

TIEMPO PARA HACER LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VACAS LECHERAS

Humberto Rivera M, MS
Accelerated Genetics

Translated by Gustavo Peña

INTRODUCCIÓN

Desde un punto de vista biológico, la fertilización en los bovinos es un evento muy simple en el que se requiere de un ovulo y un espermatozoide. Sin embargo, en las granjas lecheras este proceso es más complejo de lo que parece debido a la interrelación que existe entre los factores medio ambientales y de manejo. En una fertilización satisfactoria se necesita que se cuiden factores externos como la nutrición, la salud, el confort de la vaca y el tiempo de inseminación entre otros. Un punto aun más crítico, lo representa la inseminación artificial a tiempo fijo (**IATF**), en donde el ser humano controla algunos de los factores biológicos como poner el semen en un gran número de vacas asumiendo que todas están ciclando y en buenas condiciones para ser inseminadas, con una elevada ovulación y una buena respuesta a la sincronización. El tiempo de inseminación es un parámetro muy sensitivo para la inseminación artificial (**IA**) y para la inseminación a tiempo fijo, no solamente por el limitado tiempo de supervivencia para que el óvulo y el espermatozoide se unan en el momento preciso de máxima fertilidad, sino porque todo el proceso de la inseminación está regido por la mano del hombre.

Durante la última década decenas de investigaciones en las vacas lecheras altas productoras se han hecho con el objetivo de entender los cambios fisiológicos producto de la elevada selección genética, nutrición, manejo ambiental y de producción. Dichas investigaciones están también tratando de adoptar modernas herramientas que ayuden en el manejo reproductivo en las granjas lecheras.

El tiempo de inseminación puede ser explicado bajo dos conceptos. Primero, la habilidad de detectar vacas con un estro verdadero (precisión en la detección del celo), y segundo, la habilidad de determinar el tiempo preciso para inseminar después que el celo o calor ocurre en la vaca. El primer concepto está relacionado con el protocolo de detección de celos, la habilidad del trabajador de detectarlos y su capacidad para interpretar los signos

secundarios del celo. El segundo concepto, el tiempo para inseminar, es una aplicación de los conceptos aquí presentados. La eficiencia en la detección de celos esta cerca del 50 % en muchos de los ranchos lecheros y la certeza del celo varia considerablemente debido a que el 5 – 30 % de las vacas presentadas para inseminación no se encontraban en celo en base a las concentraciones de progesterona en leche. En consecuencia, la eficacia y la precisión de la detección de celos, así como el tiempo para inseminar siguen siendo un reto para mejorar la tasa de concepción (**TC**) en los ranchos lecheros. Aunque muchos productores tienen considerables tasas de error en la detección de celos, tal área no será tocada durante esta revisión.

RESUMEN DE EVENTOS ALREDEDOR DE LA OVULACION Y LA INSEMINACION

El ciclo reproductivo en las vacas lecheras está gobernado por una muy compleja interacción de hormonas secretadas por el ovario, hipotálamo y la hipófisis anterior. Estas hormonas que están involucradas en la reproducción, no solo son específicas en sus funciones en el tejido que afectan sino que además algunas de ellas deprimen o estimulan las funciones de otras hormonas en el mismo sistema. A pesar de las variaciones fisiológicas individuales y el tiempo en que ocurren, el celo está bien estudiado en la vaca lechera.

El Celso O Calor De La Vaca

El grupo de eventos que desencadena la ovulación, es iniciado por el pico de concentración del Estradiol (**E2**) en el suero al momento de iniciación del celo (hora 0 del celo). Los estrógenos viajan en la sangre hasta el hipotálamo y son responsables de inducir la conducta y signos del celo (montando, dejarse montar, agitación, etc.) así como otros cambios importantes en el tracto reproductivo (tracto rojizo y húmedo, vagina inflamada, descarga de moco transparente, etc). El estradiol es liberado por el folículo dominante en un ambiente de baja progesterona (**P4**) cerca del día 21 del ciclo estral de la vaca. El pico de estradiol marca la iniciación de

cambios en la conducta de la vaca dejándose montar por otras vacas, lo cual dura en promedio 7.2 ± 7.0 h dependiendo del estado de lactancia, el nivel de producción (litros/día), las instalaciones (especialmente los pisos: pisos resbaladizos). Algunas veces el celo solo dura unas horas o algunos minutos o simplemente no se expresa como ocurre en vacas altas productoras.

