disminución de la fertilidad en el ganado lechero<sup>(5, 12)</sup>. Según los especialistas, este hecho es consecuencia principalmente de los desórdenes reproductivos asociados al aumento de producción; sin embargo, se aconseja rever 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<sup>(12)</sup>. 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<sup>(16)</sup>.

Otro factor en consideración es la dosis inseminante, dado que guarda estrecha relación con el sitio de descarga. La necesidad de lograr un máximo aprovechamiento de los toros genéticamente superiores ha llevado a una disminución progresiva del número de espermatozoides presentes en cada dosis de semen congelado y este hecho se hizo más notorio aún a partir de la aparición en el mercado del semen sexado<sup>(6)</sup>.

Por lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue hacer un análisis actualizado sobre el efecto del lugar de descarga del semen durante la IA, de la dosis inseminante y de la interacción entre ambos sobre la fertilidad.

## 2. ASPECTOS BIOLÓGICOS Y TÉCNICOS

El cérvix de los rumiantes fue considerado el principal reservorio espermático durante mucho tiempo. Sin embargo, diversos trabajos realizados a fines de la década del 80 demostraron que el reservorio más importante de espermatozoides son los oviductos, y más precisamente el segmento denominado istmo<sup>(4)</sup>.

La descarga seminal más cerca del oviducto puede ser una alternativa viable para obtener buenos porcentajes de preñez cuando se utilizan dosis inseminantes bajas, como ocurre con el semen sexado. La descarga intracornual disminuye la pérdida de espermatozoides consecuencia del flujo retrógrado de mucus cervical y de la fagocitosis durante la migración por el útero<sup>(22)</sup>.

Las investigaciones que comparan inseminaciones efectuadas en el cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo asumido como preovulatorio (IOFAP) vs. descarga de semen en ambos cuernos, han tenido resultados contradictorios. Una posible explicación a este hecho podría ser las diferentes condiciones experimentales. Por ejemplo, la inseminación en el cuerno uterino IOFAP tuvo mejores resultados cuando fue hecha contralateralmente a la gestación anterior<sup>(10)</sup>. Aparentemente, el medio ambiente del cuerno post-gravídico podría haber afectado la vida de los espermatozoides. Por otro lado, si bien el ovario derecho de los bovinos es más activo que el izquierdo, se ha comprobado que luego de la involución uterina postparto, esta asimetría bilateral no afecta la preñez, independientemente del lado en el que se efectúe la descarga del semen.

La dosis inseminante no puede descargarse de manera apropiada cerca de la unión útero-tubárica utilizando un catéter rígido. Debido a ello, en la Universidad de Ghent, Bélgica, desarrollaron un dispositivo que además del tubo exterior rígido tiene una prolongación interna flexible que permite avanzar hasta el extremo del cuerno uterino sin dificultad. Para disminuir el número de espermatozoides que quedan en el catéter luego de efectuada la inseminación, la expulsión del semen debe realizarse utilizando 0,1 ml de aire y 0,6 ml de solución fisiológica<sup>(22)</sup>.

Con respecto a la dosis inseminante se ha observado que a medida que ésta se incrementa aumentan el número de espermatozoides accesorios, la tasa de fecundación y la calidad embrionaria (Nadir y col., 1993; citado por<sup>12</sup>).

## 3. TRABAJOS EFECTUADOS COMPARANDO DIFERENTES SITIOS DE DESCARGA DEL SEMEN Y DOSIS INSEMINANTES

En primera instancia, se considerarán inseminaciones efectuadas a celo natural. Luego, inseminaciones sobre celos sincronizados y/o inducidos y por último, inseminaciones en animales con ovarios superestimulados. El motivo de esta división es hacer hincapié en las particularidades de cada caso.

