

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRION

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA



**“ESTUDIO DE LAS CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS EN VACAS BROWN
SWISS INSEMINADAS CON CELO SINCRONIZADO MEDIANTE LUTAPROST Y
CONCEPTASE”**

LIVIA CRISTOBAL, Cristian

RIVERA HUAMAN, Alan

Cerro de Pasco, 2010

I. INTRODUCCION

La Inseminación Artificial (IA) ha demostrado ampliamente su gran aporte para el mejoramiento genético en la ganadería lechera y ha tenido un gran impacto en la mejora de los índices de producción lechera en diferentes partes del mundo; es así que actualmente existen muchas ganaderías del Perú que lo aplican.

En el ganado manejado en condiciones de pastoreo, la Inseminación Artificial contaba con principales limitaciones para el empleo de la técnica, entre ellas: Fallas en la detección de celos, el anestro posparto y pubertad tardía; habiendo sido superada actualmente con la implementación de la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), es decir sin la necesidad de detección de celos, mediante el uso de programas de sincronización de celo dentro de los establecimientos ganaderos, con uso de hormonas.

En el presente trabajo de investigación, se busca establecer un protocolo de sincronización de celo validado en crianza extensiva de vacas Brown Swiss, sobre 4000 msnm, basado en el uso del lutaprost® y conceptase como productos hormonales de sincronización de celo.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

La célula espermática

El espermatozoide es una célula altamente especializada, cuya función es la de fecundar el ovocito; está compuesto de una cabeza y cola que le permite la motilidad (Illera, 1994). La cabeza compuesta de cromatina condensada y pequeñas proteínas (protaminas) contiene el núcleo, con un número haploide de cromosomas, cuyo DNA representa el material genético del macho (genoma masculino) que será depositado en el ovocito y un acrosoma provisto de las enzimas hidrolíticas necesarias para poder penetrar por las envolturas que rodean al ovocito, durante la fecundación. La cola incluye: región del cuello que está unida a la cabeza en la llamada fosa de implantación, la pieza intermedia provista de mitocondrias rica en fosfolípidos, la pieza principal que contiene la vaina fibrosa y la pieza terminal. (Illera, 1994; Hafez, 2000).

Según Alvarado et al., 2005 encontró que el material seminal de toros de la raza Holstein es por lo general blanco cremoso, dependiendo de la alimentación del animal así mismo Sepulveda, 1999 menciona que el aspecto debe ser opaco y uniforme, indicando la alta concentración de semen de espermatozoides aunque algunos toros secretan semen amarillo debido al pigmento riboflavina, que es inocuo y no debe confundir con la orina, entonces que toda muestra debe ser limpia sin pelos, sin suciedad y libre de contaminantes.

Necmettin (2001) Trabajando con dos toros de la raza Holstein en Alemania, de un total de 20 eyaculados, obtuvo mediante la ayuda de vagina artificial un pH promedio de 6.72 ± 0.05 , con una concentración espermática promedio de $1083 \times 10^6 \pm 0.05$ espermatozoides por cc; con 18.95 ± 1.01 % de espermatozoide muertos, con $20.68 \pm$

1.67 % de anormalidades y 75.25 ± 1.33 % de motilidad progresiva individual post colección. Mientras que (Cabrera y Mellisho, 2000) utilizando toros de la raza Holstein, Brown Swiss y Simental, de 2.5 a 6 años de edad, de un total de 142 colecciones los cuales incluían tres saltos, obtuvieron material seminal con volúmenes promedios de 12.94, 12.1, 14.8 cc respectivamente, con frecuencia de una colección por semana obtuvieron de 850 – 1100 x 10^6 millones de espermatozoides y pH de 7.03 promedio.

Calidad seminal y fertilidad

Los diluyentes deben de prepararse en forma aséptica y almacenarse por menos de una semana, a menos que se congelen. Suele agregarse carbohidratos simples, como glucosa que es fuente de energía y otros nutrimentos usados por los espermatozoides. Se utilizan yema de huevo, leche para proteger a las células espermáticas contra el choque térmico cuando son enfriados desde la temperatura corporal hasta 5°C. Se utiliza diversos amortiguadores para mantener el pH cercano del neutro y una presión osmótica de aproximada de 300 mOsm, equivalente a la de semen y para evitar la proliferación de microorganismos en el semen, se agregan antibióticos como penicilina, estreptomycin y otras combinaciones de antibióticos. (Hafez, 2000).

Actualmente existe dilutores disponibles que permiten usar semen para inseminación artificial en vacuno, equino, ovino y perros diluidos y refrigerados a 5 °C. En suma para lograr una condición isotónica, una adecuada capacidad buffer, el suministro necesario de energía (glucosa) y la provisión de un agente protector de la membrana plasmática es de vital importancia (Althouse et al., 2005).

Salamon y Maxwell (1995) manifiesta que el ácido cítrico en los diluyentes, neutraliza los productos de desecho del metabolismo de los espermatozoides, en especial del

ácido láctico, es decir desempeña una acción buffer efectiva neutralizando la acidez del medio causado por los catabolitos; adicionalmente, Holy (1983) destaca la importancia del ácido cítrico por su acción en la fijación del calcio, que junto con los iones de sodio y potasio mantienen el equilibrio osmótico, favoreciendo la motilidad de los espermatozoides (Borque y Sagües, 1992) por participar en la activación de la fosfatasa ácida presente en el plasma seminal. Borque y Sagües (1992) refieren que, la fructosa es necesaria para la supervivencia de los espermatozoides en condiciones anaeróbicas y está estrechamente relacionado con la motilidad inicial de los espermatozoides. El hidroximetil amino metano es muy conocido por su acción de buffer y proteger al acrosoma de los espermatozoides (Cortés et al., 1995).

