

FACTORES QUE AFECTAN EL RESULTADO DE UN PROGRAMA DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS

Dalton, J. C.¹, Nadir, S.², Noftsinger, M.³ y Saacke, R. G.⁴. 2011. *Taurus, Bs. As.*, 13(49):4-19.
www.revistataurus.com.ar

1) University of Idaho, Caldwell, ID.

2) Genex Cooperative, Inc., Shawano, WI.

3) Emergency Veterinary Services, Roanoke, VA.

4) Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle,
January 28-29, 2010; San Antonio, TX, USA.

www.produccion-animal.com.ar

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

INTRODUCCIÓN

Los programas de sincronización de celos permiten llevar a cabo una inseminación artificial (IA) en forma organizada y eficiente. Facilitan la implementación de esta biotécnica al modificar la longitud del ciclo estral y/o manipular el desarrollo folicular, generando un celo más predecible o permitiendo la IATF. Si bien el cumplimiento del protocolo es muy importante para el éxito de un programa de sincronización de celo u ovulación (correcta identificación de las vacas, administración de hormonas a las dosis y por vías apropiadas y en los momentos adecuados), muchos otros factores también son importantes. Estos factores incluyen:

- a) manejo del semen, número de espermatozoides depositados y lugar de descarga,
- b) calidad del semen, incluyendo rasgos espermáticos "compensables" y "no compensables",
- c) estado de fertilización y calidad embrionaria y
- d) efectos toro y momento de IA.

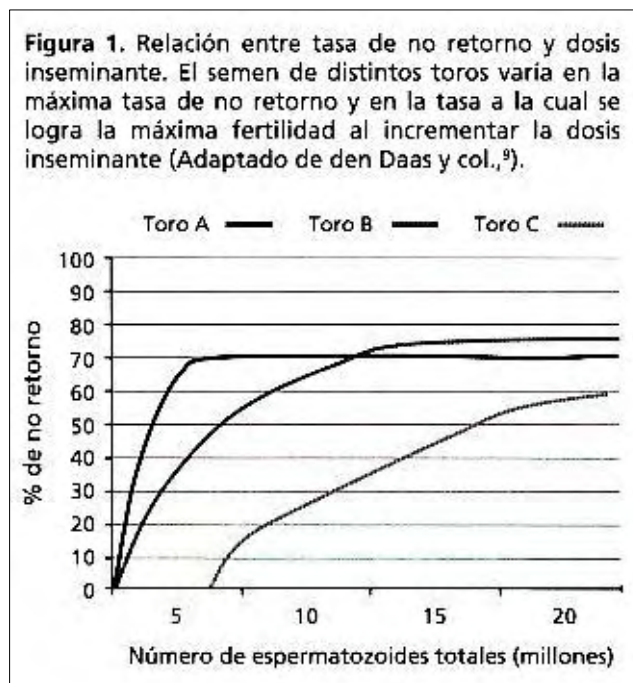
MANEJO DEL SEMEN

Los protocolos de sincronización de celos u ovulaciones para IATF están siendo cada vez más utilizados. Consecuentemente, muchas vacas deben ser inseminadas en un día predeterminado. Para facilitar que la IA sea realizada en el momento adecuado, los técnicos inseminadores rutinariamente descongelan varias pajuelas a la vez. Dalton y col. realizaron un trabajo a campo para determinar: 1) el efecto de descongelar varias pajuelas de 0,5 ml simultáneamente y el efecto de la secuencia de inseminación (primera, segunda, tercera o cuarta) sobre las tasas de concepción, 2) si las tasas de concepción logradas por equipos profesionales de IA eran diferentes a las conseguidas por técnicos no profesionales y 3) el efecto del tiempo transcurrido desde el inicio de la descongelación y el momento de la descarga en la vaca sobre las tasas de concepción. Si bien la tasa de concepción promedio difirió entre los grupos profesionales y no profesionales (45% vs 27%), la descongelación simultánea y la secuencia de inseminación (primera, segunda, tercera o cuarta) y el tiempo transcurrido entre el inicio de la descongelación y la IA de la cuarta pajuela no tuvieron efecto sobre la tasa de concepción entre grupos de inseminadores⁷. Las tasas de concepción generalmente son maximizadas cuando: a) hay una identificación precisa de las vacas y una administración apropiada de los tratamientos a todos los animales que se quiera sincronizar, b) existe una correcta identificación de las vacas en celo, c) se da cumplimiento de las recomendaciones del centro elaborador para la descongelación de las pajuelas, d) se previene el contacto directo entre pajuelas durante la descongelación para evitar reducir la viabilidad posdescongelación³, e) se emplean procedimientos higiénicos, f) se mantiene la protección térmica de las pajuelas durante el armado de la pistola de IA y el transporte a la vaca y g) se descarga el semen en el útero dentro de los 15 minutos posteriores a la descongelación.

NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES DEPOSITADOS

Salisbury y VanDemark³⁷ fueron los primeros que sugirieron una relación entre la fertilidad y la cantidad y calidad de semen utilizado, al proponer que la misma aumenta al incrementar el número de espermatozoides viables inseminados hasta alcanzar un nivel umbral. Superado ese umbral, la hembra se transforma en el factor limitante y un aumento en el número de espermatozoides no resulta en una mayor fertilidad. Sullivan y Elliot⁴⁰ informaron que el número mínimo de espermatozoides móviles requerido para lograr la máxima fertilidad difiere entre toros, mientras que den Daas y col.⁹ concluyeron que los toros difieren en su máxima tasa de no retorno, y en la tasa a la cual ellos alcanzan este máximo a medida que el número de espermatozoides por dosis es aumentado (Figura 1). La tasa de no retorno, históricamente utilizada en la industria lechera, es un parámetro indirecto de la fertilidad, específicamente definido por Rycroft en 1992³³ como "el porcentaje de vacas que no son reinseminadas

dentro de un período específico luego de la inseminación, habitualmente 60 a 90 días". Independientemente de la calidad seminal, Pace y col.²⁸ reportaron que la fertilidad aumenta con el incremento del número de espermatozoides estructuralmente intactos y móviles. Sullivan y Elliot⁴⁰ observaron que los toros de menor fertilidad requieren más espermatozoides a la inseminación para alcanzar el máximo de fertilidad que aquellos más fértiles. Sullivan y Elliot⁴⁰ postularon que fueron necesarios más espermatozoides debido a la presencia de anomalías espermáticas que impedían el acceso de los mismos al sitio de fertilización. Medidos como espermatozoides accesorios atrapados en la zona pelúcida de embriones recuperados 6 días post IA, la incapacidad aparente de estos espermatozoides anormales para llegar al sitio de inseminación fue luego demostrada como cierta por Saacke y col.³⁵.



CARACTERÍSTICAS SEMINALES COMPENSABLES Y NO COMPENSABLES

Conjuntamente, los trabajos de Salisbury y VanDemark³¹, Sullivan y Elliot⁴⁰, y den Dass y col.⁹ dieron la evidencia que hay parámetros seminales que son "compensables" y otros "no compensables", como describiera originalmente Saacke y col.³⁴. Concretamente, los atributos compensables de calidad seminal están relacionados con la incapacidad de alcanzar el ovocito, pero no de unirse y penetrar la zona pelúcida, e iniciar el bloqueo de la polispermia. Los atributos no compensables se refieren a la incapacidad del espermatozoide fertilizante para completar la fertilización y mantener el desarrollo embrionario temprano. Por lo tanto, las deficiencias seminales, vistas como una menor fertilidad cuando el número de espermatozoides está por debajo del umbral, y que pueden ser solucionadas o minimizadas al aumentar la dosis inseminante deben ser consideradas compensables. Los centros de IA rutinariamente ajustan las dosis inseminantes cuando existen deficiencias compensables conocidas. Las deficiencias seminales que llevan a una menor fertilidad independientemente de las dosis inseminantes son consideradas no compensables. Los toros con semen con niveles inaceptables de anomalías espermáticas son generalmente la mayor fuente de defectos no compensables. Consecuentemente, a los toros con altos niveles de anomalías no se les debería colectar, preservar ni utilizar su semen para IA. Los espermatozoides con vacuolas nucleares (cráteres o diadema) y espermatozoides con cabezas normales aparecen como espermatozoides accesorios con la misma frecuencia³⁵. El uso de semen con estas características redujo la calidad embrionaria y las tasas de fertilización comparado con semen control en el que estos atributos no eran evidentes o estaban minimizados^{8, 24, 34}.

Por lo tanto, las vacuolas nucleares (cráteres o diadema) fueron originalmente consideradas defectos no compensables. Sin embargo, Acevedo y col.¹ reportó que espermatozoides con cabezas de forma normal con vacuolas nucleares (cráteres o diadema) perdían la vulnerabilidad de la cromatina a la desnaturalización ácida, un resultado que es contrario al concepto que los espermatozoides con cabeza de forma normal con vacuolas nucleares son capaces de fertilizar, pero no de mantener al embrión. Como sugirieron Walters y col.⁴², el menor desarrollo embrionario luego de utilizar espermatozoides morfológicamente anormales parecería ser multifacético y relacionado con los cambios en la morfología de la cabeza. Los espermatozoides con anomalías severas no aparecen como espermatozoides accesorios (aquellos atrapados en la zona pelúcida)³⁵, y se piensa que no son capaces de atravesar las barreras del tracto reproductivo femenino. Consecuentemente, los espermatozoides severamente afectados en su morfología son considerados como espermatozoides con rasgos seminales compensables. La alteración de la