### 3.1. Inseminación artificial sobre celo natural

En un estudio que involucró 4.064 hembras lecheras y de doble propósito, inseminadas siguiendo la regla AM-PM, se comparó el dispositivo de Ghent (descargas en el cuerpo del útero o mitad de la dosis en cada cuerno) con el pistolete universal de Cassou (descarga en el cuerpo del útero). El experimento duró 40 días y participaron del mismo 12 inseminadores que utilizaron dosis inseminantes de semen congelado de 10 y 15 x 10<sup>6</sup> espermatozoides. La tasa de preñez obtenida inseminando con el pistolete de Cassou (57,6 %) fue similar a la lograda inseminando con el dispositivo de Ghent en ambos cuernos uterinos (53,8 %) y mayor que cuando se inseminó con este último en el cuerpo del útero (52,7 %, P<0,01). Las inseminaciones con el dispositivo de Ghent insumieron en promedio 6,5+2,3 minutos más que las efectuadas con el pistolete de Cassou. A los efectos de verificar la importancia de la experiencia en el manejo del nuevo dispositivo se compararon los resultados de cada inseminador en las dos primeras semanas de trabajo, con los de las dos últimas. Si bien todos los inseminadores recibieron 100 dispositivos de Ghent para entrenarse antes de comenzar el experimento, los porcentajes de preñez que obtuvieron en las dos últimas semanas de trabajo tendieron a ser mayores (P=0,07) que los logrados al inicio del experimento. Por último, los resultados del experimento en su conjunto se vieron afectados (P <0,001) por el inseminador, la categoría del vientre y el número de servicio<sup>(22)</sup>.

Andersson y col.<sup>(1)</sup> estudiaron el efecto de la dosis inseminante sobre el porcentaje de preñez a primer servicio en vacas Ayshire. La inseminación se efectuó en el cuerpo uterino, y en el cuerno uterino IOFAP determinado mediante palpación transrectal, o en uno y otro cuerno en el caso de no hacerse palpación previa. Participaron del estudio 12 técnicos que fueron divididos en dos grupos: inseminadores (descargaron el semen en el cuerpo del

útero) y técnicos con experiencia en transferencia embrionaria (descargaron el semen en la mitad de un cuerno uterino). Se utilizaron dos dosis inseminantes:  $2 \times 10^6$  espermatozoides y  $15 \times 10^6$  de espermatozoides (control) provenientes de 6 toros de la misma raza. En la Tabla 1 se puede observar que los porcentajes de preñez fueron influenciados por la dosis utilizada; los porcentajes de preñez promedio de las dosis  $2 \times 10^6$  de espermatozoides y control fueron 31,3 % y 44,9 %, respectivamente. Al efecto de la dosis inseminante ( $P=0,009$ ) se le sumó el de la interacción toro x inseminador ( $P=0,002$ ) que se detalla en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez obtenidos en vacas inseminadas a celo natural, utilizando diferentes lugares de deposición del semen y distintas dosis inseminantes de semen congelado.

Lugar de descarga del semen	n	Vacas Preñadas		Dosis inseminante	Ref. bibliográfica
		n	%		
Cuerno uterino	Ipsilateral	57	22	38,6	$2 \times 10^6$
	Ambos	63	16	25,4 <sup>b</sup>	
	Ipsilateral	64	27	42,2	$15 \times 10^6$
	Ambos	67	29	43,3 <sup>b</sup>	
Cuerpo uterino		164	51	31,1 <sup>A</sup>	$2 \times 10^6$
		181	84	46,4 <sup>a</sup>	$15 \times 10^6$
Cuerno uterino IOFAP	T. anterior	86	46	53,5	$2 \times 10^6$
	T. medio	97	40	41,2	
Cuerpo uterino		179	81	45,3	$40 \times 10^6$

IOFAP: Ipsilateral al ovario con folículo asumido preovulatorio.  
(A,a:  $P < 0,01$  y B,b:  $P < 0,05$ )

**Tabla 2.** Efectos del toro y del técnico sobre la tasa de preñez utilizando 2 y 15 millones de espermatozoides como dosis inseminante en inseminaciones efectuadas con semen congelado, Andersson y col.<sup>(1)</sup>

Toro	Técnico	$2 \times 10^6$ espermatozoides		$15 \times 10^6$ espermatozoides		Diferencias de preñez (%)
		n	Preñez (%)	n	Preñez (%)	
A	TE1	30	26,7	32	34,8	- 17,1
A	IA1	27	18,5	29	51,7	-33,2
B	TE2	21	33,3	21	38,1	-4,8
B	IA2	44	15,9	44	31,8	-15,9
C	TE3	19	15,8	20	40,0	-24,2
C	IA3	37	40,5	36	38,9	1,6
D	TE4	18	44,4	20	50,0	-5,6
D	IA4	20	50,0	22	68,2	-18,2
E	TE5	23	30,4	24	37,5	-7,1
E	IA5	21	23,8	23	56,5	-32,7
F	TE6	9	55,6	14	50,0	5,6
F	IA6	15	60,0	27	48,1	11,9

TE: Técnicos con experiencia en transferencia embrionaria, IA en cuernos uterinos.  
IA: Inseminadores, IA en cuerpo del útero.