La adición de yema de huevo al dilutor tiene un efecto benéfico sobre el porcentaje de motilidad particularmente luego de un rápido enfriamiento del semen a 10 y 5 °C, ya que las lipoproteínas de baja intensidad, actúan como crioprotectores contribuyendo con dos factores: uno de los cuales protege contra el shock de frío (factor de resistencia) y un segundo que mantiene la viabilidad (factor de conservación) (Fiser y Fairfull, 1986).

La adición del criopreservante genera estrés osmótico sobre las células porque aumenta la osmolaridad del medio. Las células inicialmente se deshidratan para compensar la fuerza osmótica inducida por la presencia de los agentes crioprotectores y después se hidrata (Lozano et al., 2006). Dilutores libre de elementos de origen animal se ha desarrollado y está reemplazando a la yema de huevo (Aires et al., 2003). La presencia de lecitina de soya como reemplazo de los componentes de origen animal ejerce un rol protector de las membranas del espermatozoide de toros durante los diferentes pasos de los procedimientos de congelamiento y descongelamiento, para mantener la

fertilidad y sobrevivencia embrionaria temprana a niveles comparables a los obtenidos con diluyentes para semen de toros a base de yema de huevo o base de leche (Decuadro, 2001).

Como ni el semen ni la yema de huevo son libre de contaminación bacterial; los dilutores contienen antibióticos como (penicilina procaina, ampicilina, sulfato de gentamicina, lincomycin hidroclicloridrado) para prevenir más crecimiento bacterial (Althouse et al., 2005).

Cuadro 1: Respuesta por dosis para la fertilidad en campo. Tasa de no retorno a los 56 días post inseminación y numero de IA (n) de 4 toros usados en el estudio. (Van-Wagtendonk et al., 2000)

Dosis de semen	Toro 1		Toro2		Toro 3		Toro 4	
	NR	N	NR	N	NR	n	NR	N
2.5	66.3	1147						
5	69.1	1171	67	1044			65.7	958
7.5	70.1	1167	65.7	1108	66.7	1265		
10	72.5	1180	66.9	1142	67.8	1374	69.7	1068
12.5	70.8	1139	69.4	1014	70.2	1239		
15	71.6	1182	69.3	1086	68.4	1363	70.5	981
20					64.9	1278	71.3	985

Fuente: Van-Wagtendonk et al., 2000.

Decuadro (2001), afirma que la concentración por dosis esta normalmente de 15 a 25 x 10^6 espermatozoides. Para reducir la concentración de esperma por dosis, hasta 5- 6

x 10^6 espermatozoides por dosis, tecnologías IMV Francia, han desarrollado un nuevo dilutor Bioxcell.

Pesch et al., 2007, menciona que recientes investigaciones recomiendan para inseminación en vacunos, un mínimo de 50% de espermatozoides que deben mostrar motilidad individual progresiva después de congelar y descongelar, con un mínimo en la dosis de 16×10^6 espermatozoides.

Factores que contribuyen a una baja fertilidad en vacunos

Se ha observado que cerca de 90% de los ovocitos son fertilizados después de la monta o inseminación; sin embargo, una alta proporción de estas gestaciones se pierden como embriones y fetos (Ayalon, 1978). La muerte embrionaria temprana contribuye con la mayor proporción de pérdidas de gestaciones (40-60%), la muerte embrionaria tardía lo hace con 10-15% y la muerte fetal con 5 a 15%. Las causas de las pérdidas de gestaciones son de naturaleza diversa y están asociadas con la alta producción de leche, el intervalo del parto a la primera ovulación, la profundidad del balance energético negativo, problemas del puerperio, momento de la inseminación, técnica de inseminación, características de la dieta, estrés calórico, infecciones uterinas y por factores genéticos (Hernández, 2005).

Exactitud de la detección de celo

Uno de los problemas en las explotaciones de ganado lechero que utilizan inseminación artificial es la detección de celo. Las personas encargadas de detectar celo deben ser capaces de detectar cambios en el comportamiento que sucede durante el estro. Estos cambios varían de vaca en vaca por lo que es importante que el

observador conozca los diferentes signos de estro. El único signo de estro es que la vaca se deje montar. Todos los cambios de comportamientos asociados con el estro son signos secundarios y tienen un mayor número de errores cuando son utilizados para determinar estro. Los mejores resultados de detección se observan cuando se usan sistemas auxiliares para la detección de celo además de la observación (Mellisho, 2006).

Momento más adecuado de la inseminación artificial

La inseminación o el servicio natural conducen a la preñez solamente si el espermatozoide se encuentra en "el lugar adecuado en el momento oportuno". El óvulo es liberado del ovario a las 10 a 14 horas luego de la finalización del celo y puede sobrevivir infértil por 6 a 12 horas. En contraste, el espermatozoide puede vivir hasta 24 horas en el aparato reproductivo de la vaca. Una recomendación común para el mejor momento de realizar la inseminación artificial es la regla de "mañana-tarde": vacas observadas en celo en la mañana se inseminan la misma tarde, y vacas observadas en celo durante la tarde se inseminan la mañana siguiente. En el caso de servicio natural, a la vaca y el toro puede permitírsele aparear comenzando unas pocas horas luego de que la vaca acepta la monta hasta que la vaca se niega a ser montada (Wattiaux, 2004).