movilidad progresiva parece ser una de las razones de la exclusión de estos espermatozoides, como reportaron Dresdner y Katz¹², incluso pequeñas diferencias geométricas en la forma de la cabeza pueden causar grandes diferencias en la movilidad. En otro escenario posible, los efectos de la espermatogénesis anormal representados por anomalías morfológicas pueden incluir espermatozoides aparentemente normales en la misma muestra de semen. Estos espermatozoides aparentemente normales y espermatozoides con ligeras anomalías en la misma muestra de semen deberían ser considerados como rasgos no compensables, y se debería esperar una disminución en la fertilidad. Las características compensables no pueden ser totalmente explicadas por las evaluaciones de morfología y de viabilidad *in vitro* actuales. Toros cuyos espermatozoides son capaces de llegar al ovocito *in vivo* a bajas dosis inseminantes basados en datos de fertilidad (den Daas y col.,⁹) o por el número de espermatozoides accesorios por embrión (ovocito)²⁶ pueden diferir de espermatozoides de otros toros en patrones de movilidad o a través de modificaciones importantes en la superficie espermática para el reconocimiento del ovocito, unión y penetración. Por ejemplo, la movilidad hiperactiva, en lugar de movilidad progresiva, se cree que es más importante para la penetración de la zona pelúcida en ratones³⁹. Adicionalmente, Killian y col.¹⁹ reportaron que las modificaciones en la superficie espermática pueden involucrar a proteínas plasmáticas seminales, mientras que Bellin y col. determinaron que las proteínas unidas a heparina en las membranas espermáticas y en el fluido seminal estuvieron positivamente relacionadas con la fertilidad en los toros. Si bien el diagnóstico de rasgos seminales compensables y no compensables es igualmente importante, el foco debería ser puesto en los rasgos no compensables, ya que resultan en una disminución en la fertilidad independientemente de la dosis inseminante. Los productores pueden minimizar los riesgos asociados con las deficiencias no compensables: a) utilizando semen de centros de IA que analizan rutinariamente la morfología espermática y b) controlando todos los toros utilizados para servicio natural con un examen completo de fertilidad que incluya morfología espermática. Una guía detallada de la evaluación de la aptitud reproductiva fue realizada por la Sociedad de Teriogenología Estadounidense en 1992, y puede ser revisada en otros trabajos¹⁵.

LUGAR DE DESCARGA DEL SEMEN

Muchos estudios han comparado la descarga cerca de la curvatura mayor de los cuernos con la descarga convencional en el cuerpo uterino. Aunque Senger y col.³⁸, López-Gatius²¹ y Pursley³² informaron mayores tasas de concepción cuando el semen era depositado en los cuernos, Hawk y Tanabe¹⁴, Williams y col.⁴³, y McKenna y col.²³ no encontraron diferencias comparando inseminaciones realizadas en el cuerpo o en los cuernos uterinos. Además, Diskin y col.¹⁰ informaron una interacción inseminador/lugar de descarga, con evidencias de aumento, disminución o ausencia de efecto del sitio de descarga del semen sobre la tasa de concepción para inseminadores individuales. Dalton y col.⁵ reportaron una ligera ventaja en el número de espermatozoides accesorios atribuido a la descarga cerca de la unión utero-tubárica comparado con la descarga convencional en el cuerpo uterino. Lamentablemente, no está claro por qué algunos pocos estudios han mostrado una ventaja en la fertilidad luego de la inseminación en el cuerno mientras que otros no. Una posible explicación al efecto positivo de la descarga en los cuernos puede estar relacionado con la minimización o eliminación de la descarga cervical. Descargas cervicales erróneas ocurren en el 20% de las inseminaciones cuyo blanco es el cuerpo uterino²⁹. Macpherson²² reportó que la inseminación cervical resultó en una disminución de la fertilidad del 10% comparada con la obtenida en la descarga en el cuerpo uterino. Todos los técnicos inseminadores deberían desarrollar la capacidad para reconocer cuándo el extremo de la pistola de IA permanece en el cérvix. Para maximizar las tasas de concepción, los inseminadores deben continuar manipulando el tracto reproductivo hasta que la punta de la pistola de IA pase el cuello y la descarga de semen en el útero esté completada.

ESPERMATOZOIDES ACCESORIOS, ESTATUS DE FERTILIZACIÓN Y CALIDAD EMBRIONARIA

La cuantificación de espermatozoides accesorios ha sido utilizada para identificar factores que permitan incrementar la eficiencia reproductiva del ganado. En este proceso, los embriones (ovocitos) son recuperados por lavaje uterino el día 6 post IA. La tasa de fertilización es calculada y la calidad morfológica embrionaria evaluada²⁰ para los embriones en estadio de mórula, y el número de espermatozoides atrapados en la zona pelúcida de cada embrión (ovocito) es cuantificado siguiendo el procedimiento de DeJarnette y col.⁸. El número de espermatozoides accesorios en la zona pelúcida ha sido asociado positivamente con la fertilidad en el ganado^{8, 14, 17, 26}.

Aunque el número de espermatozoides accesorios no está directamente involucrado con la fertilización, representa la capacidad de los espermatozoides para llegar al oviducto, capacitarse, reconocer, unirse y realizar la reacción acrosómica verdadera, y penetrar parcialmente la zona pelúcida. Los espermatozoides accesorios son atrapados en la zona pelúcida por la "reacción en zona", el bloqueo funcional de la polispermia que ocurre inmediatamente después de la fertilización por el espermatozoide fertilizante. Por lo tanto, los espermatozoides accesorios constituyen una medida indirecta del transporte espermático, y una medida cuantitativa de la disponibilidad espermática y la competencia para la fertilización. Varios años de estudio (utilizando semen de cerca de 30 toros y 927 embriones (ovocitos) recuperados el día 6 post IA) han permitido aclarar la relación entre el número de es-

permatozoides accesorios, el estatus de fertilización y la calidad embrionaria (Tabla 1). Los embriones clasificados como excelentes y buenos tienen más espermatozoides accesorios, cuando son comparados con los regulares, pobres, degenerados y óvulos infertilizados. La asociación de calidad embrionaria mayor y número de espermatozoides accesorios más alto se cree que es debida a la mayor competencia entre espermatozoides potencialmente fertilizantes al momento de la fertilización.