Kurykin y col.<sup>(8)</sup> evaluaron el efecto del lugar de descarga seminal y de la dosis inseminante sobre el porcentaje de preñez en inseminaciones efectuadas siguiendo la regla AM-PM, en animales detectados en celo mediante observación visual. Utilizaron 362 vacas Holstein con un intervalo postparto promedio de  $81,4 \pm 31,6$  días, distribuidas en 4 establecimientos. Se utilizó semen congelado proveniente de dos toros de la misma raza y se depositó el semen en el cuerno uterino (tercio anterior o tercio medio) IOFAP y en el cuerpo del útero empleando una dosis inseminante de  $2 \times 10^6$  espermatozoides en la IA intracornual y de  $40 \times 10^6$  espermatozoides cuando se inseminó en el cuerpo del útero.

Como se aprecia en la Tabla 1, el porcentaje de preñez obtenido inseminando en el tercio anterior del cuerno uterino (53,5 %) resultó similar al logrado cuando el semen se depositó en el tercio medio (41,2 %). Estos porcentajes no difirieron del obtenido inseminando en el cuerpo del útero (45,3 %). No se observaron diferencias entre toros; en la inseminaciones en cuerpo del útero, los porcentajes de preñez variaron entre 31,2 % y 60,6 %, según el establecimiento en el que se realizó el estudio ( $P < 0,05$ ).

En animales inseminados a celo natural también se efectuaron trabajos tendientes a comparar el uso de semen congelado sexado y no sexado (convencional).

En un primer experimento se efectuó la comparación empleando una dosis inseminante de  $2 \times 10^6$  espermatozoides. El trabajo involucró vaquillonas y vacas que se inseminaron con semen congelado de siete toros. Llevaron a cabo la tarea 6 técnicos; se efectuaron dos diagnósticos ecográficos de preñez (30-40 días y 70-90 días post-inseminación) y se evaluaron las pérdidas hasta ese momento y al parto (Tabla 3). Las pérdidas de gestación para ambos tipos de semen se produjeron principalmente en el período comprendido entre las dos ecografías (semen sexado: 11,1 % y 17,2 %, semen no sexado: 0 % y 5,6 %; vaquillonas y vacas, respectivamente). En vaquillonas, las diferencias en el porcentaje de preñez entre ambos tipos de semen estuvo al límite de la significancia ( $P = 0,05$ ) en el diagnóstico efectuado a los 30-40 días de gestación, no repitiéndose este hecho al momento del parto. En vacas el comportamiento fue diferente, registrándose porcentajes muy similares al momento de realizar ambas evaluaciones. Si bien el comportamiento de semen sexado y no sexado fue similar en todas las variables estudiadas, se debe tener en cuenta que el número de animales analizados es bajo como para sacar una conclusión definitiva. Con la excepción de un toro que presentó una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre la preñez en vaquillonas inseminadas con semen no sexado, no hubo efectos de la estación del año, de la raza ni del número de lactancias sobre la preñez, las pérdidas embrionarias/fetales y la tasa de parición (3).

**Tabla 3.** Porcentajes de preñez y de parición en animales inseminados con semen congelado sexado y no sexado (convencional).

Tipo de semen	Vaquillonas			Vacas			Dosis inseminante	Ref. bibliográfica
	n	30-40 días	a término	n	30-40 días	a término		
Sexado	27	33,3 <sup>A</sup>	29,6	105	27,6	22,1	$2 \times 10^6$	Bodmer y col. (3)
No sexado	27	59,3 <sup>a</sup>	57,8	105	28,1	23,4		
Sexado				157	21,0 <sup>B</sup>	20,4 <sup>C</sup>	$2 \times 10^6$	Andersson y col. (2)
No sexado				149	46,3 <sup>b</sup>	45 <sup>c</sup>	$15 \times 10^6$	

A, a ( $P = 0,05$ ); B, b y C, c ( $P < 0,001$ ).