Fertilidad de la vaca

El envejecimiento de oocitos, varios componentes del sistema reproductivo (Foote, 1998), balance hormonal y condiciones temporales como deficiencia nutricional (Butler, 1998), influyen en la habilidad de la hembra para iniciar el ciclo reproductivo (preñez).

González (2005) dice que la fertilidad de la vaca se encuentra influenciada por muchos factores. La edad del animal posee una influencia muy fuerte. Las novillas y las vacas de segunda lactancia son generalmente más fértiles que las vacas de primera lactancia y las vacas adultas. La más alta fertilidad se obtiene durante los meses más fríos del año y cuando las vacas son libres de enfermedades reproductivas; libres de problemas de parto; libres de des-balances nutricionales, especialmente ni muy flaca ni muy gorda al momento del parto. La fertilidad es alta cuando la vaca deja de perder peso y comienza a reponer las reservas corporales unos meses luego del parto.

Tratamientos de Sincronización

El ciclo estral de todas las especies domésticas se compone de fases hormonales claramente definidas, la luteica y la folicular, cuya longitud varía según especie. La fase luteica es siempre considerablemente más larga que la fase folicular (al menos el doble) en vacas, ovejas, marranas y yeguas. En términos prácticos, la sincronización del estro en un grupo de animales puede intentarse de dos modos:

- Suprimir o inducir la regresión del cuerpo lúteo para que todos los animales del grupo entren en la fase folicular al mismo tiempo y mantengan más o menos esta sincronización durante el estro.
- Suprimir el desarrollo folicular durante una fase luteica extendida artificialmente, de modo que al eliminar el bloqueo farmacológico después de un período de tratamiento, todos los animales entren en la fase folicular aproximadamente al mismo tiempo.

Teniendo en cuenta que generalmente se intenta sincronizar la reproducción de grandes conjuntos de animales, es necesario suponer que en un momento dado, las hembras presentarán una variación muy grande distribuida al azar, respecto a la fase

del ciclo éstrico en que se encuentren. Por lo tanto un tratamiento satisfactorio, debe tratar de conseguir regular el ciclo de todos los animales de tal manera que al cesar el tratamiento una gran proporción de animales, sino todos entren en estro en el mismo día. Suponiendo que al comenzar el tratamiento las etapas del ciclo están distribuidas al azar, la duración de un tratamiento que mantenga a todas las hembras en la fase luteica debe ser mayor que la duración de la fase luteica en la especie de que se trate. Por otra parte, si la intención del tratamiento es precipitar la fase folicular, el tratamiento debe tener una frecuencia o naturaleza que le permita abarcar a animales que inicialmente estaban distribuidos en todas las fases del ciclo.

Aplicaciones prácticas

Mediante las técnicas de Sincronización de celo en hembras ciclantes, pueden mejorar las tasas de reproducción y aumentar el progreso genético de las características económicas más importantes. Se utilizan tratamientos para la sincronización del estro en programas de transferencia de embriones, para la regulación de los ciclos estrales tanto en donadoras como en receptoras. Una práctica casi universal en programas para la transferencia de embriones bovinos es combinar la superovulación inducida por gonadotropinas y la sincronización estrual inducida por prostaglandinas.

Métodos de sincronización del celo en vacas

Sincronización con uso de GnRH:

a. Programa Ovsynch:

Sin embargo Ovsynch, limita la cantidad de tiempo gastado en la detección de celos. Ovsynch requiere una inyección de GnRH seguida por una inyección de prostaglandina una semana más tarde. Una segunda inyección de GnRH es administrada 48 horas después seguida por una inseminación en tiempo determinado 16 horas después de la

segunda inyección de GnRH. "La gran ventaja de Ovsynch es no tener que detectar las vacas en celo por un periodo de seis días". Un obstáculo que muchos productores tienen que superar con Ovsynch es que la mayoría de las vacas no entran en celo. Ovsynch trabaja forzando el estro haciendo que el folículo ovule antes de haber producido suficiente estrógeno para que la vaca muestre los signos de celo.

"Siguiendo la segunda inyección de GnRH, las vacas ovularan en un espacio de tiempo corto de 24 a 32 horas". "La clave es no inseminar muy tarde". "No establezca inseminar a las 24 horas porque hay cosas que pueden suceder en una finca que pueden impedir que esto se haga."

Inyección de GnRH seguida por una de prostaglandina una semana más tarde y una segunda inyección de GnRH aplicada 48 horas después, seguida por una inseminación en tiempo fijo 16 horas después de la segunda inyección de GnRH.

Ventajas:

- Induce ovulaciones fértiles en algunas vacas que no están ciclando.
- Trabaja bien en programas de IA en vacas.
- Detección de celo, limitada a 5 días.

Desventajas:

- Costo de drogas agregado.
- Un total de cuatro viajes a través de la manga de manejo.
- No totalmente recomendado en vaquillonas.

