

USO DE SEMEN SEXADO EN BOVINOS

JUAN DAVID ECHEVERRI ECHEVERRY

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PEREIRA
2015**

USO DE SEMEN SEXADO EN BOVINOS

JUAN DAVID ECHEVERRI ECHEVERRY

**Trabajo presentado como requisito para optar el título de
Médico Veterinario Zootecnista**

DIRECTOR:

Juan Carlos Echeverry López MVZ Esp. Reproducción Bovina

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PEREIRA, 2016**

Nota de aceptación

Presidente jurado

Jurado

Pereira, 15 de Enero de 2016

Tabla de contenido

	Pág.
1. Resumen	5
2. Introducción	6
3. Marco Teórico	7
3.1. ¿Qué es semen sexado?.....	7
3.2. Uso del semen sexado.....	8
3.3. Citometría de flujo.....	9
3.4. Diferencia entre semen sexado y semen convencional.....	11
4. Conclusiones	16
5. Bibliografía.	

1. RESUMEN

La ganadería es una de las producciones pecuarias más importantes de Latinoamérica, con el tiempo ha evolucionado el manejo de la misma, implementando así técnicas como la inseminación artificial, sincronización, transferencia de embriones y fertilización in vitro. Últimamente se desarrolló la forma de tener un porcentaje más alto de probabilidad de escoger el sexo a conveniencia del ganadero según la necesidad de la producción. La utilización de semen sexado es una alternativa de gran impacto con mayor interés en hatos lecheros, gracias a la citometría de flujo que permite separar los espermatozoides X de Y, teniendo el cromosoma X un 3.8 al 4% más de ADN y cuyo resultado es aproximadamente el 90% en cuanto a efectividad en el sexo deseado, esto hace que sea una de las elecciones a usar en el momento de la inseminación en latinoamérica.

Abstract

Cattle is one of the most important livestock production in Latin America has evolved over time handling it, thus implementing techniques such as artificial insemination , synchronization, embryo transfer and in vitro fertilization . Recently it developed a way to have a higher percentage of probability of choosing the sex of the livestock convenience as needed for production. The use of sexed semen is a high-impact alternative interest in dairy herds , by flow cytometry for separating the X of Y sperm , having chromosome X 3.8 to 4% more DNA and resulting in approximately 90% effectiveness as desired sex , this makes it one of the choices to use at the time of insemination in Latin America.

Palabras claves: Inseminación, Citometría de Flujo, Lechería, Sincronización, Biotecnología

2. INTRODUCCIÓN

Ante el creciente desarrollo de la biotecnología en el campo pecuario, nuevas técnicas se han creado para aumentar la producción y optimizar tanto su manejo como disminuir las variables que se presentan(1).

La ganadería lechera tiene un alto porcentaje en consumo de pajillas convencionales, teniendo en cuenta que el resultado es un 50% de hembras y un 50% de machos, lo cual no es lo más conveniente para la producción. En la lechería produce gran impacto debido a la necesidad de tener hembras con la calidad genética necesaria para una buena producción. Esto genera uno de los principales problemas con el semen convencional, el azar del sexo de la cría al nacer. Una de las prioridades en la ganadería es la producción de hembras para reemplazar por las hembras de descarte y las muertas que haya para así mantener la reposición del hato. Utilizando el semen sexado se da la oportunidad de controlar en un 90% el sexo de la cría (1,2).

La tecnología ha experimentado grandes mejoras, hasta un nivel que ahora está empezando a ser de interés para la aplicación comercial al menos en el bovino. Sin embargo, la salida de pajillas con semen sexado es aún limitada en comparación con pajillas de semen convencional, debido a que cada célula individual tiene que ser identificada y ordenada. En consecuencia, las estrategias para la inseminación difieren de la inseminación artificial (IA) normal y otras biotecnologías (2).

Se **recopiló** material bibliográfico proveniente de publicaciones científicas empleando el método descriptivo para la confección de un estudio de diseño no experimental. La metodología se llevó a cabo mediante la recolección selección y lectura de artículos científicos relacionados con el semen sexado en bovinos que se encuentran en la base de datos online seleccionadas (SciencieDirect, Scopus, Scielo, Pudmed, Google Académico).

3. MARCO TEORICO

3.1 ¿Qué es semen sexado?