El Pico De La Hormona LH Y La Ovulación

Casi al mismo tiempo del celo, E2 estimula la liberación de la hormona liberadora de las gonadotropinas (**GnRH**) en el hipotálamo (hora 0 del celo), la que a su vez induce la producción de LH (1.5 – 2.0 h) en la glándula pituitaria anterior. La LH induce una serie de cambios bioquímicos a nivel folicular que terminan con la ovulación 26 a 30 h después de iniciado el celo.

Tiempo De Vida Del Ovulo

Después de la ovulación el óvulo es capturado por la fimbria y viaja hasta la ampolla para la fertilización. Después de la ovulación el óvulo permanece en la ampolla por cerca de 6 a 10 h antes de morir si la fertilización no se lleva cabo. Considerando la corta vida del óvulo, es de importancia crítica entender la importancia del tiempo de la inseminación relacionado con el tiempo de la ovulación.

Tiempo De Vida Del Semen

El semen (espermatozoides) puede tener una vida moderadamente larga en el laboratorio bajo condiciones de ambiente controlado. Contrariamente, el útero contiene un ambiente adverso para los espermatozoides que hace que se reduzca su vida útil. Se ha estimado que en general el semen vive por 24-30 h aproximadamente en el ambiente uterino. Es muy importante recordar que los espermatozoides requieren de ~8 h de residencia en el útero para terminar con el proceso de capacitación y adquirir la capacidad de fecundar. Una vez adquirida la capacidad de fecundar el óvulo debe estar en la ampolla para maximizar las oportunidades de una fertilización satisfactoria y saludable de los dos gametos. Si el óvulo o el espermatozoide están viejos al momento de la fertilización, se reduce la calidad del embrión y por ende se reduce la fertilización (o se aumenta la muerte embrionaria). En algunos de los trabajos presentados abajo muestran como la inseminación al inicio del celo deteriora la fertilidad debido a que el espermatozoide puede estar muy viejo para cuando el óvulo llega a la ampolla.

PRIMEROS ESTUDIOS

En un primer estudio Trimberger and Davis, 1943 (Tabla 1), muestra diferentes tasas de concepción (**CR**) de acuerdo a diferentes tiempos de inseminación durante el celo. En este estudio, se encontró una reducción muy drástica en la fertilidad cuando la inseminación se realizó después del tiempo estimado de la ovulación (Tabla 1). Basándonos en este estudio, muchos productores lecheros fueron enseñados a inseminar vacas en la tarde (p.m.) cuando las vacas se detectaron en celo en la mañana de ese día (a.m.) y si la vaca se detectaba en celo en la tarde (p.m.) esta era servida al siguiente día en la mañana (a.m.). A este método se le dio el nombre de la Regla am-pm; y muchos productores continúan inseminando sus vacas bajo este sistema.

EL TIEMPO DE LA OVULACION

Uno de los grandes avances de la inseminación a tiempo fijo (**IATF**) es la predicción del momento de la ovulación, y la inseminación a tiempo predeterminado sin detección de celos. En estos casos, la última inyección de GnRH sincroniza satisfactoriamente la ovulación de las vacas que tienen al menos un folículo con capacidad de ser ovulado al momento de la inyección. El intervalo de tiempo entre el inicio del celo y la ovulación se ha definido aproximadamente en 28 h. Debido a la cercanía del pico de estradiol, GnRH y LH después de iniciado el celo en vacas observadas en celo, se presume que el intervalo del inicio del celo a la ovulación es similar al intervalo desde la inyección de GnRH a la ovulación en programas de IATF. Es más, la habilidad de la GnRH para sincronizar ovulaciones también ha sido reportada en programas de detección de celos. Kaim et al., 2003 midieron los efectos de la inyección de GnRH en vacas (n=46) al inicio del celo. Las vacas del grupo control que fueron inyectadas con una solución salina, tuvieron 76 % de ovulaciones antes de las 30 h y un 24 % de ellas ovularon después de las 30 h. Entre tanto, todas las vacas tratadas con GnRH ovularon antes de las 30 h después del inicio del celo. En el grupo de las vacas control las concentraciones de estradiol en plasma antes del celo se correlacionan positivamente con la amplitud de los picos de LH. Elevadas concentraciones de progesterona (**INTRODUCCIÓN**) en plasma fueron observadas en el siguiente ciclo estral en vacas tratadas con GnRH comparado con vacas que tuvieron una ovulación tardía. Los investigadores además observaron ventajas en la fertilidad (n=363)