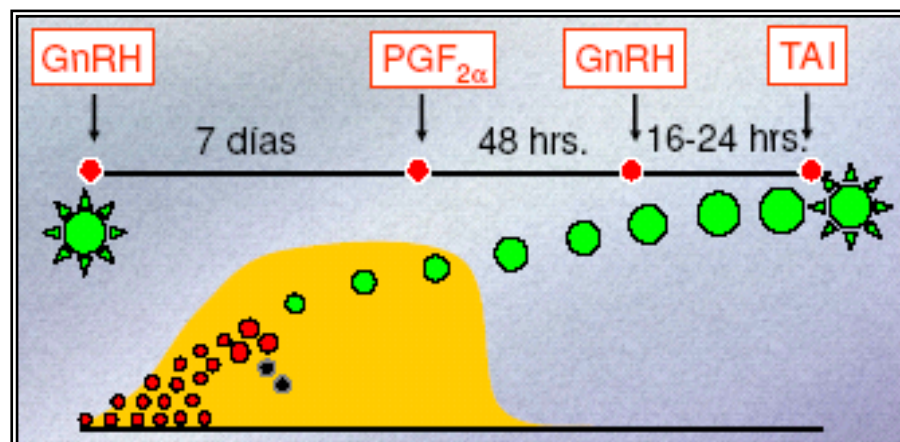
Nota 1: Puede lograrse tasas de concepción al inseminar vacas que muestran celo antes de la segunda inyección de GnRH.

Nota 2: Datos preliminares revelaron que el retiro del becerro por 48 horas (desde la inyección de prostaglandina hasta 2da inyección de GnRH) puede incrementar 10% las tasas de preñez.

El protocolo ovsynch ha existido desde hace más de 10 años. Este protocolo se ha utilizado ampliamente en hatos alrededor del mundo. Aunque la base fundamental del protocolo sigue siendo la misma, recientemente se han probado diferentes variaciones en los tiempos de administración de las hormonas y la inseminación artificial (IA) en un intento por optimizar el protocolo. El propósito de este comunicado es revisar algunas de estas variaciones e identificar algunas consideraciones para la implementación de estos protocolos en hatos lecheros.

Las Bases del Protocolo

Las bases de ovsynch siguen siendo las mismas. La primera GnRH se da para inducir la ovulación y promover la formación de un nuevo cuerpo lúteo (CL) y una nueva onda folicular; es decir, para devolver a la vaca “al comienzo de ciclo estral”. La prostaglandina administrada 7 días después se utiliza para regresar el nuevo CL y la última GnRH se administra 48 horas después para inducir la ovulación del nuevo folículo. La inseminación a tiempo fijo (IATF) se lleva a cabo de 16 a 24 horas después; o antes del tiempo esperado de ovulación el cual es aproximadamente 24 a 34 horas después de la segunda GnRH en el **protocolo ovsynch clásico**.



III. MATERIALES Y METODOLOGIA

Materiales: Jeringas, guantes, aretes vacunos, Lutaprost® x 20 ml, Conceptase ®x 50 ml, Pajillas de semen Toro Rocket – BNS – UNALM - Lima Nitrógeno líquido ,fundas para IA.

Localización: El presente trabajo de investigación se realizó en la Cooperativa Comunal San Ignacio de Junín, ubicada en el Distrito, Provincia y Departamento de Junín, ubicada a 4105 msnm, km 235 de la marginal a la selva.

Periodo de ejecución: El presente trabajo de investigación, tuvo una duración de 10 meses, entre los meses de Febrero a Noviembre del 2010.

Animales experimentales: En el trabajo, se empleó 21 vacas de la raza Brown Swiss de segundo parto a más y para la obtención de semen se trabajó con el mejor toro joven de la raza Brown Swiss, de 3 a 4 años de edad, perteneciente al Banco Nacional de Semen UNALM - LIMA:Toro: NBV Dominate Callicpasapa "**Rocket**", con registro genealógico nº 11351 de raza Brown Swiss.

Régimen de alimentación: La alimentación de las vacas del experimento, fue sobre praderas naturales en el que existe una marcada predominancia de gramíneas y especies perennes tales como: Chilligua (*Festuca dolichophylla*), Crespillo (*Calamagrostis vicunarium*), Sillu sillu (*Alchemilla pinnata*), *Dissattelium minimum*, *Stipa brachyphylla*, *Agrostis breviculmis* y *Muhlenbergia fastigiata*. La disponibilidad de agua fue ad libitum y la ración de sales minerales una vez por semana.

Sincronización del celo: El protocolo de sincronización de celo en las vacas fue:



IATF = Inseminación Artificial a Tiempo Fijo. Sin necesidad de detección de celo.

La secuencia de los trabajos de sincronización, se muestran en los cuadros 2 y 3 respectivamente.

Cuadro 2. Secuencia de aplicaciones Conceptace y Lutaprost en vacas del primer grupo

VACAS	P.V. KG	Edad	Conceptace 19/05/10	Lutaprost 26/05/10	Conceptace 28/05/10	ITF	OBSERVACIONES
Tota	350	6 D	2.5	2.2	2.5	29 DE MAYO DEL 2010	
Mila	351	2D	2.5	2.0	2.5		
Lulu	340	4D	2.5	2.2	2.5		
Toña	475	BLL	2.5	2.0	2.5		
Fani	439	2D	2.5	2.0	2.5		
Techi	350	2D	2.5	2.0	2.5		Aborto
Ivon	350	4D	2.5	2.0	2.5		
109	450	BLL	2.5	2.5	2.5		
023	493	BLL	2.5	2.5	2.5		
116	500	BLL	2.5	2.5	2.5		

Cuadro 3. Secuencia de aplicaciones Conceptace y Lutaprost en vacas del segundo grupo