Tabla 1. Relación de los espermatozoides accesorios por embrión (óvulo) con el estado de fertilización y la calidad embrionaria (n= 927).

| Estatus de fertilización/calidad embrionaria ⁽¹⁾ | n | Espermatozoides accesorios por embrión | |
|---|-----|--|---------|
| | | Promedio \pm DS | Mediana |
| Excelente/bueno | 449 | 24,5 \pm 44,1 | 7 |
| Regular/pobre | 213 | 17,2 \pm 32,2 | 5 |
| Degenerado | 80 | 13,5 \pm 38,1 | 1 |
| Degenerado/infertilizado | 12 | 2,7 \pm 5,7 | 0,5 |
| Infertilizado | 173 | 1,6 \pm 16,5 | 0 |

(1) Calidad embrionaria basada en Lindner y Wright ⁽⁷⁾ modificada para embriones degenerados por DeJarnette y col. ⁽⁸⁾.

Howard y col.¹⁶ describieron la selección espermática por la zona pelúcida, evidenciando que la competencia favorece al espermatozoide más competente. En la Tabla 1 queda claro que existe una gran variación en el número de espermatozoides accesorios dentro y entre categorías de estado de fertilización y calidad embrionaria. Consecuentemente, esta variación se opone al uso del número de espermatozoides accesorios como predictor de la fertilidad del toro. No obstante, la búsqueda de un mayor número de espermatozoides accesorios puede ayudar al desarrollo de futuras estrategias reproductivas para incrementar la fertilidad.

Numerosos estudios han buscado aumentar el número de espermatozoides accesorios (Tabla 2, ver Saacke y col.³⁶, para una revisión). En esta presentación, pondremos el foco en dos factores importantes para las sincronizaciones de celo e IATF: 1) el efecto toro y 2) el momento de IA en relación a la ovulación.

Tabla 2. Resumen de los intentos de elevar la cantidad de espermatozoides accesorios.

| Intento | Resultado | Referencia |
|--|-------------|-------------------------|
| Bloqueo de la pérdida espermática retrógrada | Sin efectos | DeJarnette y col. 1992 |
| Microencapsulación | Negativo | Munkittrick y col. 1992 |
| Semen congelado vs fresco | Sin efecto | Nadir y col. 1993 |
| Dosis inseminante | Positivo | Nadir y col. 1993 |
| Selección del macho | Positivo | Nadir y col. 1993 |
| Diluyente (leche vs citrato-yema de huevo) | Sin efecto | Dalton y col. 1994 |
| Plasma seminal | Sin efecto | Nadir y col. 1995 |
| Sitio de inseminación | Positivo | Dalton y col. 1999 |
| Momento de inseminación | Positivo | Dalton y col. 2001 |

EFEECTO DEL TORO

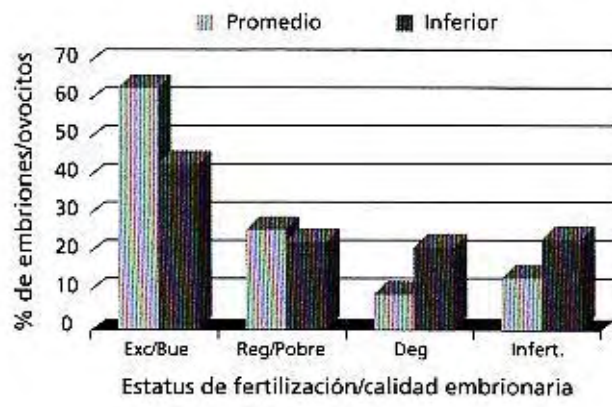
En 1993, Nadir y col.²⁶ reportaron que el número de espermatozoides accesorios podía ser mejorado por el uso de toros específicos (Tabla 3). Claramente, muchos espermatozoides del toro A alcanzaron el ovocito, evidenciado por el alto número de espermatozoides accesorios comparado con otros toros. Se esperaría que el toro A fuera menos vulnerable al manejo del semen y a errores del inseminador que el de otros toros. Aunque se esperaría que los toros B y C alcanzaran una fertilidad y calidad embrionaria similares a las del toro B (basado en la mediana del número de espermatozoides accesorios de 8 y 13, respectivamente), la capacidad de los toros B y C para producir un embrión podría depender más fuertemente de la capacidad del inseminador y del momento de la IA. Finalmente, el toro D (con un número de espermatozoides accesorios de 2) obtendría una fertilidad y una calidad embrionaria marginales al ser usado en IA. Cuando las características seminales involucradas en estas diferencias son: a) conocidas y b) consideradas compensables, los centros de IA ajustan la dosis inseminante adecuadamente. Lamentablemente, muchas diferencias compensables no han sido aún dilucidadas. Por lo tanto, el ajuste de la dosis inseminante puede ser únicamente determinado por datos de fertilidad a partir de la IA de un gran número de animales.

Tabla 3. Número de espermatozoides accesorios por embrión (ovocito) de toros utilizados a la misma dosis inseminante.

| Toro | n | mediana | Promedio \pm DE |
|------|----|---------|-------------------|
| A | 25 | 40 | 53 \pm 61 |
| B | 37 | 8 | 15 \pm 23 |
| C | 16 | 13 | 36 \pm 65 |
| D | 20 | 2 | 11 \pm 16 |

Adaptado de Nadir y col. ^{12a)}.