Tabla 1. Efectos del tiempo de IA en la fertilidad de vacas de engorda (Trimberger and Davis, 1943).

Tiempo de la IA	Numero de IA	Tasa de Concepción (%)
Iniciando el celo	25	44
A la mitad del celo	40	82
Al final del celo	40	75
6 Horas después del final del celo	40	36
12 Horas después del final del celo	25	32
18 Horas después del final del celo	25	28
24 Horas después del final del celo	25	12
36 Horas después del final del celo	25	8
48 Horas después del final del celo	25	0

para el grupo de vacas tratadas con GnRH especialmente en verano (41 % vs. 55 % CR); vacas con baja condición corporal (36 % vs. 61 % CR); y vacas primerizas (41 % vs. 63 % CR).

El tiempo de la inseminación también ha sido redefinido en los programas TAI. Brusveen et al. (2008) comparo los diferentes índices de fertilidad de tres protocolos basados en el tiempo de cuando la segunda inyección de GnRH fue administrada en el protocolo Ovsynch (n=1,507 AI; Cosynch-48; Cosynch-72; Cosynch-56). En este estudio se encontró una gran ventaja en la fertilidad de vacas cuando la segunda inyección de GnRH en el protocolo Ovsynch se efectuó a la 56 h después de la inyección de prostaglandina y 12 a 16 h antes de la IATF (Ovsynch-56). Las tasas de concepción fueron 29.2 %, 25.4 %, y 39 % para Cosynch-48; Cosynch-72 y Ovsynch-56 respectivamente.

EL TIEMPO DE LA INSEMINACIÓN RELACIONADO CON LA CALIDAD DEL EMBRION Y LA TASA DE FERTILIZACION

Dransfiel et al. (1998) usaron el sistema de radio telemetría Heat Watch (DDx Inc., Denver, CO) para determinar el mejor tiempo para la inseminación en base a resultados de fertilidad en 17 granjas lecheras comerciales. Al igual que Trimberger y Davis (1943), encontraron que la inseminación entre las 4 y 16 h después de la iniciación del celo mostro los mejores resultados de fertilidad.

En otros estudios se ha medido el tiempo de la inseminación en función de la fertilidad y la calidad del embrión. Dalton et al. (2008) estudiaron el número de espermatozoides accesorios, tasa de fertilización y la calidad del embrión a diferentes tiempos desde el inicio del celo basándose en el

primer evento de monta registrado por el sistema Heat Watch. Las inseminaciones realizadas a 24 h contenían mayor cantidad de espermatozoides accesorios comparado con la inseminación a las 0 h, pero la calidad del embrión fue negativamente afectada en las inseminaciones después de 24 h, mientras que un aparente tendencia a mayor tasa de fertilización se observó para la inseminaciones a 0, 12 y 24 h. La recomendación de inseminar alrededor de 12 h después del inicio del celo, está dada por la baja tasa de fertilización de la inseminación a 0 h y la baja calidad de los embriones que se registro en las inseminaciones a 24 h (Figuras 1 and 2). El creciente número de espermatozoides accesorios encontrados en las inseminaciones tardías de este trabajo puede reflejar la actividad de un semen vigorosamente capacitado tratando de fertilizar un óvulo envejecido.