VACAS	P.V. KG	edad	Conceptace 20/05/10	Lutaprost 27/05/10	Conceptace 29/05/10	ITF	OBSERVACIONES
Ayde	320	4 D	2.5	2.0	2.5	30 DE MAYO DEL 2010	Aborto
Hilda	510	BLL	2.5	2.5	2.5		
Lila	355	4 D	2.5	2.0	2.5		
Azul	330	2D	2.5	2.0	2.5		
019	400	4 D	2.5	2.0	2.5		
033	495	6 D	2.5	2.5	2.5		
013	450	BLL	2.5	2.0	2.5		
105	355	2D	2.5	2.2	2.5		
104	330	2D	2.5	2.0	2.5		
103	350	2D	2.5	2.2	2.5		
030	577	BLL	2.5	2.5	2.5		

Inseminación de las vacas

Para evaluar la fertilidad en campo, se procedió a inseminar vacas a tiempo fijo (IATF), con pajillas de semen del toro experimental sin variar el manejo que hace la empresa. Se descongeló pajillas a 38 °C por 20 segundos en termo descongelador, luego del cual se secó, se movió la burbuja y se cargó a la pistola de inseminación para su aplicación a la vaca, antes se le limpió la vulva usando agua y papel toalla.

Cuadro 4. Secuencia de los trabajos de inseminación artificial, en vacas del primer tratamiento.

Fecha de inseminación 29 de mayo del 2010		
VACAS	Volumen de semen	Nombre del dilutor
Tota	0.25	BIOXEL
Mila	0.25	BIOXEL
Lulu	0.25	BIOXEL
Toña	0.25	BIOXEL
Fani	0.25	ANDROMED
Techi	0.5	BIOXEL
Ivon	0.25	BIOXEL
109	0.25	ANDROMED
023	0.25	ANDROMED
116	0.25	ANDROMED

Cuadro 5. Secuencia de los trabajos de inseminación artificial, en vacas del segundo

Fecha de inseminación 30 de mayo del 2010		
VACAS	Volumen de semen	Nombre del dilutor
Ayde	0.5	BIOXEL
Hilda	0.5	BIOXEL
Lila	0.5	BIOXEL
Azul	0.5	ANDROMED
019	0.5	ANDROMED
033	0.5	BIOXEL
013	0.25	ANDROMED
105	0.5	ANDROMED
104	0.5	ANDROMED
103	0.5	BIOXEL
030	0.5	ANDROMED

Determinación de la fertilidad

Se trabajó con registros de cada vaca, con datos como: fecha - hora de aplicación de los productos hormonales, fecha - hora de inseminación, toro utilizado y control de retornos a celo durante dos ciclos estrales. Asimismo, palpación rectal en vacas inseminadas 5 meses después de la inseminación. Las observaciones en el control de

retornos de celo, fueron realizadas durante las primeras del día 6 am, durante el ordeño y ultimas horas del día 6 pm.

Diseño experimental

vacas	B1: Pajillas 0.25 ml		B2: Pajillas 0.50 ml	
	T1: DILUTOR	T2: DILUTOR	T1: DILUTOR	T2: DILUTOR
	ANDROMED	BIOXCEL	ANDROMED	BIOXCEL
1	r11			
2	r12			
3	r13			
4	r14			
5	r15			
6		r21		
7		r22		
8		r23		
9		r24		
10		r25		
11			r11	
12			r12	
13			r13	
14			r14	
15			r15	
16			r16	
17				r21
18				r22
19				r23
20				r24
21				r25

B = Bloques

T = Tratamientos

r= repeticiones

r12 = Primera repetición del Bloque 1, animal 2. r21= Segunda repetición del Bloque 1, animal 1.

Pajillas: Envase que cont. Dosis de semen por unidad de vaca.

IV. RESULTADOS y DISCUCION

Respuesta estral en vacas sincronizadas mediante Lutaprost® y Conceptase®.

En el presente trabajo de investigación se inseminó a tiempo fijo, sin detección de celos. Las observaciones de campo dos horas antes y durante la inseminación propiamente dicha, arrojan el 100% de vacas que mostraron signos evidentes de celo, siendo la característica más importante observada la pasividad al dejarse montar por otras vacas. Pursely detecto una ovulación en respuesta a la primera aplicación de GnRH con un 85% en vacas y l 54% en las vaquillas.

Fertilidad en vacas tratadas e inseminadas.