DeJarnette y col.⁸ estudiaron el efecto del semen de toros calificados como "promedio" o "inferior al promedio" (evaluado por el centro de IA) basado en el porcentaje de espermatozoides anormales. Como puede verse en la Figura 2, semen por debajo del promedio produjo pocos embriones excelentes y buenos y una mayor cantidad de embriones degenerados y ovocitos infertilizados al compararlo con el semen de calidad promedio. El mejor marcador de anomalías no compensables es la presencia de anomalías espermáticas. Los espermatozoides anormales reflejan tanto la salud de la espermatogénesis y del ADN contribuido al embrión. Antes de ser aceptados para ser utilizados en cualquier programa, los toros son controlados en el número de espermatozoides anormales. Además, los centros de IA de alta reputación evalúan rutinariamente el semen para monitorear cambios en la producción espermática del mismo. Aunque el servicio natural no está masivamente recomendado para vacas sincronizadas, se recomienda hacer un examen de aptitud reproductiva para todos los toros en servicio natural. Los productores pueden minimizar los riesgos asociados a las deficiencias no compensables controlando todos los toros en servicio natural a través de un examen andrológico¹⁵.

Figura 2. Efecto del uso de semen de calidad promedio o por debajo del promedio (basado en el porcentaje de espermatozoides anormales) sobre la fertilización y calidad embrionaria en bovinos de ovulación única. El cambio de embriones viables (clasificados excelentes a buenos y regulares a pobres) a degenerados e infertilizados causado por utilizar semen de calidad inferior al promedio fue significativo.

MOMENTO DE IA

Dalton y col.⁶ diseñaron un experimento para determinar el efecto del momento de inseminación sobre el número de espermatozoides accesorios por embrión, estatus de fertilización, y calidad embrionaria en vacas con ovulaciones únicas. El celo de las vacas fue monitoreado continuamente por el sistema Heat Watch®, que utiliza un sistema de radiofrecuencia. Este sistema incluye baterías, transmisores sensores de presión reutilizables con un rango de 0,4 km, repetidores con un rango de 0,8 km, un receptor de señales, un buffer que recibe y almacena los datos de actividad de monta y un software que ordena la información por vaca, día y hora. Los transmisores estaban contenidos en un parche de nylon de 35 x 20 cm que era pegado por adhesivo de contacto en la zona sacra, justo por delante de la base de la cola. Permanentemente las vacas estaban en una pastura que cumplía con los rangos de los transmisores y repetidores. Los transmisores eran activados por la presión de monta (mínimo 2 segundos). Los datos recogidos incluyeron número de transmisor, día, hora y duración de la pasividad a la monta. Trabajos anteriores revelaron que la ovulación ocurre a las $27,6 \pm 5,4$ hs después de la primera aceptación a la

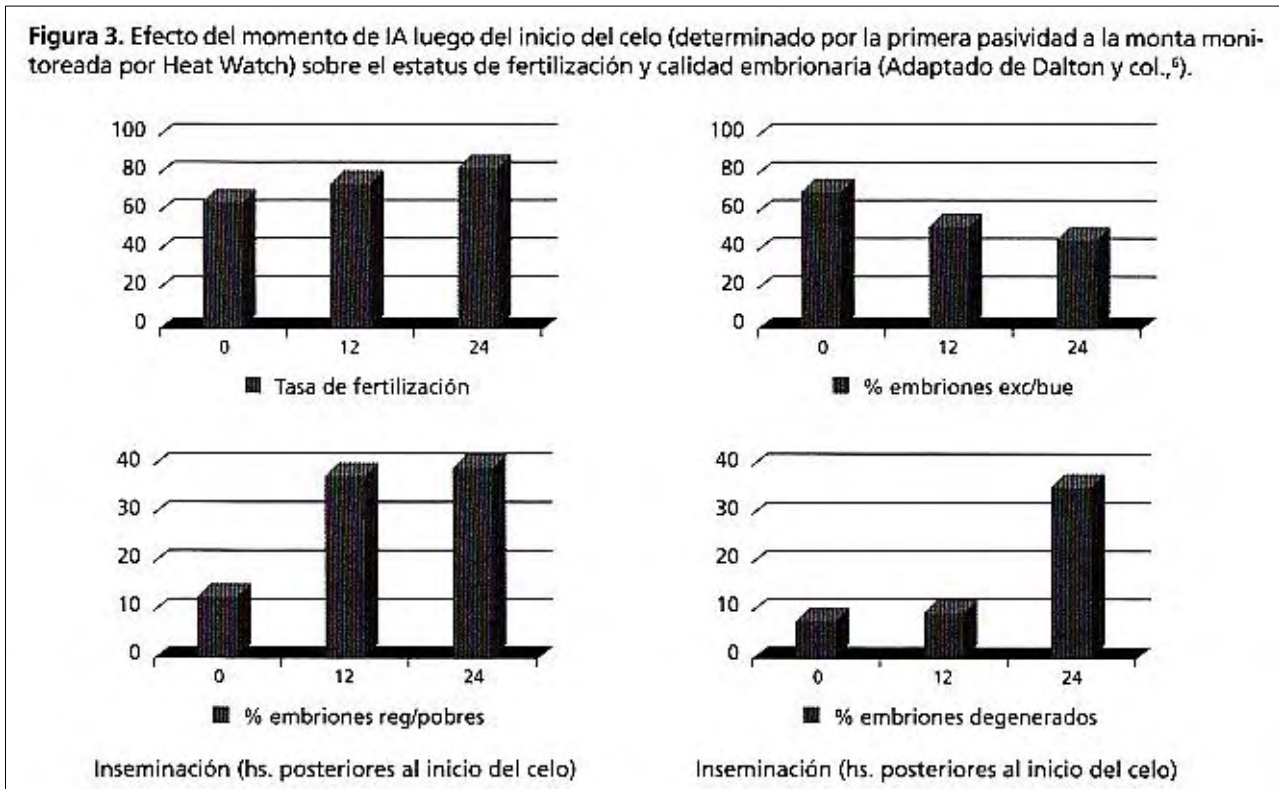
monta, tanto en celos espontáneos como en aquellos inducidos por la administración de prostaglandina⁴¹, y entre 24 y 32 hs posteriores a la segunda inyección de GnRH en un protocolo Ovsynch³⁰. En nuestro experimento, todas las vacas fueron inseminadas con pajuelas de 0,5 ml (25 x 106 espermatozoides) provenientes de uno de tres toros a las 0, 12 o 24 hs posteriores al inicio del celo. Por cuestiones logísticas del monitoreo de la computadora cada 3 hs y el tiempo de retiro de las vacas de la pastura, el momento real de inseminación (promedio ± DE) después del inicio de celo fue 2,0 ± 0,9 hs, 12,1 ± 0,6 hs y 24,2 ± 0,7 hs para los tratamientos 0, 12 y 24 hs, respectivamente. Las medianas de espermatozoides accesorios fueron mayores en los embriones recolectados luego del tratamiento de 24 hs (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del momento de IA sobre el número de espermatozoides accesorios por embrión y tasa de fertilización de embriones recuperados.⁽¹⁾

