

## **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA TASA DE GESTACIÓN DE NOVILLAS Y VACAS FRISONAS INSEMINADAS CON SEMEN SEXADO CONGELADO O SEMEN CONGELADO CONVENCIONAL**

Comparative study of pregnancy rates in holstein friesian heifers and cows inseminated with sexed frozen semen or conventional frozen semen.

**Guillén-López, V.; Arana-Sánchez, R.; Cuello-Medina, C.\***

Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Excelencia Mare Nostrum, 30100. Espinardo, Murcia (España).

**\*Autora de correspondencia:** Cristina Cuello Medina (ccuello@um.es)

Tipo de artículo: Trabajo de Fin de Grado (Veterinaria)

Recibido: 25/11/2025

Aceptado: 04/12/2025

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo de la tasa de gestación de novillas y vacas frisonas inseminadas con semen sexado congelado o semen congelado convencional en una granja comercial de la Región de Murcia. Para ello se utilizaron 129 novillas (15-18 meses de edad) y 296 vacas (24-34 meses). En las novillas, la ovulación se sincronizó mediante un tratamiento hormonal, mientras que la detección del celo en las vacas se realizó utilizando collares con sensores de actividad. La inseminación artificial (IA) se realizó mediante la técnica recto-vaginal y se emplearon dosis de semen sexado congelado y semen congelado convencional comerciales. El diagnóstico ecográfico de la gestación se llevó a cabo entre los días 28 y 32 post-inseminación y se confirmó tres meses después de la IA mediante palpación rectal. Las hembras que resultaron vacías se sometieron a una segunda IA. El análisis estadístico de los datos mostró que la categoría de la hembra (novilla o vaca) y el tipo de semen (sexado o convencional) influyeron en la tasa de gestación ( $p=0.005$  y  $p=0.003$ , respectivamente). En este estudio, solo se encontraron diferencias ( $p<0.05$ ) entre las tasas de gestación de novillas y vacas en las inseminaciones realizadas con semen convencional. Estas tendieron a ser mayores ( $p=0.07$ ) en

novillas (66.7%) que en vacas (44.4%) en la primera IA, y fueron significativamente mayores ( $p=0.04$ ) en novillas (80%) que en vacas (40%) en la segunda. En cuanto a las IAs realizadas con semen sexado, las novillas y vacas presentaron una tasa de gestación similar. Además, la tasa de gestación en novillas inseminadas con semen convencional fue mayor a la obtenida con semen sexado (93.3% y 65.7%, respectivamente).

**Palabras clave:** novillas, vacas, semen sexado, tasa de gestación, inseminación artificial.

## ABSTRACT

The aim of this study was to conduct a comparative analysis of the pregnancy rate in Holstein-Friesian heifers and cows inseminated with frozen sexed semen or conventional frozen semen on a commercial farm in the Region of Murcia. A total of 129 heifers (15–18 months old) and 296 cows (24–34 months old) were used. In heifers, ovulation was synchronized using a hormonal treatment, while estrus detection in cows was carried out using collars with activity sensors. Artificial insemination (AI) was performed using the recto-vaginal technique, and commercial doses of frozen sexed and conventional semen were used. Ultrasound pregnancy diagnosis was performed between days 28 and 32 post-insemination and confirmed three months after AI by rectal palpation. Females that were not pregnant underwent a second AI.

Statistical analysis of the data showed that both the female category (heifer or cow) and the type of semen (sexed or conventional) influenced the pregnancy rate ( $p=0.005$  and  $p=0.003$ , respectively). In this study, differences ( $p<0.05$ ) were found only in the pregnancy rates between heifers and cows inseminated with conventional semen. The rates tended to be higher ( $p=0.07$ ) in heifers (66.7%) than in cows (44.4%) at the first AI and were significantly higher ( $p=0.04$ ) in heifers (80%) than in cows (40%) at the second one.

Regarding inseminations with sexed semen, heifers and cows showed similar pregnancy rates. Moreover, the pregnancy rate in heifers inseminated with conventional semen was higher than that obtained with sexed semen (93.3% and 65.7%, respectively).

**Keywords:** heifers, cows, sexed semen, pregnancy rate, artificial insemination.

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) con semen sexado congelado y semen congelado convencional es una práctica muy extendida en el ganado bovino (Wiebke et al., 2022). En 2011, aproximadamente el 80% del ganado lechero de Europa y América del Norte estaba incluido en programas de IA (Morrell, 2011). Esta tecnología reproductiva permite mejorar la genética del rebaño, optimizar el control sanitario y aumentar la eficiencia reproductiva (Mohammed, 2018). En este contexto, el uso de semen sexado ha ganado popularidad en la industria lechera, ya que permite escoger el sexo de la descendencia haciendo posible la obtención de terneras, que tienen un valor económico muy superior a los machos (Crowe et al., 2021).

La mejora genética más intensiva se consigue inseminando hembras de alto valor gené-

tico y de mayor fertilidad con semen sexado. De forma general, se insemina a las novillas con semen sexado de toros seleccionados, lo que dará lugar a la reposición (Holden y Butler, 2018). En cambio, las hembras menos fértiles o con menor mérito genético se inseminan con semen congelado convencional, a menudo procedente de sementales de razas cárnicas, con el objetivo de obtener terneros con una buena conformación muscular destinados a la producción de carne (Bittante et al., 2020 y 2021).

La fertilidad del ganado vacuno se ve afectada por diversos factores entre los cuales se encuentra el tipo de semen empleado para la IA. Generalmente se asume una reducción de la fertilidad cuando se emplea semen sexado en comparación con el semen congelado convencional (Karakaya et al., 2014). Esta menor fertilidad obtenida con el semen sexado se debe al estrés físico y mecánico al que son sometidos los

espermatozoides durante el proceso de sexaje (Kumar et al., 2024). Sin embargo, algunos investigadores describen fertilidades semejantes empleando semen sexado congelado y semen congelado convencional en rebaños sometidos a un buen manejo (Schenk et al., 2009; Butler et al., 2014a; Xu, 2014; Vishwanath y Moreno, 2018). Estos resultados ponen de manifiesto que la fertilidad esperada con semen congelado varía dependiendo de las explotaciones y el manejo reproductivo de las hembras, entre otros aspectos.