En un experimento similar, Andersson y col.<sup>(2)</sup> compararon la tasa de preñez obtenida empleando semen sexado -a igual dosis inseminante que en el ensayo anterior- con la tasa lograda con semen convencional, utilizando una dosis inseminante de  $15 \times 10^6$  espermatozoides. Tanto al momento de diagnóstico de gestación como al parto, se obtuvieron diferencias significativas a favor del semen convencional ( $P < 0,001$ , Tabla 3).

En síntesis, en animales inseminados a celo natural con semen congelado convencional, la fertilidad no se vio afectada por el sitio de descarga del semen. La dosis inseminante tuvo efecto en un trabajo y no ocurrió lo mismo en el restante a pesar de utilizarse dosis control más elevadas ( $15$  y  $40 \times 10^6$  espermatozoides, respectivamente). El semen sexado, utilizando una dosis inseminante de  $2 \times 10^6$  espermatozoides, produjo bajos porcentajes de preñez tanto en vaquillonas como en vacas.

### 3. 2. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SOBRE CELOS SINCRONIZADOS Y/O INDUCIDOS

Por un lado, se analizaron trabajos en los que la sincronización y/o inducción fue complementada con inseminaciones a tiempo fijo (IATF) utilizando semen congelado convencional y por otro, experimentos donde el celo sincronizado y/o inducido fue complementado con inseminaciones a celo detectado, para evaluar el comportamiento del semen sexado.

El efecto del sitio de inseminación y de la dosis inseminante sobre el porcentaje de preñez se evaluó en vaquillonas y vacas Holstein sincronizadas mediante la administración de dos dosis de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) separadas por un intervalo de 14 días e IATF a las 80-82 h ó 72 y 96 h después de la segunda dosis de PGF<sub>2α</sub><sup>(7, 8)</sup>.

El primer experimento<sup>(7)</sup> involucró dos establecimientos y 275 vaquillonas, se utilizaron dosis inseminantes de  $2$  ó  $40 \times 10^6$  espermatozoides de semen congelado de tres toros de la misma raza, con índices de no retorno que variaban entre 57,4 y 58 %. En la elección de las dosis a comparar, se tuvo en cuenta el resultado de un

experimento en el que, en inseminaciones intracornuales, no se observaron diferencias entre dosis inseminantes de 2 y 15 x 10<sup>6</sup> espermatozoides<sup>(1)</sup>. Se compararon las tasas de preñez obtenidas luego de efectuar IATF, a las 80-82 h post segunda dosis de PGF2 $\alpha$ , en el tercio anterior o medio del cuerno uterino IOFAP o en el cuerpo del útero. También se estudió el efecto de la doble inseminación 72 y 96 hs luego de la segunda PGF2 $\alpha$ , en el cuerpo del útero empleando 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides.

La IATF intracornual, utilizando dosis inseminantes de 2 ó 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides, produjo resultados similares y no difirió de la IATF en el cuerpo del útero realizada a las 72 y 96 hs después de aplicar la segunda dosis PGF2 $\alpha$ , con 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides. En cambio, la IATF efectuada en el cuerpo del útero 80-82 hs luego de la segunda dosis de PGF2 $\alpha$ , con 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides, tuvo menor fertilidad (P<0,05; Tabla 4). No hubo efecto toro, establecimiento ni inseminador.

**Tabla 4.** Porcentaje preñez en vaquillonas y vacas Holstein sincronizadas con dos dosis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  e inseminadas a tiempo fijo, con diferente dosis inseminantes, depositadas en el cuerno uterino ipsilateral al ovario con folículo preovulatorio o en el cuerpo del útero.

Lugar de descarga del semen	n	Animales Preñados		Dosis inseminante	Ref. bibliográfica	
		n	%			
Cuerno uterino	T. anterior	69	47	68,1 <sup>a</sup>	Andersson y col. <sup>(1)</sup>	
	T. medio	28	19	67,9 <sup>a</sup>		
	T. anterior	23	14	60,9 <sup>a</sup>		
	T. medio	28	15	53,6 <sup>a</sup>		
Cuerpo uterino	IA1	66	32	42,8 <sup>b</sup>		40x10 <sup>6</sup>
	IA2	51	33	64,7 <sup>a</sup>		
Cuerno uterino	T. anterior	33	9	27,3		Kurykin y col. <sup>(8)</sup>
	T. medio	11	3	27,3		
	T. anterior	41	16	39,0		
	T. medio	20	7	35,0		
Cuerpo uterino		52	18	34,6	40x10 <sup>6</sup>	

IA1: una IATF, 80-82 h post 2<sup>da</sup>. dosis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ; IA2: dos IATF, 72 y 96 h post 2<sup>da</sup>. dosis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$ .  
(a, b; P < 0,05).