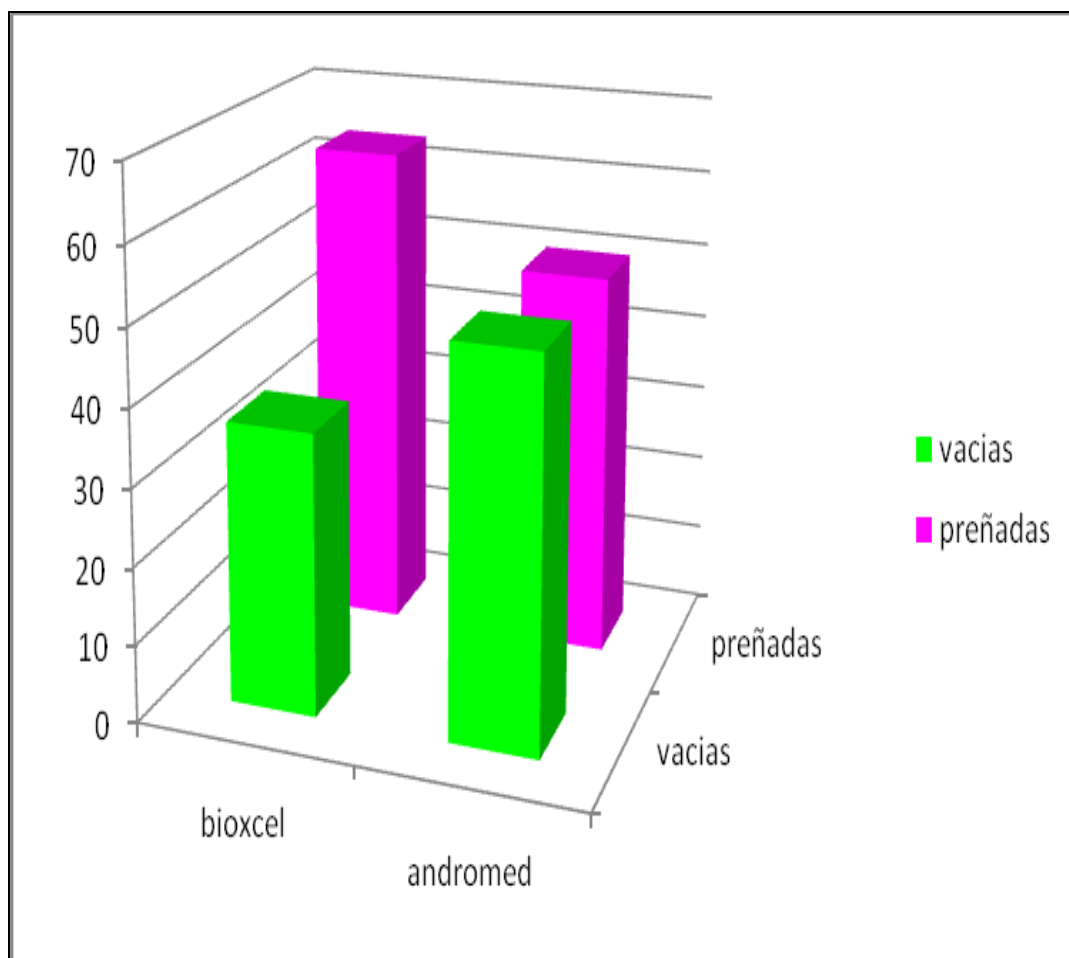
La fertilidad que se muestra en los resultados del presente estudio (cuadro 7) fue determinada por control de retornos durante dos ciclos estrales post inseminación y contrastada por palpación rectal a 5 meses después de la inseminación.

Cuadro 7. Fertilidad lograda en vacas sincronizadas mediante Lutaprost® y Conceptase®, según tratamientos.

RESULTADO	BIOXCEL	%	ANDROMED	%	TOTAL
	(n)		(n)		%
VACIAS	4	36.36	5	50	100
PREÑADAS	7	63.64	5	50	100
TOTAL	11	100	10	100	

Al análisis estadístico existe diferencias altamente significativas ($P < 0.05$) entre diluyentes a favor del dilutor Bioxcél que muestra 63.64% de preñez (anexo 1). Estos resultados de preñez (63.64% T1 y 50% T2) resalta la importancia del uso de lutaprost® y conceptase® en la sincronización del celo para inseminaciones a tiempo fijo y es muy aceptable en vacas de la raza Brown Swiss criadas sobre 4,105 m.s.n.m. y bajo el sistema de crianza extensivo.

Figura1. Fertilidad lograda en vacas sincronizadas mediante lutaprost® y conceptase®, según tratamientos.



Efectividad del tratamiento de sincronización mediante Lutaprost® y Conceptase®, respecto a dos variantes de pajillas de semen congelado 0.25, vs. 0.5 ml.

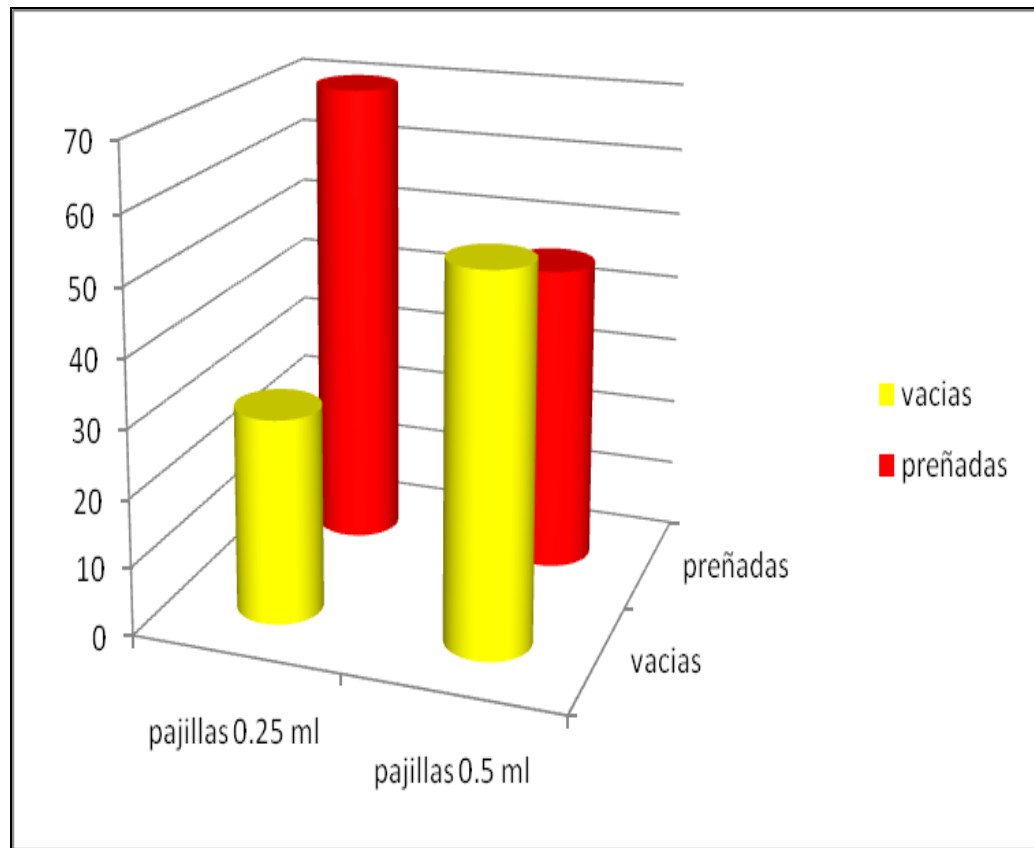
La efectividad de los sincronizantes Lutaprost® y Conceptase®, también fue sometida a evaluación bajo la influencia de dos cantidades de semen distintas (0.25 ml y 0.50 ml) por pajillas de semen usados en el proceso de inseminación (cuadro 8).