Otro factor que influye en la fertilidad es la categoría de la hembra. Algunos autores (Healy et al., 2013; Rai et al., 2019) observaron que al emplear semen convencional las novillas presentaban tasas de gestación superiores a las vacas. Esto se debe a que las hembras nulíparas no padecen enfermedades postparto (Silva et al., 2014) ni tienen una demanda energética elevada asociada a la producción de leche que afecta de forma significativa a la fertilidad (Karakaya et al., 2014). Además, estos aspectos hacen que las novillas sean más resistentes al estrés por calor que las vacas, cuya fertilidad se ve considerablemente afectada por los efectos negativos del estrés térmico (Oikawa et al., 2019).

El presente trabajo se realizó en una explotación de vacuno lechero ubicada en Gea y Truyols (Región de Murcia). La hipótesis de partida es que la tasa de gestación en novillas sea mayor que en vacas con semen convencional según los antecedentes de la literatura. Con respecto al semen sexado, lo más probable es que la tasa de gestación sea menor que con semen convencional, aunque se espera una buena fertilidad por las características de la explotación y el buen manejo de los animales. Por todo ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del tipo de semen (sexado congelado o congelado convencional) y de la categoría de las hembras (novillas o vacas) sobre la tasa de gestación después de la IA. Los resultados obtenidos serán de utilidad para la toma de decisiones en relación al manejo reproductivo de la

explotación en cuanto a la obtención de hembras para la cría.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. Animales

En este estudio se han utilizado hembras de raza frisona (*Holstein Friesian*), novillas de entre 15 y 18 meses de edad y vacas de primera lactación, con una edad comprendida entre los 24 y 34 meses. Estos animales se encontraban en una explotación que contaba con un censo de 1500 cabezas de vacuno dedicada a la producción de leche y cría de novillas y vacas de raza *Holstein Friesian*.

El ganado se aloja en parques al aire libre y con cama caliente que cuentan con una densidad media aproximada de 15 metros cuadrados por animal, garantizando el confort y el bienestar. Cada parque dispone de una zona descubierta que permite el acceso a luz solar directa, así como de áreas parcialmente cubiertas que proporcionan sombra y protección frente a las inclemencias climáticas. La distribución de los animales se realiza teniendo en cuenta su edad y categoría productiva, lo que facilita una correcta gestión sanitaria, alimentaria y reproductiva.

Con respecto a la alimentación, en esta ganadería se aprovechan los subproductos agrícolas generados en zonas próximas (campo de Cartagena, Torre Pacheco, etc), como alcachofa, brócoli y pulpa de cítricos, que son económicos y de gran aporte nutritivo, en combinación con el resto de componentes de la ración. El modo de administración de la ración varía en función de la edad de los animales y el estado productivo. En el caso de las vacas y las novillas mayores de 12 meses, se emplea el sistema *unifeed*, es decir, todos los componentes junto a los subproductos agrícolas se ofrecen de forma conjunta en una única ración tres veces al día. Por otro lado, a las hembras de entre 3 y 12 meses, se les administra pienso, corrector vitamínico-mineral, alfalfa, abundante heno de buena calidad

y subproductos. Por último, las novillas de entre 12 y 24 meses reciben una ración similar a la de las vacas en lactación. La ración estándar que se administra durante todo el año a las vacas adultas de alta producción incluye de 8 a 12 kg de concentrado de maíz, soja y cebada, corrector vitamínico-mineral, silo de maíz, alfalfa deshidratada, semillas de algodón, colza, buffers, pellets de remolacha, heno de buena calidad y bagazo de cebada. Además, según la época del año, se incorporan subproductos como alcachofa, brócoli y pulpa de cítricos (naranja o limón). Por otro lado, la ración básica para las vacas en secado contiene pienso (2 kg por animal al día), heno de buena calidad y alfalfa deshidratada. De la misma forma, esta mezcla se puede suplementar con correctores vitamínico- minerales y subproductos. En esta explotación todos los animales disponen de agua *ad libitum*.

## 2. DETERMINACIÓN DEL MOMENTO ÓPTIMO PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La detección del momento óptimo para la IA se realizó de dos formas diferentes según la edad y el estado productivo de los animales. En novillas se efectuó la inseminación a tiempo fijo después de un tratamiento de sincronización de

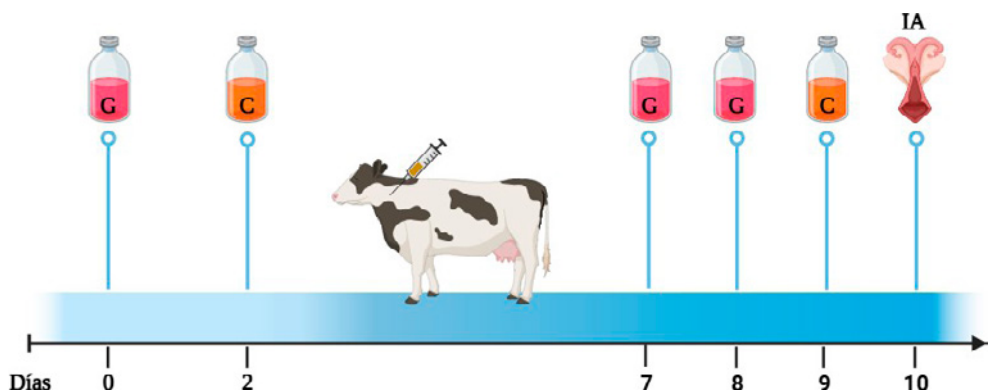
la ovulación. En vacas se llevó a cabo la inseminación tras la detección del estro mediante un sistema de monitorización de la actividad con collares como se describe a continuación.