Dela misma manera, otras investigaciones han encontrado la esta tendencia de similar o inclusive mayor TC para inseminaciones tardías después del inicio del celo, pero con mayor pérdida embrionaria o pobre calidad del embrión. Probablemente uno de los estudios que mejor ilustra esta tendencia es el realizado por Pursley et al., (1998) quienes efectuaron inseminaciones a diferentes tiempos después de la segunda inyección de GnRH en el protocolo Ovsynch para vacas inseminadas luego de una ovulación sincronizada. Los tratamientos fueron llamados de acuerdo al tiempo de IA con respecto a la segunda inyección de GnRH del Ovsynch (0h, 8h, 16h, 24h y 32h). Esto puede relacionarse como el tiempo de inseminación después del inicio del celo, en sistemas con detección de celos (liberación endógena de GnRH). La Tabla 2, claramente ejemplifica como la TC (o TC/IA) es mayor a las

Figura 1. Ilustración Gráfica de la vida de los gametos y su rol en la fertilidad.

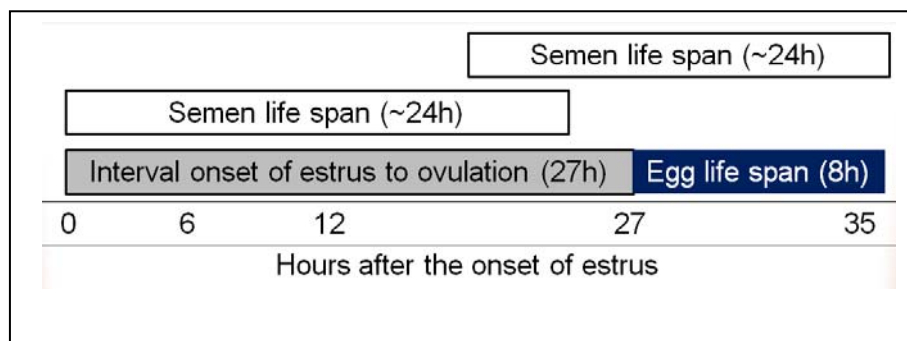


Figura 2. Efecto del tiempo de inseminación en la calidad del embrión (Dalton et al., 2008).

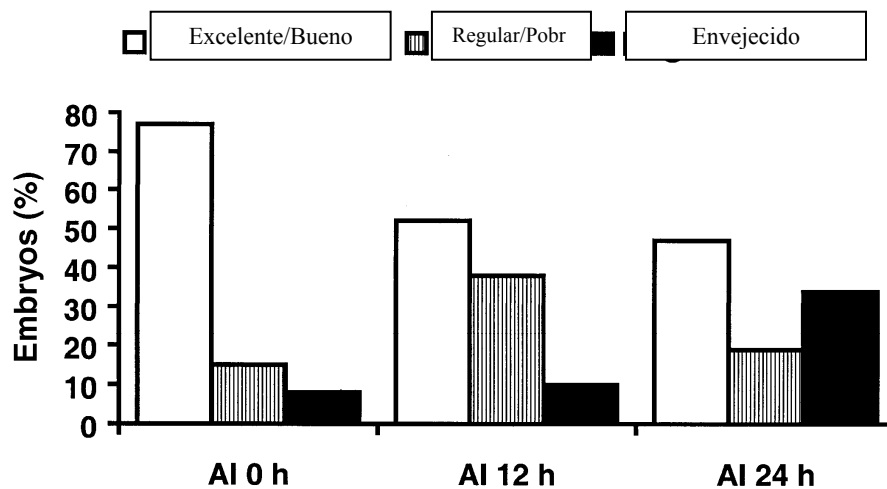


Tabla 2. Efecto de diferentes tiempos de la inseminación en la fertilidad, pérdida embrionaria y tasa de partos (Pursley et al., 1998).

	El tiempo de la segunda inyección de GnRH hasta la IA					Total
	0 h	8 h	16 h	24 h	32 h	
Numero de vacas.	149	148	149	143	143	732
TC/IA, %	37	41	45	41	32	39
Perdida de la preñez, %	9 ^a	21	21	21	32 ^a	22
Tasa de partos, %	31	31	33	29	20 ^b	29

^a Diferencia estadística con otros grupos en el mismo renglón ($P < 0.01$).

^b Diferencia estadística con otros grupos en el mismo renglón ($P < 0.05$).