La citometría de flujo es un método automatizado, multiparamétrico y cuantitativo que analiza las señales dispersadas y fluorescentes producidas por una célula al pasar por un haz de luz.

Es el resultado de un procedimiento (citometría de flujo) por el cual se selecciona el sexo de la cría, para que por medio de la inseminación artificial nazca preferiblemente hembra en la mayoría de los casos(1). El semen sexado contiene 90% de espermatozoides cuyos cromosomas son X (originarán las hembras). Esta selección se realiza utilizando la citometría de flujo, que separa los espermatozoides X e Y. Esta separación es posible ya que el cromosoma X contiene el 4% más de ADN que el Y (origina macho)(1).

El objetivo del semen sexado es aumentar la producción de hembras y posibilitar el crecimiento con genética probada, superior (semen) y propia (con sus vacas) del establecimiento(3).

Es una tecnología relativamente nueva que ha demostrado producir mayor proporción de hembras que el semen convencional(3). El uso de semen sexado toma atractivo debido a que las terneras son mucho más valiosas que los terneros en una empresa lechera. Sin embargo, las investigaciones también han demostrado que el uso de semen sexado disminuye las tasas de concepción entre el 70% y 80% frente al semen normal, además el semen sexado es de una tecnología notablemente más costosa (1–3).

En consecuencia la elección del semen sexado debe basarse en un cuidadoso análisis económico entre inversión adicional y los ingresos potenciales(3).

3.2 Uso de semen sexado en ganado bovino

Una de las demandas más grandes de la producción bovina en Latinoamérica actualmente, es la de poder controlar el sexo de la cría (3). En general, la producción bovina se ve favorecida con la producción de terneras y solo en contadas ocasiones son económicamente rentables los terneros (machos). Inicialmente el sexaje fue una técnica asociada a la producción de embriones, donde se realizaba biopsia del embrión, se usaba PCR de las células extraídas y de esta manera se decidía solo transferir las hembras, esta técnica no cumplió las expectativas debido a que la tasa de preñez después de la biopsia del embrión era significativamente menor y se prefería entonces transferir todos los embriones. La técnica del ultrasonido también permitió la determinación del sexo fetal (ya no del embrión) hacia los 60-70 días de gestación (3). Sin embargo una vez se detecta el macho, ya la gestación está avanzada y la inducción del aborto sería indeseable en términos económicos porque se incrementarían significativamente los días abiertos (1, 2).

Actualmente en los sistemas ganaderos se busca aumentar la productividad, mejorando el ambiente, las condiciones de manejo y el potencial genético de los animales, seleccionando caracteres no solo productivos si no reproductivos, ya que estos repercuten directamente sobre la eficiencia del hato (4).

Estudios realizados han comprobado que el semen sexado presenta una tasa de preñez mucho más baja, comparado con el semen convencional, debido entre otras causas a que la citometría de flujo puede generar daños en los espermatozoides (5, 6)

La citometría de flujo es uno de los métodos por el cual se puede sexar el semen separando espermatozoides en X e Y.

3.3 Citometría de flujo

En la última década se han realizado mejoras en los citómetros de flujo, principalmente en aspectos como la medición de la fluorescencia, tiempo operacional de la medición y disminución de la presión hidrodinámica, entre otros, para de tal forma poder disminuir el estrés y aumentar la concentración de células viables. En general los estudios reportados sobre el uso de esta tecnología para el sexaje de semen indican que se puede obtener con este semen una tasa de concepción inferior de 20 puntos porcentuales menos que el conseguido con semen convencional en novillas vírgenes (6). Esta menor fertilidad del semen sexado se ha atribuido principalmente a dos factores: 1) el estrés que genera el proceso de sexaje y 2) la baja dosis de espermatozoides por dosis de semen. El proceso de separación de espermatozoides por citometría de flujo puede generar cambios celulares, que afectan la membrana plasmática, limitando la viabilidad, capacidad de almacenamiento, fecundación y reducción de vida de la célula (7)

Citometría es un término genérico que se aplica a cualquier tecnología que se usa para la medición, recuento, comparación u otra caracterización de células. La citometría de flujo es una tecnología de rápido crecimiento y desarrollo que permite examinar muchas propiedades de un gran número de células en poco tiempo. Algunos autores definen a la citometría de flujo como una tecnología analítica que permite la medición simultánea de varias características de muestras biológicas. Se pueden realizar recuentos celulares, para separar células o para realizar análisis de marcadores bien sean de superficie o intracelulares (6).