### 2.1. Protocolo de sincronización de la ovulación en novillas

El protocolo de sincronización de la ovulación en novillas incluyó dos análogos sintéticos, uno de la  $PGF_{2\alpha}$  (dextrocloprostenol sódico) y otro de la GnRH (gonadorelina), siguiendo la pauta de administración que se resume en la Figura 1. Se administró una dosis de 0.150 mg de dextrocloprostenol sódico (Galapan® 0.075 mg/ml, Industrial Veterinaria, S.A., España) a cada novilla los días 0, 7 y 8 de tratamiento y una dosis de 0.1 mg de gonadorelina (Cystoreline® 0.05 mg/ml, Ceva Salud Animal, España) los días 2 y 9 de tratamiento. Ambos fármacos se administraron por vía intramuscular. Las novillas se inseminaron la mañana del décimo día desde el inicio del tratamiento hormonal.

### 2.2. Detección del estro y momento óptimo de la inseminación en vacas

La detección del estro en las vacas se realizó empleando collares con el sistema *SenseHub*



**Figura 1.** Esquema del protocolo de sincronización de la ovulación en novillas. G: Galapan®; C: Cystoreline®.



**Figura 2.** Vaca con collar de monitorización de la actividad *SenseHub* (Allflex Livestock Intelligence®).

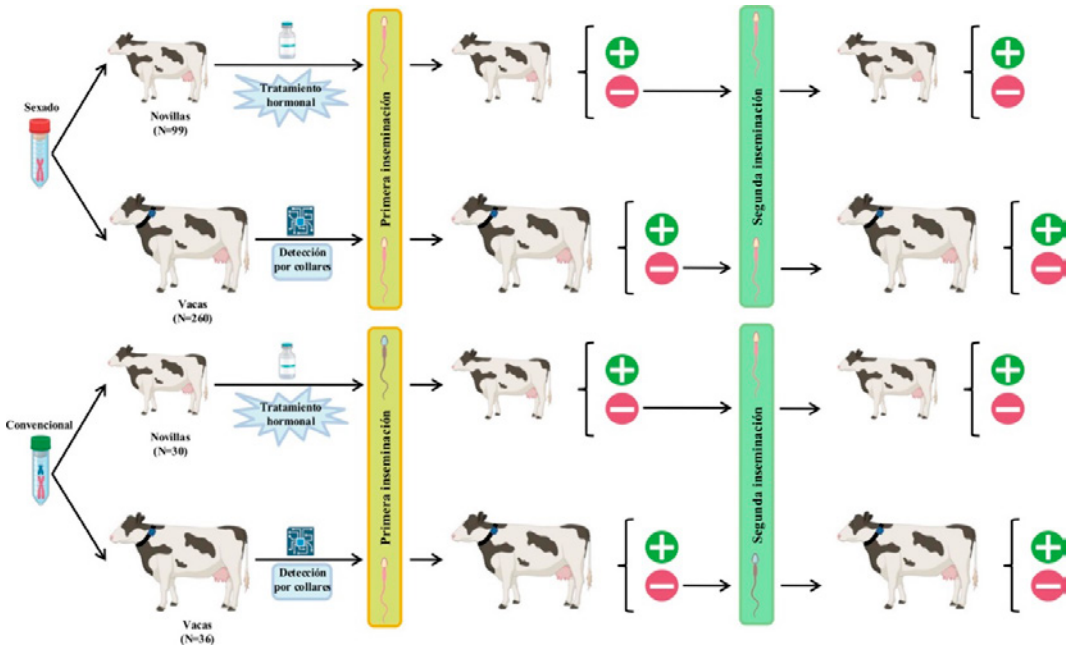
de la marca Allflex Livestock Intelligence® (Figura 2; MSD Animal Health Intelligence). Este sistema de monitorización consta de un collar con sensores que recopilan información sobre parámetros de actividad del animal relacionados con el celo (número de pasos, tiempo de ingesta y tiempo de rumia). Los datos recogidos por los collares se analizaron con la herramienta informática *Sensehub* que muestra una alta precisión incluso en la detección de celos silentes. Este programa detectó el estro en las vacas en base a un aumento de la actividad física y una disminución del tiempo que la vaca permaneció comiendo y/o rumiando. Al detectar estos parámetros el programa emitió una alerta en el ordenador y en el teléfono móvil indicando la probabilidad (en porcentaje) de que esa hembra estuviera en estro. El celo se confirmó mediante palpación rectal, detectando un aumento del tono muscular uterino y observando la presencia de moco cervical, que en una hembra en celo es transparente, filante y denso. También se examinaron los ovarios con el fin de descartar la presencia de quistes u otras estructuras anómalas. Una vez

confirmado el estro, se inseminó dentro del periodo óptimo propuesto por el programa de gestión reproductiva, que varía desde 4 a 16 horas. Este amplio periodo de tiempo se debe a que la inseminación se realiza dentro del plazo previsto, aunque siempre considerando la carga de trabajo en la granja y las condiciones climáticas. Todos los datos generados sobre la detección del estro y momentos de la inseminación quedaron registrados también en el programa informático de gestión de la explotación ganadera *Uniform-Agri* (versión 1.20.1351 S3.42.0, 1986, Madrid, España).

### 3. DOSIS ESPERMÁTICAS

En este estudio se han empleado dosis comerciales de semen congelado en pajuelas mini de 0.25 mL procedentes de la empresa canadiense Alta Genetics (263114 Range Rd 11, Rocky View Country, AB T0M 0E0, Canadá), que fueron enviadas desde sus centros de distribución en España (Paterna, Valencia) a la granja en tanques de nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ . Las dosis de semen sexado congelado contenían  $2 \times 10^6$  de espermatozoides por pajuela y las dosis de semen convencional  $25 \times 10^6$  de espermatozoides.

Los donantes de semen sexado fueron dos toros de raza frisona, Mesmerize (<https://bullsearch.altagenetics.com/us/BS/Bull/011HO16020>) y Starsky (<https://bullsearch.altagenetics.com/us/BS/Bull/011HO16058>), cuya información se puede consultar en cada uno de los enlaces. Por otra parte, el donante de semen convencional fue un toro de raza Aberdeen Angus. A la recepción de las dosis seminales, se examinaron las pajuelas externamente para comprobar que no había cristalizaciones u otros defectos. Además, se tomó una muestra de cada lote y se realizó una contrastación seminal rutinaria con el fin de verificar que no se habían producido alteraciones en la calidad espermática durante el transporte.