Un aspecto a destacar de este trabajo, donde la identificación del ovario con folículo preovulatorio se realizó mediante ecografía, es que en el 16,8 % (16/95) de los casos la preñez se encontraba en el cuerno contra-lateral. Este hallazgo confirmó resultados previos que indicaban que cuando se practica la IA intracornual, puede lograrse preñez a pesar de depositar el semen en el cuerno contra-lateral<sup>(19)</sup>. Los estros habían sido clasificados en fuertes y débiles pero dicha característica no tuvo incidencia en la fertilidad.

Por último, el diámetro medio ( $\pm$ SD) del folículo asumido como ovulatorio en las hembras que resultaron preñadas (15,3  $\pm$  3,2 mm) fue mayor que en las vacías (13,9  $\pm$  4,4 mm, P<0,05). Esto podría ser explicarse teniendo en cuenta que el menor tamaño folicular pudo haber generado un cuerpo lúteo de menores tamaño y funcionalidad, tal cual fue planteado por Vasconcelos y col.<sup>(21)</sup>.

En el segundo experimento se utilizaron 157 vacas Holstein con un intervalo postparto promedio de 67,9  $\pm$  14,6 días, que fueron inseminadas con semen congelado de cuatro toros de la misma raza, con índices de no retorno que variaban entre 52 y 58 %<sup>(8)</sup>. Se utilizaron las mismas dosis inseminantes que en el experimento anterior. La IATF se realizó a las 80-82 h posteriores a la administración de la segunda dosis de PGF2 $\alpha$ . La inseminación en el tercio anterior o medio del cuerno uterino IOFAP tuvo resultados similares entre sí, utilizando dosis inseminantes de 2 ó 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides. Dichos resultados no difirieron del obtenido al inseminar en el cuerpo del útero con 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides (Tabla 4).

En este trabajo sí se detectaron diferencias entre toros (P<0,05). Además, el porcentaje de preñez en el cuerno uterino contra-lateral al folículo considerado ovulatorio ascendió a 28 %. El diámetro medio del folículo asumido como ovulatorio en los animales preñados (17,0  $\pm$  4,2 mm) fue mayor que en los que quedaron vacíos (15,6  $\pm$  3,6 mm, P<0,05). Por último, el diámetro de los folículos que ovularon contralateralmente al cuerno IOFAP (10,6  $\pm$  1,1 mm) fue menor que el de los folículos cuya ovulación había sido prevista (15,0  $\pm$  1,3 mm, P<0,001). Este hecho sería consecuencia de la pérdida de dominancia de dicho folículo y del surgimiento de un nuevo folículo dominante, en este caso sí ovulatorio luego de la administración de la PGF2 $\alpha$ <sup>(17)</sup>.

En síntesis, el resultado de la inseminación de hembras sincronizadas y/o inducidas no se vio afectado por el sitio de descarga del semen cuando se utilizó una dosis inseminante de  $40 \times 10^6$  espermatozoides. Por otra parte, en IA intracornuales no hubo diferencias entre descargar el semen en los tercios anterior y medio. Además, con la dosis inseminante de  $2 \times 10^6$  se obtuvieron resultados equivalentes a los logrados inseminando en el cuerpo del útero con  $40 \times 10^6$  espermatozoides.