| Tratamiento | n ⁽²⁾ | Promedio±DE | Mediana | % Fertilización |
|-------------|------------------|-------------|---------|-----------------|
| 0 h | 39 | 9,5 ± 23,1 | 1 | 66 |
| 12 h | 39 | 21,2 ± 46,2 | 2 | 74 |
| 24 h | 39 | 33,0 ± 52,7 | 4 | 82 |

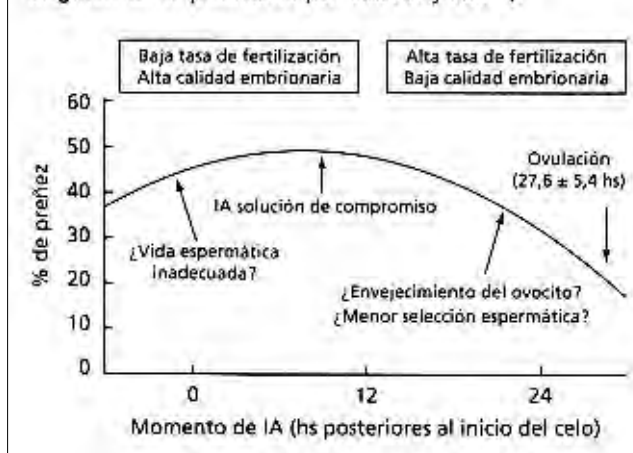
(1) Adaptado de Dalton y col.³⁰.
(2) Número de embriones (ovocitos) recuperados.

La tasa de fertilización también fue mayor luego del tratamiento de 24 hs (Tabla 4). La calidad embrionaria declinó con el aumento de los intervalos luego del inicio del celo, desde alta calidad embrionaria (0 h IA) a baja calidad embrionaria (24 hs IA) (Figura 3). Por lo tanto, las IA realizadas 12 hs después del inicio del celo proveen una solución de compromiso entre la menor tasa de fertilización de las IA a las 0 hs y la menor calidad embrionaria (mayor cantidad de embriones degenerados) de las IA a las 24 hs (Figura 4). A partir de estos datos, las tasas de concepción deberían ser optimizadas luego de IA a las 12 hs (Figura 4).



Estos datos coinciden con Dransfield y col.¹¹, quienes encontraron como momento óptimo de IA entre las 4 y 16 hs de siguientes al inicio del celo (Heat Watch®), basados en las tasas de preñez determinadas por palpación a los 35 a 75 días post IA. En nuestro estudio, la calidad embrionaria en la inseminación tardía puede ser debida a un envejecimiento del ovocito al momento de la fertilización. En este escenario, las IA realizadas a las 24 hs resultarían en que los espermatozoides alcanzarían el sitio de fertilización luego de las 30 hs del inicio del celo, contando el tiempo necesario para el transporte espermático (6 a 12 hs^{13, 17, 11}). Por lo tanto, podría ocurrir la fertilización de un ovocito envejecido, que podría llevar a una menor calidad embrionaria.

Figura 4. La IA a las 12 hs. luego del inicio del celo parece ser una solución de compromiso entre la baja tasa de fertilización y alta calidad embrionaria de las inseminaciones tempranas y la alta tasa de fertilización y baja calidad embrionaria de las inseminaciones tardías (Adaptado de Dransfield y col.¹¹; Dalton y col.⁶, originalmente publicado por Saacke y col.³⁶).



La mejor calidad embrionaria asociada con IA a la hora 0 sugiere que la mayor permanencia de los espermatozoides en el tracto femenino permite una mayor presión de selección a favor de los más competentes, optimizando la calidad embrionaria en las IA tempranas. La alta proporción de embriones excelentes y buenos resultantes de las IA a la 0 h podría explicar las mayores preñeces. Esto concuerda con Pursley y col.³¹ en lo relativo a las pérdidas de preñez después de IATF de vacas lactantes luego del Ovsynch. Según Pursley y col.³¹, las vacas inseminadas al momento de la segunda inyección de GnRH (hora 0) tuvieron menores pérdidas de preñez comparado con las vacas inseminadas a las 8, 16, 24 o 32 hs posteriores a la segunda GnRH.