**Figura 3.** Diseño experimental. + Novillas o vacas gestantes. - Novillas o vacas vacías

#### 4. PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

El semen se almacenó en tanques de nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la IA. El material empleado para la IA se muestra en la Figura 1 del Material Complementario. La descongelación de las pajuelas se realizó en un baño María a  $35\text{-}36^{\circ}\text{C}$  durante 60 segundos. Para cada una de las IAs se descongeló una pajuela. Una vez descongelada, la pajuela se secó con papel y se introdujo en el extremo del catéter de inseminación (QuickLock 2000, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Alemania). Previamente, el catéter de inseminación y la vaina (Universal AI Sheaths, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Alemania) se habían calentado con ayuda de una funda térmica a  $38^{\circ}\text{C}$  (IFT Smart Warmer™, IFT Instruments S.R.L., Montevideo, Uruguay), con el fin de evitar cambios bruscos

de temperatura que afectarían a la viabilidad de los espermatozoides. Una vez colocada la pajuela en el catéter, se cortó con tijeras el extremo sellado de la misma y se colocó la vaina cubriendo al catéter. Se comprobó que la pajuela estaba bien posicionada presionando levemente el émbolo y verificando que el semen subía hacia el extremo de la pajuela. Finalmente, se cubrieron el catéter y la vaina con una camisa sanitaria (A.I./E.T. Sanitary sheaths, IMV Technologies, L'Aigle, Francia).

La IA se realizó mediante la técnica recto-vaginal o método americano (Patel et al., 2017). En la Figura 2 del Material Complementario se ilustra el instrumental necesario y el procedimiento de inseminación. En primer lugar, se limpiaron minuciosamente con agua jabonosa los genitales externos y se secaron con papel. A continuación, se introdujo una mano enguantada y lubricada por el recto con el objetivo de

sujetar el cérvix. Con la otra mano se introdujo el catéter a través de la vulva y la vagina hasta la entrada del cuello uterino. En este momento se retiró la camisa sanitaria. Para favorecer el avance del catéter hasta el cuerpo del útero, con la mano que sujetaba el cérvix se realizaron giros de muñeca, sintiendo su paso a través de los pliegues cervicales. Una vez que el extremo del catéter alcanzó el cuerpo del útero, se presionó el émbolo para depositar la dosis seminal y se retiró el catéter.

## 5. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN Y SEGUIMIENTO DE LAS HEMBRAS GESTANTES

El diagnóstico de gestación se realizó por vía transrectal empleando un ecógrafo portátil de la marca FarmScan® L60 (BMV Medtech Group, Shenzhen, China) y una sonda lineal con una frecuencia de 2 a 8 MHz. Las hembras se ecografiaron entre el día 28 y 32 de gestación (Día 0 = días de la inseminación). A las que quedaron gestantes, se les realizó la confirmación de gestación por palpación rectal a los 3 meses post- inseminación.

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos del presente estudio se analizaron con el programa informático de análisis estadístico SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.), versión 28.0.1.1. Se empleó un modelo lineal para determinar el efecto del donante de semen (inseminaciones con semen sexado), de la categoría de la hembra (novilla o vaca), del tipo de semen (sexado o convencional) y del número de inseminación (primera o segunda) sobre la tasa de gestación en día 90. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba post-hoc de Bonferroni. Las tasas de gestación entre grupos se compararon mediante la prueba de Chi cuadrado. En todos los casos, se consideraron diferencias estadísticamente significativas para un valor de  $p$  inferior a 0.05.

## 7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este trabajo se ha realizado con hembras inseminadas entre los meses de octubre y noviembre de 2024 (primera inseminación). Se utilizaron un total de 129 novillas y 296 vacas de primera lactación. En las novillas se realizó la inseminación a tiempo fijo después de un protocolo de sincronización de la ovulación, mientras que en las vacas la inseminación se llevó a cabo tras la detección del estro mediante un sistema de collares, como se ha descrito anteriormente. Las hembras se sometieron a una primera IA y aquellas que quedaron vacías, se volvieron a inseminar siguiendo los mismos protocolos (segunda inseminación). Un total de 99 novillas y 260 vacas se inseminaron con semen sexado congelado. Por otro lado, 30 novillas y 36 vacas se inseminaron con semen congelado convencional. En el caso de realizar una segunda inseminación, se empleó el mismo tipo de semen que en la primera.

Los datos de gestación que se proporcionan son los que corresponden a la confirmación a los 3 meses después de la IA.

## RESULTADOS

El análisis estadístico de los datos con el modelo lineal mostró que la categoría de las hembras (novillas o vacas) y el tipo de semen (sexado o convencional) influyeron ( $p < 0.01$ ) de forma significativa en la tasa de gestación. Sin embargo, el número de inseminación (primera o segunda) no afectó a este parámetro. La única interacción significativa ( $p < 0.05$ ) se encontró entre la categoría de la hembra y el tipo de semen. Dicha interacción indica que el efecto de la categoría de la hembra sobre la tasa de gestación depende del tipo de semen utilizado para la IA, y viceversa. En este estudio únicamente se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre novillas y vacas en las inseminaciones con semen convencional, como se expondrá posteriormente.

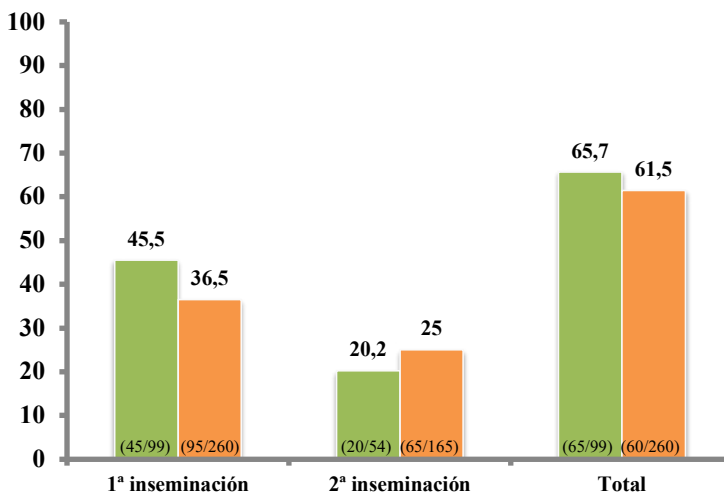
En la Figura 4 se representan las tasas de gestación obtenidas con semen sexado en novillas y vacas en la primera y segunda inseminación, así como la tasa de gestación total. No se observaron diferencias significativas en ningún caso, aunque las novillas tendieron ( $p=0.12$ ) a presentar una mayor tasa de gestación que las vacas en la primera inseminación. La tasa de gestación obtenida en la primera inseminación de novillas con semen sexado en el presente estudio fue del 45,5%, mientras que en las vacas fue del 36,5%. Sin embargo, en la segunda inseminación se observó una tasa de gestación del 20,2% en novillas y un 25% en vacas.