Seidel y col.<sup>(20)</sup> realizaron una serie de experimentos para evaluar el comportamiento del semen sexado congelado. La sincronización se efectuó mediante diferentes protocolos basados en la administración de PGF2 $\alpha$ , combinaciones de GnRH/PGF2 $\alpha$  y acetato de melengestrol/ PGF2 $\alpha$ . Se utilizaron vaquillonas de razas productoras de carne y leche que se inseminaron con semen proveniente de 22 toros de fertilidad desconocida. Participaron de la experiencia 6 técnicos que descargaron la dosis inseminante en el cuerpo del útero o una mitad en cada cuerno uterino. En este último caso, se utilizó un pistolete de los comúnmente empleados para realizar transferencia embrionaria. Como cada trabajo involucró un número reducido de animales por grupo, se analizó en conjunto aquellos experimentos en los que se aplicaron tratamientos idénticos. Como se puede apreciar en la Tabla 5, el porcentaje de preñez obtenido con el semen sexado osciló entre 70 % y 90 % del logrado con el semen convencional no sexado en los que la dosis inseminante fue entre 6 y 20 veces mayor. En uno de los experimentos se observó una diferencia significativa entre las dosis inseminantes de  $1-1,5 \times 10^6$  y  $3 \times 10^6$  (55 % vs. 80 %, respectivamente;  $P < 0,05$ ). No ocurrió lo mismo en el resto de los experimentos donde no se observaron mayores diferencias. Algo similar ocurrió con el sitio de descarga del semen; sólo el inseminador más experimentado obtuvo un mayor porcentaje de preñez efectuando la descarga del semen en los cuernos uterinos (62 vs. 40 %,  $P < 0,05$ ).

**Tabla 5.** Resumen de experimentos llevados a cabo combinando diferentes lugares de deposición del semen y dosis inseminante de semen sexado y semen convencional, no sexado congelado.

Lugar de descarga del semen	n	Vacas Preñadas		Dosis inseminante	Ref. bibliográfica	
		n	%			
Sexado, cuernos uterinos	72	32	44,4	$1-1,5 \times 10^6$	Seidel y col. <sup>(20)</sup> Exp. 2,3,5,7	
Sexado, cuerpo del útero	77	36	46,8			
Sexado, cuernos uterinos	72	39	54,2	$3 \times 10^6$		
Sexado, cuerpo del útero	76	38	50,0			
Convencional, cuerpo del útero	93	61	65,6	$20 \times 10^6$		
Sexado, cuerpo del útero	176	98	55,7	$1-1,5 \times 10^6$		Seidel y col. <sup>(20)</sup> Exp.1,2,3,5,6,7
Sexado, cuerpo del útero	171	88	51,5	$3 \times 10^6$		
Convencional, cuerpo del útero	183	124	67,8	$20 \times 10^6$		
Sexado, cuernos uterinos	158	85	53,8	$1-1,5 \times 10^6$	Seidel y col. <sup>(20)</sup> Exp. 2,3,4,5,7	
Sexado, cuerpo del útero	163	70	42,9			
Convencional, cuerpo del útero	128	79	61,8	$20 \times 10^6$		
Sexado, cuerno uterino IOFAP				$2,2 \times 10^6$		Kurykin y col. <sup>(9)</sup>
T. anterior	61	24	39,3			
T. medio	57	28	49,1			
Sexado, cuerpo del útero	91	38	41,7			

IOFAP: Ipsilateral al ovario con folículo asumido preovulatorio.

En nuestro país, Medina y col.<sup>(14)</sup> efectuaron un estudio comparando semen congelado sexado y convencional. Las dosis inseminantes fueron 3 y  $30 \times 10^6$  espermatozoides, respectivamente. Se efectuaron 12 experimentos que involucraron 3 toros Hereford y 9 Holstein y 844 vaquillonas de las mismas razas. Los celos se sincronizaron mediante la aplicación del protocolo que se basa en la administración de dos dosis de POF2 $\alpha$  separadas por 11-14 días. Se llevó a cabo detección de celo por observación visual y la descarga seminal se hizo en el cuerpo del útero siguiendo la regla AM-PM. Los porcentajes de preñez obtenidos con semen sexado variaron entre 35 y 63 % y con el semen convencional entre 37 y 100 %. En 4 de los 12 experimentos se obtuvo un porcentaje de preñez menor ( $P < 0,05$ ) cuando se utilizó semen sexado.

En un trabajo reciente Kurikin y col.<sup>(9)</sup> inseminaron 209 vaquillonas Holstein utilizando semen sexado proveniente de dos toros de la misma raza. La descarga en el cuerpo del útero o en cuerno uterino IOFAP (tercio anterior o medio), empleando una dosis inseminante de  $2,2 \times 10^6$  arrojó porcentajes de preñez similares (Tabla 5).

En este trabajo, el porcentaje de preñez de vaquillonas con signos intensos de celo (45,9 %) fue superior al de aquellas con signos débiles (20,8 %,  $P < 0,01$ ).