CONCLUSIONES

Para lograr una óptima eficiencia reproductiva, las vacas deberían producir un ternero vivo cada año. Los programas de sincronización de celos permiten una manera organizada y eficiente de realizar la IA y el mejoramiento de la eficiencia reproductiva. Si bien los programas de sincronización pueden diferir entre establecimientos, los puntos remarcables son:

- Cumplir el protocolo estrictamente (buena identificación de las vacas; administrar las drogas a las dosis y vías correctas);
- Un apropiado manejo del semen, considerando que la llegada de un número de espermatozoides viables es crítico para el éxito del programa;
- Los rasgos "compensables" están relacionados con la capacidad de los espermatozoides de alcanzar el ovocito, unirse y penetrar la zona pelúcida e iniciar el bloqueo de la polispermia;
- Las deficiencias "compensables" pueden ser superadas o minimizadas incrementando la dosis inseminante (los CIA reconocidos ajustan las dosis cuando existen deficiencias compensables conocidas);
- Los rasgos "no compensables" están relacionados con la incapacidad de los espermatozoides para completar la fertilización y sostener el desarrollo embrionario temprano;
- Las deficiencias "no compensables" resultan en una menor fertilidad independientemente de la dosis inseminante (a los toros con niveles inaceptablemente elevados de anomalías espermáticas no se les debería coleccionar ni preservar semen para ser usado en IA);
- La ovulación ocurre a las $27,6 \pm 5,4$ h después de la primera aceptación a la monta, tanto en celos espontáneos como en celos provocados por la administración de prostaglandina y entre 24 a 32 hs luego de la segunda GnRH en el Ovsynch;
- El transporte espermático requiere de 6 a 12 hs, por lo tanto el momento de IA debería ocurrir lo suficientemente cercano a la ovulación para maximizar el acceso espermático al ovocito, pero no demasiado tarde para que ocurra un envejecimiento del mismo al esperar el arribo de los espermatozoides al sitio de fertilización.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue posible gracias al aporte de Select Sires Inc., The Nacional Association of Animal Breeders, y Virginia Agricultural Council. Select Sires Inc. también proveyó fondos a J.C. Dalton y A. Ahmadzadeh para las investigaciones sobre el efecto de las descongelaciones múltiples (número y secuencia) sobre la fertilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo, N., J. Bame, L.A. Kuehn, W.D. Hohenboken, D.P. Evenson, and R.G. Saacke. 2002. In: Proc. Nat'l. Assoc. Anim. Breeders 19th Tech. Conf. on Artif. Insem. and Reprod., Columbia, MO, pp.84-90.
2. Bellin, M.E., H.E. Hawkins, and R.L. Ax. 1994. Fertility of range beef bulls grouped according to presence or absence of heparin-binding proteins in sperm membranes and seminal fluid. *J. Anim. Sci.* 72:2441-2448.
3. Brown, D.W. Jr., P.L. Senger, and W.C. Becker, 1991. Effect of group thawing on post-thaw viability of bovine spermatozoa packaged in .5-milliliter French straws. *J. Anim. Sci.* 69:2303-2309.
4. Dalton, J.C., S. Nadir, S. Degelos, J. Bame, and R.G. Saacke. 1994. Effect of cream added to the inseminate on accessory sperm number in cattle. *J. Anim. Sci.* 72: (Suppl. 1):172.
5. Dalton, J.C., S. Nadir, J.H. Bame, and R.G. Saacke. 1999. Effect of a deep uterine insemination on spermatozoal accessibility to the ovum in cattle. *Theriogenology* 51:5:883-890.
6. Dalton, J.C., S. Nadir, J.H., Bame, M. Nofstinger, R.L. Nebel, and RO., Saacke. 2001. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 84:2413-2418.
7. Dalton, J.C., A. Ahmadzadeh, B. Shafii, W.J. Price, and J.M. DeJamette. 2004. Effect of thawing multiple 0.5-mL semen straws and sequential insemination number on conception rates in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:972-975.
8. DeJamette, J.M., R.G. Saacke, J. Bame, and C.J. Vogler. 1992. Accessory sperm: Their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.* 70:484-491.
9. Den Daas, J.H.G., G. DeJong, L.M.T.E. Lansbergen, and A.M. van Wagendonk-de Leeuw. 1998. The relationship between the number of spermatozoa inseminated and the reproductive efficiency of individual dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 81:1714-1723.
10. Diskin, M.G., J.R. Pursley, D.A. Kenny, J.F. Mee, and J.M. Sreenan. 2004. The effect of deep intrauterine placement of semen on conception rate in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: (Suppl. 1):257 (Abstr.).
11. Dransfield, M.B.G., R.L. Nebel, R.E. Pearson, and L.D. Wamick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81:1874-1882.
12. Dresdner, R.D., and D.F. Katz. 1981. Relationship of mammalian sperm motility and morphology to hydrodynamic aspects of cell function. *Biol. Reprod.* 25:920-930.
13. Hawk, H.W. 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *J. Dairy Sci.* 70:1487-1503.
14. Hawk, H.W., and T.Y. Tanabe. 1986. Effect of unilateral cornual insemination upon fertilization rate in superovulating and single-ovulating cattle. *J. Anim. Sci.* 63:551-560.
15. Hopkins, EM., and J.C. Spitzer. 1997. The new Society for Theriogenology breeding soundness evaluation system. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.* 2:13:283-293.
16. Howard, J.G., A.M. Donoghue, L.A. Johnston, and D.E. Wildt. 1993. Zona pellucida filtration of structurally abnormal spermatozoa and reduced fertilization in teratospermic cats. *Biol. Reprod.* 49:131-139.
17. Hunter, R.H.E, and I. Wilmut. 1984. Sperm transport in the cow: peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. *Reprod. Nutr. Develop.* 24:597-608.
18. Hunter, R.H.E, and I. Wilmut. 1983. The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows. *Anim. Reprod. Sci.* 5:167-173.
19. Killian, G.J., D.A. Chapman, and L.A. Rogowski, 1993. Fertility-associated proteins in Holstein bulls. *Biol. Reprod.* 49:1202-1208.
20. Lindner, G.M., and R.W. Wright. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416.
21. 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.
22. Macpherson, J.W. 1968. Semen placement effects on fertility in bovines. *J. Dairy Sci.* 51:807-808.
23. McKenna, T., R.W. Lenz, S.E. Fenton, and R.L. Ax. 1990. Nonreturn rates of dairy cattle following uterine body or cornual insemination. *J. Dairy Sci.* 73:1779-1783.
24. Miller, D.M., E Hrudka, W.F. Cates, and R.J. Mapletoft. 1982. Infertility in a bull with a nuclear sperm defect: A case report. *Theriogenology* 17:611-621.
25. Munkittrick, T.W., R.L. Nebel, and R.G. Saacke. 1992. Accessory sperm numbers for cattle inseminated with protamine sulfate microcapsules. *J. Dairy Sci.* 75:725-731.
26. Nadir, S., R.G. Saacke, J. Bame, J. Mullins, and S. Degelos. 1993. Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.* 71:199-204.
27. Nadir, S., J.C. Dalton, S.D. Degelos, J. Bame, and R.G. Saacke. 1995. Accessory sperm number in artificially inseminated cattle using cauda epididymal sperm cryopreserved in the presence and absence of a normal complement of seminal plasma. *J. Dairy Sci.* 78: (Suppl. 1):303.
28. Pace, nm., J.J. Sullivan, El. Elliott, E.E Graham, and G.H. Coulter. 1981. Effects of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoal quality on fertility of bovine spermatozoa packaged in 0.5-mL french straws. *J. Anim. Sci.* 53:693-701.
29. Peters, J.L., P.L. Senger, J.L. Rosenberger, and M.L. O'Connor. 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.
30. Pursley, J.R., M.O. Mee, and M.C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.