Considerando de forma conjunta las novillas y las vacas, las tasas de gestación con semen sexado fueron del 39% en la primera inseminación y del 23,7% en la segunda, siendo la tasa de gestación total un 62,7%.

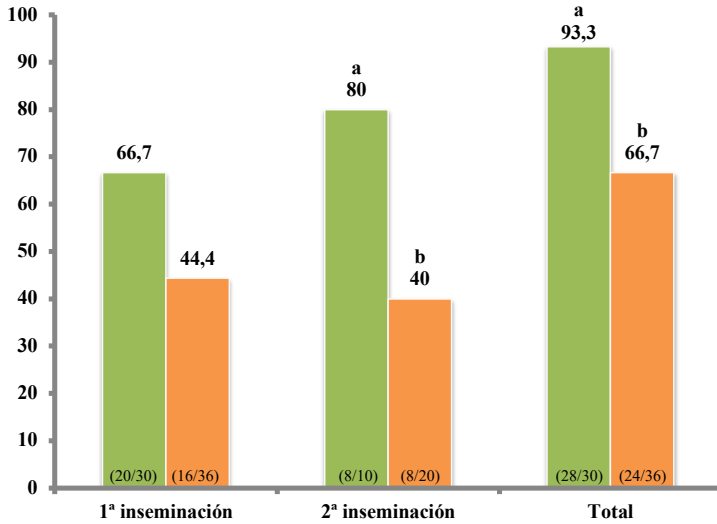
En la Figura 5 se muestran las tasas de gestación de novillas y vacas inseminadas con semen convencional. En la primera insemina-

ción, la tasa de gestación tendió ( $p=0.07$ ) a ser mayor en las novillas que en las vacas. La diferencia entre las dos categorías de animales sí fue significativa en la segunda inseminación ( $p<0.05$ ), así como en la tasa de gestación total, obteniendo las novillas una tasa de gestación mayor ( $p<0.01$ ) que las vacas. Las tasas de gestación en la primera inseminación de novillas y vacas realizada con semen convencional en el presente estudio fueron del 66,7% y el 44,4%, respectivamente. Por su parte, en la segunda inseminación con dosis convencionales se observó una tasa de gestación en novillas del 80% y en vacas del 40%.

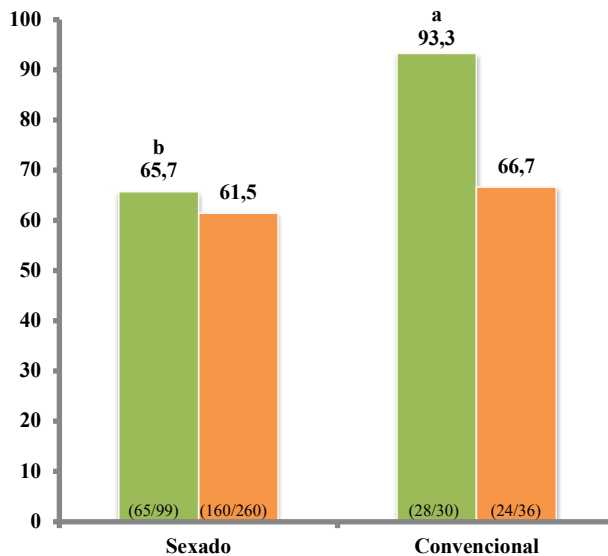
En la Figura 6 se puede observar la tasa de gestación de las novillas y vacas inseminadas con semen sexado y convencional. En este trabajo se observaron diferencias significativas ( $p<0.01$ ) en las tasas de gestación según el tipo de semen empleado para la IA, siendo mayor para el semen convencional en comparación con el semen sexado en el caso de las novillas.



**Figura 4.** Tasas de gestación (%) en la primera y segunda inseminación de novillas (verde) y vacas (naranja) inseminadas con semen sexado. Los valores se representan en porcentaje. Entre paréntesis se indica la N de hembras gestantes con relación al total de hembras inseminadas de cada grupo.



**Figura 5.** Tasas de gestación (%) en la primera y segunda inseminación de novillas (verde) y vacas (naranja) inseminadas con semen convencional. Los valores se expresan en porcentaje. Entre paréntesis se indica la N de hembras gestantes con relación al total de animales de cada grupo. <sup>a,b</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



**Figura 6.** Tasas de gestación (%) de novillas (verde) y vacas (naranja) inseminadas con semen sexado y convencional. Los valores se representan en porcentaje. Entre paréntesis se indica la N de hembras gestantes con relación al total de animales de cada grupo. <sup>a,b</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

En este estudio se comparó la fertilidad de novillas y vacas inseminadas con semen sexado congelado y dosis convencionales de semen congelado. En las inseminaciones con semen sexado se emplearon dosis provenientes de dos toros. No se observaron diferencias significativas en la tasa de gestación entre toros en ninguno de los dos grupos de hembras utilizados. Por esta razón, se han analizado los datos de las inseminaciones realizadas con semen de ambos toros de forma conjunta. Estos resultados difieren de lo descrito en otros estudios (Cerchiaro et al., 2007; Frijters et al., 2009; DeJarnette et al., 2011), donde sí observaron un efecto significativo del donante de semen en la fertilidad del semen sexado. El que no se hayan observado diferencias entre toros en este estudio puede deberse al empleo de dosis comerciales. Las empresas de genética realizan una selección de los donantes de semen en base a sus características genéticas y la calidad seminal. Así, únicamente emplean para el sexaje y posterior congelación eyaculados de calidad excepcional, lo que da lugar a dosis seminales muy homogéneas en cuanto a calidad. Por otro lado, la ausencia de diferencias también puede explicarse por el reducido número de toros utilizados en este estudio, ya que nuestro objetivo no fue estudiar el efecto de este parámetro.