Cuadro 8. Fertilidad lograda en vacas sincronizadas mediante Lutaprost® y Conceptase®, según pajillas de semen utilizado.

RESULTADO	Pajillas x 0.25 ml (n)	%	Pajillas x 0.5 ml (n)	%	TOTAL %
VACIAS	3	30.00	6	54.55	100
PREÑADAS	7	70.00	5	45.45	100
TOTAL	10	100	11	100	

Al análisis estadístico existe diferencias altamente significativas ($P \geq 0.05$) entre dosis de semen a favor de 0.25 ml que muestra 70% de preñez (anexo 1). Este resultado muestra la posibilidad de obtener altas tasas de preñez en vacas inseminadas a tiempo fijo usando Lutaprost® y Conceptase® como sincronizantes. Sobre todo en la raza Brown Swiss criadas sobre 4,105 m.s.n.m. y bajo el sistema de crianza extensivo.

Figura 2. Fertilidad lograda en vacas sincronizadas mediante Lutaprost ® y Conceptase®, según pajillas de semen utilizado.



Tasa de retornos de celos en vacas

Los retornos de celo en vacas, fueron obtenidas por observación directa. Se muestran en los cuadros 9 y 10.

Cuadro 9. Control de retorno de celos a primer ciclo pos inseminación.

VACAS	FECHA	OBSERVACIONES
109	17/06/2010 TARDE	Persiste metritis observada en momento de IA
TECHI	19/06/2010 mañana	Inseminada en la tarde 0.5 bioxel

VACAS	FECHA	OBSERVACIONES
013	20/06/2010 mañana	Inseminada en la tarde 0.5 andromed
HILDA	20/06/2010	Persiste metritis observada en momento de IA

La tasa de retornos es de 20% para el T1 y 18.18% en T2.

Cuadro 10. Control de retorno de celos a segundo ciclo pos inseminación.

VACAS	FECHA	OBSERVACIONES
MILA	10/07/2010 TARDE	
TECHI	11/07/2010 Mañana	

VACAS	FECHA	OBSERVACIONES
019	11/07/2010 mañana	
AYDE	11/07/2010 mañana	

V. CONCLUSIONES

- El uso de Lutaprost® y Conceptase® en la sincronización del estro para inseminación a tiempo fijo es efectivo en vacas de la raza Brown Swiss criadas bajo el sistema extensivo a 4,105 m.s.n.m .
- El 100 % de vacas sincronizadas mediante Lutaprost ® y Conceptase ®, muestran signos de celo al momento de la inseminación.
- La fertilidad obtenida usando Lutaprost ® y Conceptase ® como sincronizantes de celo fue de 63.64% bajo la influencia de diluyentes y 70% bajo la influencia de dosis diferentes de semen contenidas en pajillas.
- La tasa de retorno a celo de vacas sincronizadas e inseminadas a tiempo fijo es de 20% para el T1 y 18.18% en T2 a primer ciclo post inseminación.

VI. RECOMENDACIONES

- Usar Lutaprost® y Conceptase® en la sincronización de celo para inseminaciones a tiempo fijo en vacas de la raza Brown Swiss, por ser inocuo para el animal y el medio ambiente.

- Tener especial cuidado en la selección de las vacas a usar en este tipo de tratamientos; se recomienda vacas de condición corporal grado 3, condición sanitaria óptima, vacías (produce aborto) y viables reproductivamente.

- El sistema de alimentación de pastoreo, debe contar con la suplementación semanal de sales minerales a fin de mantener un equilibrio adecuado en la nutrición de los animales a sincronizar.

- A fin de obtener preñez acorde a los resultados obtenidos en el presente estudio, se recomienda que el inseminador debe estar capacitado y haber tenido experiencia en el manejo de semen, especialmente durante la descongelación.