### 3. 3. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE "DONANTES" DE EMBRIONES

Se llevaron a cabo varios trabajos para evaluar diferentes dosis inseminantes y distintos sitios de descarga de las mismas en hembras "donantes" incluidas en programas de transferencia embrionaria.

Schenk y col.<sup>(18)</sup> evaluaron el comportamiento de diferentes dosis inseminantes de semen congelado sexado mediante citometría de flujo, y no sexado, en vaquillonas y vacas "donantes" de embriones. La inseminación se efectuó en el cuerpo del útero. En un primer experimento, en el que se utilizaron vaquillonas y vacas Angus y semen de dos toros de la misma raza, compararon dos dosis de semen sexado (2 y 10 x 10<sup>6</sup> espermatozoides) con semen no sexado (40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides), procediendo a realizar dos inseminaciones, a las 12 y 24 h de haber detectado el celo mediante observación visual respectivamente. El porcentaje de ovocitos fecundados y el número de embriones transferibles obtenidos con ambas dosis de semen sexado fue similar y resultó menor ( $P < 0,05$ ) que el logrado con el semen no sexado (Tabla 6).

**Tabla 6.** Porcentaje de ovocitos fecundados y número de embriones transferibles ( $X \pm ES$ ) en "donantes" inseminadas con semen congelado sexado y no sexado, 12 y 24 h post-detección visual de celo.

	Tipo de semen y dosis inseminante	n	Porcentaje de ovocitos fecundados	Número de embriones transferibles
Experimento 1	Sexado (2 x 10 <sup>6</sup> )	30	40 <sup>a</sup> ± 6,0	3,3 <sup>a</sup> ± 0,9
	Sexado (10 x 10 <sup>6</sup> )	30	49 <sup>a</sup> ± 6,0	4,1 <sup>a</sup> ± 0,9
	No sexado (40 x 10 <sup>6</sup> )	29	69 <sup>b</sup> ± 6,1	8,7 <sup>b</sup> ± 0,9
Experimento 2	Sexado (2 x 10 <sup>6</sup> )	31	28 <sup>a</sup> ± 7,1	1,3 <sup>a</sup> ± 0,5
	Sexado (20 x 10 <sup>6</sup> )	34	49 <sup>b</sup> ± 6,8	2,0 <sup>ab</sup> ± 0,5
	No sexado (40 x 10 <sup>6</sup> )	33	72 <sup>c</sup> ± 6,9	3,1 <sup>b</sup> ± 0,5

(a, b, c,  $P < 0,05$ ).

En el segundo experimento se utilizaron vaquillonas Holstein y tres toros de la misma raza. Se compararon dos dosis de semen sexado (2 y 20 x 10<sup>6</sup>) con semen no sexado (con 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides), procediendo a realizar una inseminación a tiempo fijo, 70-72 h post-administración de la PGF2 $\alpha$ . El porcentaje de ovocitos fecundados difirió en las tres dosis inseminantes ( $P < 0,05$ ). El número de embriones transferibles con la menor dosis de semen sexado difirió ( $P < 0,05$ ) del obtenido utilizando semen no sexado, en cambio la dosis mayor no difirió de las otras dosis evaluadas (Tabla 6).

En síntesis, en "donantes" de embriones inseminadas a celo detectado vs. a tiempo fijo la fertilidad se ha visto afectada por la utilización de semen sexado. No obstante, el aumento de la dosis inseminante a 20 x 10<sup>6</sup> espermatozoides posibilitó obtener un número de embriones transferibles similar al logrado con el semen convencional a la dosis de 40 x 10<sup>6</sup> espermatozoides.

### 4. CONCLUSIONES

Si bien los resultados de los trabajos realizados en la última década no pueden ser englobados en una única conclusión, del análisis efectuado surge que:

- ◆ Si la IA está a cargo de profesionales o técnicos con un manejo correcto del tracto genital que les permita evitar la descarga del semen en el cuello del útero, no existen evidencias que demuestren que sea conveniente inseminar en los cuernos uterinos y no en el cuerpo. Tampoco hay evidencias para afirmar que sea beneficioso el empleo de un dispositivo que permita efectuar la descarga del semen cerca de la unión útero-tubárica.
- ◆ Por otra parte, las dosis inseminantes bajas (12 x 10<sup>6</sup> espermatozoides) de semen congelado, tanto convencional como sexado, tienen en general una menor fertilidad. Esto se observa principalmente en animales particularmente sensibles, como son las vacas lecheras en producción y las "donantes" de embriones.
- ◆ Por último, se debe resaltar que en el resultado de la inseminación influyen también otros factores. La sumatoria de trabajos analizados demostró que intervienen diferentes "efectos": establecimiento, toro, categoría del vientre, número de servicios, intensidad del celo e inseminador.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. Andersson, M., Taponen, J., Koskinen, E. and Dahlbom, M. 2004. Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. *Theriogenology*, 61: 1583-1588
2. Andersson, M., Taponen, J., Kommeri, M. and Dahlbom, M. 2006. Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. *Reprod Domest Anim*, 41: 95-97
3. Bodmer, M., Janett, E., Hassig, M., den Dass, N., Reichert, P and Thun, P 2005. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology*, 64:1647-1655.
4. Bosh, P, Wright, R. Jr. 2005. The oviductal sperm reservoir in domestic mammals. *Arch. Med. Vet.*, 37: 95-104.
5. Butler, W 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2533-2539.
6. Johnson, L., Cran, D. and Polge, C. 1994. Recent advances in sex preselection of cattle: flow cytometric sorting of X- & Y Chromosome bearing sperm based on DNA to produce progeny. *Theriogenology*, 41: 51-56.
7. Kurykin, J., Jaakma, U., Majas, L., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A., and Padrik, P 2003. Fixed time deep intracornual insemination of heifers at synchronized estrus. *Theriogenology*, 60: 1261-1268.
8. Kurykin, J., Jaakma, U., Waldmann, A., Jalakas, M., Aidnik, M., Majas, L. and Padrik, P 2006. Low dose intracornual insemination of cows at fixed time after PGF2a treatment or at spontaneous estrus. *Animal Reproduction Science*, 95:116-124.
9. Kurykin, J., Jaakma, U., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A. and Majas, L. 2007. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*, 67: 754-759.
10. López-Gatiús, E 1996. Side of gestation in dairy heifers affects subsequent sperm transport and pregnancy rates after deep insemination into one uterine horn. *Theriogenology*, 45: 417-425.
11. López-Gatiús, E 1997. Transuterine sperm transport is not affected by bilateral asymmetry of the reproductive system in dairy cows. *Theriogenology*, 47: 1319-1325.
12. López-Gatiús, E 2000. Site of semen deposition in cattle: A review. *Theriogenology*, 53:1407-1414.
13. Macpherson, J. 1968. Semen placement effects on fertility in bovines. *J Dairy Sci*, 51: 807-808
14. Medina, M., Cattaneo, L., Caballero, J., Cerrate, H., Panarace, M., Ferré, L. y Dalla Lasta, M. 2001. Semen bovino sexado y congelado en Argentina. *Taurus*, 13: 4-8.
15. Moller, K., Macmillan, K. and Shannon, P 1972. Site of insemination and subsequent non-return rates in cows. *NZ J Agr Res*, 15: 252-254.
16. Peters, J., Senger, P, Rosenberger, J. and O'Connor, M.1984. Radiographic evaluation of bovine artificial inseminating technique among professional and herdsman-inseminators using .5 and .25-ml French straws. *J Anim Sci*, 59: 1671-1683.
17. Quirk, S., Hickey, G. and Fortune, J. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF2a induced luteolysis. *J Reprod Fet*, 77: 211-219.
18. Schenk, J., Suh, T and Seidel Jr, G.. 2006. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. *Theriogenology*, 65: 299-307.
19. Seidel, Jr. G., Allen, C., Johnson, L., Holland, M., Brink, Z. and Welch, G. 1997. Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of non-frozen and sexed spermatozoa. *Theriogenology*, 48: 1255-1264.
20. Seidel, Jr. G, Schenk, J., Herickoff, L., Doyle, S., Brink, Z., Green, R. and Cran, D.G. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, 1404-20.
21. Vasconcelos, J., Sartori, R., Oliveira, H., Guenther, J. and Wiltbank, M. 2001. Reduction on size of ovulatory follicle reduce subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56: 307-314.
22. Verberclanoes, S., Van Scoom, A., De Pauw, I., Dewulf, J., Vervaeck, C. and Aert de Kruif 2004. Assessment of a new utero-tubal junction insemination device in dairy cattle. *Theriogenology*, 61:103-115.

Volver a: [Inseminación artificial en cría y tambo](#)