En cuanto a la fertilidad obtenida con semen sexado, Bodmer et al. (2005) y Dominiguez et al. (2011) observaron tasas de gestación semejantes para vacas y novillas inseminadas con semen sexado congelado en la primera inseminación, lo cual resulta similar a los datos obtenidos en el presente estudio. El número de inseminación (primera o segunda) no afectó la tasa de gestación de novillas o vacas inseminadas con semen sexado. Estos resultados son similares a los de DeJarnette et al. (2010), quienes describieron que las tasas de gestación en novillas y vacas no variaban significativamente entre las distintas inseminaciones.

Los resultados obtenidos en este estudio al inseminar novillas con semen sexado (45.5%) son parecidos a los descritos previamente por otros autores (Bodmer et al., 2005; Borchersen y Peacock, 2009; DeJarnette et al., 2009; Schenk et al., 2009; DeJarnette et al., 2010; Norman et al., 2010; Funston y Meyer, 2012; Healy et al., 2013; Abdalla et al., 2014; Kurykin et al., 2016; Joezy-Shekalgorabi et al., 2017; Oikawa et al., 2019), quienes reportaron tasas de gestación con semen sexado-congelado entre el 31.6% y el 49.3% para novillas en la primera inseminación. De la misma forma, la tasa de gestación en la primera inseminación de vacas con semen sexado obtenida en este estudio (36.5%) se sitúa en el rango de datos (desde el 23% al 40%) aportados por otros investigadores (Bodmer et al., 2005; DeJarnette et al., 2009; DeJarnette et al., 2010; Norman et al., 2010; Karakaya et al., 2014; Sharma et al., 2018). No obstante, en la segunda inseminación se obtuvieron unos porcentajes inferiores (20.2% en novillas y un 25% en vacas) a los descritos previamente (39% en novillas y 30% en vacas) por DeJarnette et al. (2009).

Los resultados obtenidos tras la primera IA en este trabajo fueron comparables a los previamente descritos en la literatura, tanto en novillas como en vacas. Sin embargo, se observó una mayor variabilidad en las tasas de gestación tras la segunda inseminación, realizada en aquellas hembras que no resultaron gestantes en la primera. Esta mayor dispersión podría explicarse por diversos factores fisiológicos y de manejo. Tras una inseminación fallida, algunas hembras pueden presentar alteraciones del ciclo estral, como estros silenciosos, luteólisis incompleta o disfunciones ováricas, lo que dificulta la detección precisa del estro y afecta negativamente a la sincronización y al momento óptimo de la inseminación. Adicionalmente, el tamaño reducido de la población sometida a una segunda inseminación limita la potencia estadística y amplifica la variabilidad relativa de los resultados. En este contexto, Remnant et al. (2015)

describieron la heterogeneidad fisiológica de las respuestas reproductivas tras un fallo inicial de concepción, hecho que explica la mayor variabilidad en las tasas de gestación de la segunda inseminación. A este respecto, DeJarnette et al. (2009) y Healy et al. (2013) demostraron que la tasa de gestación en novillas disminuye en cada inseminación.

La causa por la que no se observaron diferencias en las tasas de gestación entre novillas y vacas inseminadas con semen sexado se atribuye a la menor calidad de este semen en comparación con el convencional (Seidel, 2014). Se ha descrito que los espermatozoides de toro sufren daños durante los procesos de congelación y sexaje (Kumar et al., 2024) que afectan a su capacidad de unión al oviducto y a la integridad mitocondrial (Camara Pirez et al., 2020), produciendo alteraciones como reducción de la motilidad progresiva, disminución de la velocidad, menor hiperactivación y patrones de movimiento anormales (Reese et al., 2021). Esta reducción en la calidad espermática limita la manifestación de las ventajas fisiológicas propias de las novillas, igualando sus tasas de gestación a las de las vacas, como ya se ha descrito anteriormente (Bodmer et al., 2005; Dominguez et al., 2011; Healy et al., 2013). Al igual que en este trabajo, Healy et al. (2013) observaron diferencias en las tasas de gestación entre novillas y vacas en las inseminaciones con semen convencional, y no en las realizadas con semen sexado.

Las tasas de gestación en la primera inseminación de novillas y vacas con semen convencional pueden considerarse muy buenas, teniendo en cuenta que otros autores reportaron tasas de gestación en novillas con semen convencional del 39.6% al 63.8% (Bodmer et al., 2005; Borchersen y Peacock, 2009; DeJarnette et al., 2009; Schenk et al., 2009; DeJarnette et al., 2010; Norman et al., 2010; DeJarnette et al., 2011; Funston y Meyer, 2012; Healy et al., 2013; Abdalla et al., 2014; Kurykin et al., 2016; Joezy-Shekalgorabi et al., 2017; Oikawa et al.,

2019). En el caso de las vacas, en la bibliografía se describen tasas de gestación entre el 28.1% y el 49.3% (Bodmer et al., 2005; DeJarnette et al., 2010; Norman et al., 2010; Karakaya et al., 2014; Sharma et al., 2018). Por su parte, en la segunda inseminación con dosis convencionales, la tasa de gestación en novillas superó notablemente los resultados obtenidos (53%) por DeJarnette et al. (2009).

La menor tasa de gestación obtenida en las vacas con semen convencional con relación a las novillas puede deberse a varios factores. En primer lugar, las vacas presentan cierta incidencia de enfermedades postparto que afectan negativamente a su fertilidad (Chebel et al., 2004), hecho que no afecta a las novillas. Por otro lado, las vacas multíparas tienen una mayor demanda energética derivada de su elevada producción láctea, lo que puede alterar su balance energético afectando también a la fertilidad (Karakaya et al., 2014). Además, la alta producción de leche (Karakaya et al., 2014) y un elevado número de partos (Hagiya et al., 2017) incrementan la susceptibilidad de las vacas a los efectos negativos que el estrés por calor ejerce sobre el rendimiento reproductivo (Oikawa et al., 2019).