16 h y más bajo para las inseminaciones tempranas y tardías. Además, las pérdidas de preñez aumentan a medida que se retrasa la inseminación luego de 16 h, lo que resulta en una óptima tasa de partos cuando la IA se hace en el momento de óptima fertilidad y menor pérdida embrionaria.

Saacke (2008) también midió el efecto del tiempo a la inseminación en la tasa de fertilización, la calidad del embrión y de espermatozoides accesorios (Figura 3). Basándonos en estos resultados así como los estudios de Pursley et al. (1998) y Dalton et al. (2008); la inseminación debe ser suficientemente tarde como para maximizar el acceso del espermatozoide a un ovulo fresco, pero no tan tarde como para ignorar el tiempo necesario de capacitación y transporte en el tracto reproductivo de la vaca incrementando los riesgos de que el ovulo envejezca esperando la llegada del esperma. Así que la inseminación no debe comprometerse en estos dos extremos. Una observación importante de este estudio fue la gran variación en el número de espermatozoides accesorios y la tasa de fertilización entre los diferentes toros. Esto abre una nueva ventana para investigar a los toros en relación con el tiempo de la inseminación.

INSEMINACIÓN UNA VEZ AL DÍA vs. LA REGLA AM/PM

Aun en nuestros días la investigación de Trimberger y Davis (1943) continúa siendo una regla importante a seguir para el tiempo de inseminación en las vacas lecheras. Sin embargo, nuevas técnicas en reproducción tales como inseminación a tiempo fija (IATF), pintada de la cola, aparatos electrónicos y podómetros entre otros, así como la constante expansión de las lecherías hacen que la regla de inseminación am-pm sea difícil de implementar en lecherías grandes. Más de 50 después de estos estudios, otros trabajos compararon la regla am-pm con la inseminación una vez al día y no encontraron diferencias estadísticas significativas en TC. Nebel (1994) reportó resultados similares de vacas que no retornaron en celo para los tratamientos de inseminación una vez al día o las inseminaciones que siguieron la regla am-pm, ambos bajo sistemas de detección de celo. En la (Tabla 3), se presentan resultados de los últimos 20 años de diferentes estudios que compararon la inseminación am-pm y la inseminación de una vez al día.

En conjunto, los resultados de la (Tabla 3) muestran que la inseminación una vez al día puede

traer los mismos resultados en TC que las inseminaciones basadas en la regla am-pm. Una de las razones de estos resultados es que ninguno de estos programas le permite al productor o al técnico de IA inseminación detectar el momento exacto de iniciación del celo, el cual es indeterminado bajo condiciones de trabajo en las granjas lecheras. De manera, que un aspecto crítico para que la IA una vez al día funcione es que las vacas se inseminen a la misma hora del día cada día, así con esto se previene que cada vaca se insemine con menos de 24 h de la iniciación del celo. La adopción de la técnica de inseminación una vez al día, no significa que solo una vez al día se haga detección de celos. La detección de celos debe hacerse por lo menos 2 veces al día en las vaquillas y 3 a 4 veces en las vacas en producción, especialmente cuando no hay un sistema ayuda de detección de calores (podómetros, el crayón o pintura para marcar la cola, aparatos electrónicos, parches, kamars, etc). Una regla general, para sistemas electrónicos de ayuda para detección de celos, el momento del inicio de máxima actividad puede ser asociado con el inicio del celo (el pico de estradiol).

CONCLUSIONES

El tiempo al cual se realiza la IA es un factor crítico para garantizar que un programa de reproducción tenga éxito, el cual debe combinarse con un programa de detección de calores que se a efectivo, consistente y confiable. Debido a la corta duración del celo, la detección debe hacerse por lo menos 4 veces al día en vacas altas productoras para poder tener una aceptable de tasa de inseminación. El mejor tiempo de inseminación se ha estimado en 12 h después del celo, de modo que es un balance entre la baja fertilidad y la alta calidad del embrión durante una inseminación temprana, y la alta fertilidad con baja viabilidad del embrión (pobre calidad) en la inseminación tardía. Ambas reglas de inseminación una vez al día (a la misma hora) y la regla am-pm continúan siendo estrategias validas para inseminación en vacas lecheras. El mejor tiempo a la inseminación es todavía más crítico para programas de IATF donde todas las vacas han sido sincronizadas y hay una ventana muy pequeña durante la cual las vacas ovulan. Las investigaciones futuras deberán centrarse en la variación individual de vida del semen de cada toro y cuál es su aporte en la fertilidad.