31. Pursley, J.R., R.W. Silcox, and M.C. Wiltbank. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.
32. Pursley, J.R. 2004. Deep uterine horn AI improves fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: (Suppl. 1):372 (Abstr.).
33. Rycroft, H. 1992. Factors influencing non-return data. In: *Proc. Nat'l Assoc. Anim. Breeders 14th Tech. Conf. On Artif. Insem. and Reprod.*, Columbia, MO, pp.43-46.
34. Saacke, R.G., J. Bame, C.J. Vogler, S. Nadir, and J. Mullins. 1992. Association of sperm nuclear vacuoles (craters) with failure of sperm to sustain embryonic development after fertilization in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: (Suppl. 1):256.
35. Saacke R.G., J.M. DeJamette, J.H. Bame, D.S. Karabinus, and S.S. Whitman. 1998. Can spermatozoa with abnormal heads gain access to the ovum in artificially inseminated super- and single -ovulating cattle? *Theriogenology* 50:117-128.
36. Saacke, R.G., J.C. Dalton, S. Nadir, R.L. Nebel, and J.H. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.*, 6061:663-677.
37. Salisbury, G.W., and N.L. VanDemark. 1961. In: *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*, p. 361. W.H. Freeman and Company, San Francisco, CA.
38. Senger, P.L., W.C. Becker, S.T. Davidge, J.K. Hillers, J.J. and Reeves. 1988. Influence of comual insemination on conception in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 66:3010-3016.
39. Suarez, S.S., and X. Dai. 1992. Hyperactivation enhances mouse sperm capacity for penetrating viscoelastic media. *Biol. Reprod.* 46:686-691.
40. Sullivan, J.J., and F.I. Elliott. 1968. Bull fertility as affected by an interaction between motile spermatozoa concentration and fertility level in artificial insemination. *VI Int'l. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem.* 2:1307.
41. Walker, W.L., R.L. Nebel, and M.L. McGilliard. 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 79:1555-1561.
42. Walters, A.H., W.E. Eyestone, R.G. Saacke, R.E. Pearson, and F.C. Gwazdauskas. 2005. Bovine embryo development after IVF with spermatozoa having abnormal morphology. *Theriogenology.* 63:1925-1937.
43. Williams, B.L., E.C. Gwazdauskas, W.D. Whittier, R.E. Pearson, and R.L. Nebel. 1988. Impact of site of inseminate deposition and environmental factors that influence reproduction of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 71:2278-2283.
44. Wilmut, I. and R.H.F. Hunter. 1984. Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in oestrus. *Reprod. Nutr. Develop.* 24:461-465.

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