Al igual que se ha observado en este trabajo, DeJarnette et al. (2009 y 2010) y Maicas et al. (2019) observaron diferencias significativas en las tasas de gestación según el tipo de semen empleado para la IA. Estas diferencias se deben al estrés físico y mecánico al que son sometidos los espermatozoides durante el proceso de sexaje (Kumar et al., 2024), como se ha descrito anteriormente. Otro aspecto que puede influir en la menor tasa de gestación obtenida con el semen sexado es la menor cantidad de espermatozoides por pajuela en comparación con el semen convencional. Mientras que las dosis convencionales contienen  $15 \times 10^6$  de espermatozoides, en el semen sexado esta cifra se reduce a  $2 \times 10^6$ . Esta diferencia en la concentración de las pajuelas de semen sexado con respecto a las de semen convencional se debe

al escaso rendimiento del citómetro de flujo (Mikkola et al., 2024), que va separando los espermatozoides de uno en uno, lo cual constituye un factor limitante para la producción de dosis con mayor número de espermatozoides. Este hecho complica la comparación entre semen convencional y sexado cuando se emplean dosis comerciales, ya que el semen sexado parte con una clara desventaja, no solo presenta una calidad espermática inferior a causa de las alteraciones producidas por el proceso de sexaje, sino que también contiene una menor cantidad de espermatozoides por dosis.

Son varias las razones que justifican la rentabilidad del uso de semen sexado en la ganadería estudiada en base a los resultados obtenidos. En primer lugar, la intención del productor de aumentar el número de cabezas de ganado hace interesante el empleo de semen sexado, ya que el precio actual en España de una novilla gestante (aproximadamente 2500-3500 €) supera los costes de producción de una hembra nacida en la explotación a partir de IA con semen sexado hasta su primer parto (aproximadamente 1500-2000 €). Además, debido al elevado número de animales que posee esta explotación (1500 cabezas) es necesario disponer de una amplia recría. Por otro lado, la gran superficie (15 hectáreas) con la que cuentan las instalaciones permite planificar una expansión del rebaño, para lo que también se requiere un elevado número de hembras. Otro aspecto importante es que el uso de semen sexado permite acelerar la mejora genética del rebaño mediante la selección de los sementales de mayor valor genético.

Todos estos argumentos y la buena tasa de gestación obtenida en este estudio con semen sexado en novillas y vacas de primera lactación (45.5% y 36.5%, en la primera IA respectivamente), justifican su uso. La realización de IAs con semen sexado en esta explotación resulta rentable a pesar de que las novillas inseminadas con semen sexado presentan menores tasas de gestación que las inseminadas con semen convencional, de que el uso de semen sexado

garantiza el nacimiento de un 90% de hembras y de tener un coste tres veces superior al semen convencional.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio permiten alcanzar las siguientes conclusiones: No existen diferencias en las tasas de gestación entre novillas y vacas inseminadas con semen sexado congelado; la tasa de gestación en las novillas es mayor que la de las vacas cuando se emplea semen congelado convencional para la IA; las tasas de gestación son similares en la primera y segunda inseminación, independientemente del tipo de semen o categoría de la hembra inseminada. En novillas, el uso de semen congelado convencional proporciona tasas de gestación superiores a las obtenidas con semen sexado congelado.

Desde un punto de vista práctico, teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, podemos concluir que el empleo de dosis de semen sexado congelado está justificado y es rentable en la explotación estudiada.

## REFERENCIAS

1. Abdalla, H., Ali, M. A., & El-Tarabany, M. S. (2014). Fertility of commercial sexed semen and the economic analyses of its application in Holstein heifers. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2(9), 535–542.
2. Bittante, G., Negrini, R., Bergamaschi, M., Cecchinato, A., & Toledo-Alvarado, H. (2020). Short communication: Pure-breeding with sexed semen and crossbreeding with semen from double-muscle sires to improve beef production from dairy herds: Weight and value of calves. *Journal of Dairy Science*, 103, 5258–5262.
3. Bittante, G., Negrini, R., Bergamaschi, M., Ni, Q., Patel, N., Toledo-Alvarado, H., & Cecchinato, A. (2021). Purebreeding with sexed semen and crossbreeding with se-

- men from double-muscled sires to improve beef production from dairy herds: Live and slaughter performances of crossbred calves. *Journal of Dairy Science*, *104*, 3210–3220.
4. Bodmer, M., Janett, F., Hässig, M., den Daas, N., Reichert, P., & Thun, R. (2005). Fertility in heifers and cows after low-dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology*, *64*, 1647–1655.
  5. Borchersen, S., & Peacock, M. (2009). Danish A.I. field data with sexed semen. *Theriogenology*, *71*(1), 59–63.
  6. Butler, S. T., Hutchinson, I. A., & Cromie, A. R. (2014). Preliminary results from a field trial to evaluate sexed semen in dairy cows and heifers. In *Proceedings of the Agricultural Research Forum* (p. 115). Lynn Printers.
  7. Camara Pirez, M., Steele, H., Reese, S., & Kölle, S. (2020). Bovine sperm–oviduct interactions are characterized by specific sperm behaviour, ultrastructure and tubal reactions which are impacted by sex sorting. *Scientific Reports*, *10*(1), 16522.
  8. Cerchiaro, I., Cassandro, M., Dal Zotto, R., Carnier, P., & Gallo, L. (2007). A field study on fertility and purity of sex-sorted cattle sperm. *Journal of Dairy Science*, *90*, 2538–2542.
  9. Chebel, R. C., Santos, J. E. P., Reynolds, J. P., Cerri, R. L. A., Juchem, S. O., & Overton, M. W. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, *84*, 239–255.
  10. Crowe, A. D., Lonergan, P., & Butler, S. T. (2021). Invited review: Use of assisted reproduction techniques to accelerate genetic gain and increase value of beef production in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, *104*(12), 12189–12206.
  11. DeJarnette, J. M., Nebel, R. L., & Marshall, C. E. (2009). Evaluating the success of sex-sorted semen in U.S. dairy herds from on-farm records. *Theriogenology*, *71*(1), 49–58.
  12. DeJarnette, J. M., McCleary, C. R., Leach, M. A., Moreno, J. F., Nebel, R. L., & Marshall, C. E. (2010). Effects of 2.1 and 3.5 × 10<sup>6</sup> sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *Journal of Dairy Science*, *93*(9), 4079–4085.
  13. DeJarnette, J. M., Leach, M. A., Nebel, R. L., Marshall, C. E., McCleary, C. R., & Moreno, J. F. (2011). Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? *Journal of Dairy Science*, *94*(7), 3477–3483.
  14. Domínguez, J. H., Costa, D. S., Centurion, V. J., & Faria, F. J. C. (2011). Pregnancy rate of Nelore females inseminated with male-sexed semen. *Animal Reproduction Science*, *129*, 127–131.
  15. Frijters, A. C. J., Mullaart, E., Roelofs, R. M. G., van Hoorne, R. P., Moreno, J. F., Moreno, O., & Merton, J. S. (2009). What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology*, *71*, 64–67.
  16. Funston, R. N., & Meyer, T. L. (2012). Evaluating conventional and sexed semen in a commercial beef heifer development program. *The Professional Animal Scientist*, *28*, 560–563.
  17. Hagiya, K., Hayasaka, K., Yamazaki, T., Shirai, T., Osawa, T., Terawaki, Y., Nagamine, Y., Masuda, Y., & Suzuki, M. (2017). Effects of heat stress on production, somatic cell score, and conception rate in Holsteins. *Animal Science Journal*, *88*(1), 3–10.
  18. Healy, A. A., House, J. K., & Thomson, P. C. (2013). Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, *96*, 1905–1914.
  19. Holden, S. A., & Butler, S. T. (2018). Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal*, *12*(1), 97–103.