VII. Referencias Bibliográficas

- Ayalon N. A, 1978. Review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fertil*; 54: 483-493.
- Althouse, GC, Lu KG, 2005. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology*; 63: 573–84.
- Aires VA, Hinsch KD, Mueller-Schloesser F, Bogner K, Mueller- Schloesser S, Hinsch E, 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolkbased and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*; 60: 269–79.
- Alvarado E, Prospero C, 2005. Manual de Inseminación Artificial en Vacunos Universidad Nacional Agraria la Molina. Servicio de Reproducción Animal – Programa de Mejoramiento Animal Lima – Perú. 62 p.
- Borque M, Saguez A. 1992. Variaciones estacionales de los niveles de fructosa, ácido cítrico y proteínas totales en eyaculados de moruecos de raza Manchega. *Invest Agr Prod Sanid Anim* 7(3): 235-240.
- Cabrea P, Mellisho, E, 2001. Evaluacion seminal de toros del Banco Nacional de Semen -2000. Programa de Mejoramiento Animal la Molina. Servicio de reproducción animal. Junio 2001.
- Cortes S, Montero N., Tome Ay Vázquez 1. (1995) “Viabilidad espermática de semen ovino durante 48 horas”. VI Jornadas sobre Producción Animal. Val. Extra. 16 -Tamo 1. ITEA: 422424.
- Fiser, P.S. y Fairfull, R.W. 1986. The effect of rapid cooling (cold shock) of ram semn, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. *Criobology*. Vol. 23 (6):518-24.

- Foote, R.H., (1998). Artificial Insemination to Cloning. Tracing 50 Years of Research. Published by the author, Ithaca, NY.
- Hafez, E.S.E. (2000). "Reproducción e Inseminación Artificial en Animales". Séptima edición. Editorial Interamericana Mc Graw- Hill. México. Pp387-395.
- Hernández, Joel. (2005). Causas y Tratamientos de la Infertilidad en la Vaca Lechera. Departamento de reproducción. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 04510. México, D.F.
- Holy L. (1983). Bases biológicas de la reproducción bovina. Editorial Diana. México D.F. 464 P.
- Illera, M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. Editorial Aedos, S.A. Barcelona.390 p.
- Kupferschmied, H. 1972. Untersuchungen über die umstellung von Mittleren auf feine pailletten in der rinderbeasamung. Zuchthygiene 7:67.
- Lozano J, Delgado L, Gómez C, Ávila L, Madero J. (2006). Fundamentos de Criopreservación. Basic Points in Cryopreservation. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 57 No. 4 • 2006 • (291-300)*.
- Mellisho, E. (2002). Efecto de dos dilutores sobre la viabilidad espermática y fertilidad en semen congelado de toros Holstein. Tesis para optar el grado de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria la Molina. Facultad de Zootecnia.
- Nadir S, Saacke R. G, Bame, J. Mullins J and Degelos S. (1993). Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle. Department of Dairy Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg 24061J *Animal Scienc.* 71:199-204.

- Necmetin, T. (2001). Boga Spermalarınin Farklı Sulandırıcılar ile Dondurulması ve in vitro Değerlendirilmesi. Freezing of bull semen with different extender and in vitro evaluation. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2001 ANKARA.

- Pesch S. Hoffmann B. (2007). Cryopreservation of Spermatozoa in Veterinary Medicine, *J. Reproduktionsmed. Endokrinol.* 2007; 4 (2), 101-105.

- Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂α and GnRH. *Theriogenology*. 44:915-923.

- Salamon, S.; Maxwell, WMC. 1995. Frozen storage of ram semen. I processing freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science*. Pg 185-249.

- Sepúlveda, N. 1999. Biotecnología reproductiva. Curso de Ganadería, Temuco, Diciembre de 1999.

- Simmet, C. (2006) a. Minitüb Tecnología de Reproducción Animal Bovino Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG Hauptstraße 41 84184 Tiefenbach Germany. www.minitube.de.

- Simmet, C. (2006) b. Triladyl® Medio de conservación para la Congelación de semen bovino El estándar para la producción de semen bovino con diluyente con yema de huevo. Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG Hauptstraße 41 84184 Tiefenbach Germany.

- Tribulo H, Alisio L. (2000). Evaluación reproductiva de toros. La voz del campo. La voz del interior online, Córdoba, Argentina, miércoles 11 de mayo del 2009.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: CALCULO ESTADISTICO UTILIZANDO CHI-CUADRADO PARA RESULTADOS DE PREÑEZ. SEGÚN TRATAMIENTOS (Del cuadro 8)

$$\chi^{2*} = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

$$X^2 = \frac{(63.64 - 100)^2}{100} + \frac{(50 - 100)^2}{100}$$

$$X^2 = 63.50$$

$$Df : X^2 (gl 1, 0.05) = 3.841.$$

$$X^2 \text{ Calc} = 63.50 \geq 3.841 (**)$$

A) SEGÚN PAJILLAS DE SEMEN UTILIZADO (Del cuadro 9)

$$\chi^{2*} = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

$$X^2 = \frac{(70 - 100)^2}{100} + \frac{(45.45 - 100)^2}{100}$$

$$X^2 = 67.66$$

$$Df : X^2 (gl 1, 0.05) = 3.841.$$

$$X^2 \text{ Calc} = 67.66 \geq 3.841 (**)$$

ANEXO 2. PANEL FOTOGRAFICO.

Selección de vacas



Aplicación de las hormonas



Preparando material para inseminación artificial



Inseminación artificial a las vacas