Figura 3. IA está comprometida entre la fertilidad y la calidad del embrión (Adaptado de Saacke, 2008).

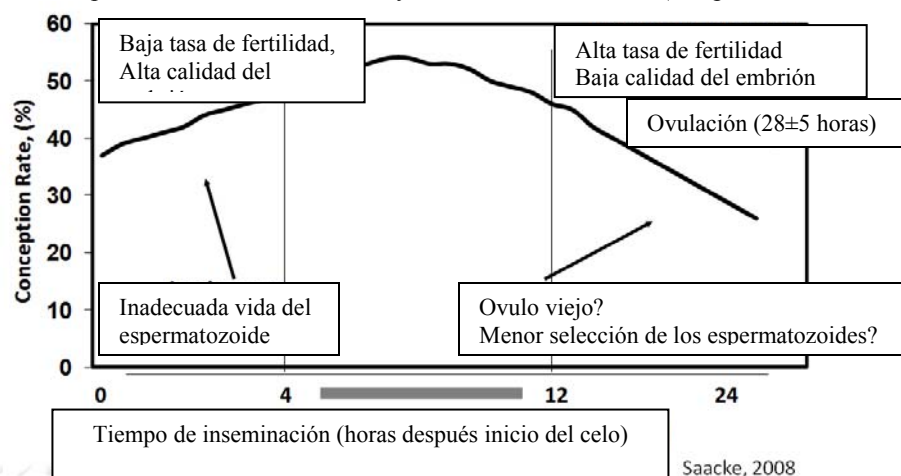


Tabla 3. Resumen de estudios que compararon el tasa de concepción entre la inseminación con la regla am-pm y una vez al día.

Bibliografía	Animales	n	NR/ TC am-pm (%)	NR/ TC Una vez al día (%)	Días NR/TC
Nebel et al., 1994	Vacas	7,240	65.6	64.6	65
Graves et al., 1997	Vacas y Becerras	337	60.5	57.6	60-80
Gonzales et al., 1985	Becerras	261	62.9	62.0	

BIBLIOGRAFIA

Brusveen D. J., A. P. Cunha, C. D. Silva, P. M. Cunha, R. A. Sterry, E. P. B. Silva, J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:1044-1052.

Dransfield, M. B. G., R. L. Nebel, R. E. Pearson, and L. D. Warnick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 1998 81:1874-1882.

Fricke, P. M. 1999. Timing of AI relative to estrus and ovulation. <http://www.wisc.edu/dysci>

Gonzalez, L. V., J. W. Fuquay., and H. J. Bearden, 1985. Insemination management for a one-injection PGF_{2α} synchronization regimen. I. One daily insemination versus use of the a.m./p.m. rule. *Theriogenology* 24:495-500.

Foote, R. H. 1979. Time of artificial insemination and fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 62:355-358.

Graves, W. M., H. H. Dowlen, K. C. Lamar, D. L. Johnson, A. M. Saxton, and M. J. Montgomery. 1997. The effect of artificial insemination once versus twice per day. *J. Dairy Sci.* 80:3068-3071.

Kaim, M., A. Bloch, D. Wolfenson, R. Braw-Tal, M. Rosenberg, H. Voet, and Y. Folman, 2003. Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception. *J. Dairy Sci.* 86:201- 2021.

Nebel, R. L., W. L. Walker, M. L. McGilliard, C. H. Allen, and G. S. Heckman. 1994. Timing of artificial insemination of dairy cows: fixed time once daily versus morning and afternoon. *J. Dairy Sci.* 77: 3185-3191.

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.

Saacke, R. G. 2008. Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology* 70:479-484.

Trimberger, G. W., and H. P. Davis, 1943. Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various stages of oestrus. *Nebraska Agric. Exp. Stn. Bull.* No. 129, Lincoln.