20. Joezy-Shekalgorabi, S., Maghsoudi, A., & Mansourian, M. (2017). Reproductive performance of sexed versus conventional semen in Holstein heifers in various semiarid regions of Iran. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 666–672.
21. Karakaya, E., Yilmazbas-Mecitoglu, G. Ü., Keskin, A. B., Alkan, A., Tasdemir, U., Santos, J. E. P., & Gumen, A. (2014). Fertility in dairy cows after artificial insemination using sex-sorted sperm or conventional semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(2), 333–337.
22. Kumar, S., Magotra, A., Kumar, M., Dalal, D. S., & Kumari, S. (2024). Semen sexing and its impact on fertility and genetic gain in cattle. *Zygote*, 32, 109–118.
23. Kurykin, J., Hallap, T., Jalakas, M., Padrik, P., Kaart, T., Johannisson, A., & Jaakma, Ü. (2016). Effect of insemination-related factors on pregnancy rate using sexed semen in Holstein heifers. *Czech Journal of Animal Science*, 61(12), 568–577.
24. Maicas, C., Hutchinson, I. A., Kenneally, J., Grant, J., Cromie, A. R., Lonergan, P., & Butler, S. T. (2019). Fertility of fresh and frozen sex-sorted semen in dairy cows and heifers in seasonal-calving pasture-based herds. *Journal of Dairy Science*, 102, 10530–10542.
25. Mikkola, M., Desmet, K. L. J., Kommisrud, E., & Riegler, M. A. (2024). Recent advancements to increase success in assisted reproductive technologies in cattle. *Animal Reproduction*, 21(3), e20240031.
26. Mohammed, A. (2018). Artificial insemination and its economical significance in dairy cattle: A review. *International Journal of Research Studies in Microbiology and Biotechnology*, 4(1), 30–43.
27. Norman, H. D., Hutchison, J. L., & Miller, R. H. (2010). Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *Journal of Dairy Science*, 93, 3880–3890.
28. Oikawa, K., Yamazaki, T., Yamaguchi, S., Abe, H., Bai, H., Takahashi, M., & Kawahara, M. (2019). Effects of use of conventional and sexed semen on the conception rate in heifers: A comparison study. *Theriogenology*, 135, 33–37.
29. Patel, G. K., Haque, N., Madhavatar, M., Chaudhari, A. K., Patel, D. K., Bhalakiya, N., Jamnesha, N., Patel, P., & Kumar, R. (2017). Artificial insemination: A tool to improve livestock productivity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 307–313.
30. Rai, D. B., Tamang, N. B., & Koirala, A. N. (2019). Reproductive efficiencies of cows and heifers artificially inseminated with sex-sorted and conventional semen in Bhutan. *Bhutan Journal of Animal Science*, 3(1), 37–41.
31. Reese, S., Pirez, M. C., Steele, H., & Kölle, S. (2021). The reproductive success of bovine sperm after sex-sorting: A meta-analysis. *Scientific Reports*, 11(1), 17366.
32. Remnant, J. G., Green, M. J., Huxley, J. N., & Hudson, C. D. (2015). Variation in the interservice intervals of dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6502–6512.
33. Schenk, J. L., Cran, D. G., Everett, R. W., & Seidel, G. E., Jr. (2009). Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure, and sperm storage before sorting. *Theriogenology*, 71(5), 717–728.
34. Seidel, G. E., Jr. (2014). Update on sexed semen technology in cattle. *Animal*, 8(1), 160–164.
35. Sharma, N., Chand, D. K., Rawat, S., Sharma, M., & Verma, H. (2018). Effect of sexed semen on conception rate and sex ratio under field conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 702–705.
36. Silva, P. R. B., Dresch, A. R., Machado, K. S., Moraes, J. G. N., Lobeck-Luchterhand,

- K. M., Nishimura, T. K., Ferreira, M. A., Endres, M. I., & Chebel, R. C. (2014). Prepartum stocking density: Effects on metabolic, health, reproductive, and productive responses. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5521–5532.
37. Vishwanath, R., & Moreno, J. F. (2018). Semen sexing: Current state of the art with emphasis on bovine species. *Animal*, 12(1), 85–96.
38. Wiebke, M., Hensel, B., Nitsche-Melkus, E., Jung, M., & Schulze, M. (2022). Cooled storage of semen from livestock animals (Part I): Boar, bull, and stallion. *Animal Reproduction Science*, 246, 106822.
39. Xu, Z. Z. (2014). Application of liquid semen technology improves conception rate of sex-sorted semen in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 7298–7304.