La adaptación del tubo de inyección a forma de cuña y la inclusión de un segundo detector de luz eran necesarios para ganar mayor resolución para el análisis de las

células planas(6). Estas mejoras del citómetro de flujo fueron el requisito previo para detectar diferencias en el contenido de ADN de X e Y en los cromosomas de los espermatozoides, los espermatozoides fueron fijados en etanol para el análisis de citometría de flujo después de estar con el fluorocromo de 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) con el fin de lograr dos picos diferentes que representan X y poblaciones espermáticas Y, y cuantificar la diferencia en el contenido de ADN entre los espermatozoides de toro (3,8%), jabalí (3,7%), y de conejo (3,9%). Debido al proceso de etiquetado, los espermatozoides no tenían fertilización(6).

El proceso de clasificación con un citómetro de flujo estándar modificado fue relativamente lento y permitió la separación de alrededor de 55 cabezas de espermatozoides por segundo (8). En 1988 fue visto por primera vez pruebas en las cuales los espermatozoides citometricamente ordenados de animales domésticos fueron capaces de formar un pronúcleo después de la inyección de espermatozoides en un ovocito de hámster(8). El nacimiento de los primeros animales inseminados con los ahora espermatozoides ordenados viables fueron reportados en el mismo año 1988. En años posteriores inseminaciones quirúrgicas con espermatozoides sexados en el útero dan como resultado el nacimiento de crías con cambio significativo en la proporción de sexos. Entre 37 crías el sexo adecuado se observó en el 94% y el 81% de los animales después de la inseminación con los cromosomas X e Y que llevan los espermatozoides respectivamente.

Los espermatozoides clasificados con un citómetro de flujo requieren varias modificaciones técnicas de un aparato estándar para medir la diferencia de ADN en los espermatozoides X e Y. El citómetro de flujo debe estar equipado con un láser de argón refrigerado por agua (5W luz UV). Además ya en curso su señal se puede pulsar con el fin de minimizar los efectos negativos sobre la integridad del espermatozoide (9). Hasta 1996 los clasificadores de espermatozoides trabajaron como sistemas de "estándar de velocidad", donde las muestras se clasificaban con un máximo del 0,84 kg/cm² de la presión que da una tasa de tipo sobre 350.000

espermatozoides/hora. Nuevos clasificadores de células de alta velocidad como el MoFlo SX operan a presiones de muestreo de hasta 4,22 kg/cm², lo que permite identificar 30.000 espermatozoides /segundo, y la producción de hasta 15 millones de espermatozoides sexados de alta pureza por encima del 90% por hora(9). Una razón importante de este avance se debe a una boquilla de orientación modificada que mejora la clasificación del esperma por más de 70%. La boquilla se perfeccionó aún más incorporando una punta de la boquilla de cerámica orientar (Cytonozzle) con esto la clasificación de la población de esperma alcanza ahora el 85% (6).

Sin embargo el semen sexado es aún limitado pues no iguala el número de espermatozoides en la eyaculación completa debido a que cada célula debe ser identificada y ordenada, en consecuencia la técnica difiere de la inseminación artificial con semen convencional y de otras biotecnologías (10)(11). Los datos de campo indican que la fecundidad sigue siendo muy variable y depende de efectos del toro, que no son necesariamente debido al sexaje, pero puede estar relacionado con efectos de alta dilución y reducción (11).

El porcentaje de daño espermático encontrado en los espermatozoides sexados mediante citometría de flujo puede ser el doble o hasta el triple que los detectados mediante microscopía de fluorescencia en los espermatozoides criopreservados de la forma tradicional (12)(8).

3.4 Diferencia entre semen convencional y semen sexado

El semen sexado presenta un porcentaje (87.2%) mucho más alto de nacimiento de terneras comparado con el semen convencional (46.7%), pero los estudios han demostrado que el semen sexado tiene una tasa de concepción más baja que el semen convencional(13). En cuanto a precio comercial, el promedio de una pajilla convencional tiene un costo base de **\$30.000** pesos colombianos y una pajilla de semen sexado tiene un costo base alrededor de **\$90.000** pesos colombianos(13)(14).

Se ha demostrado que el semen sexado tiene bajo porcentaje de concepción tanto con celo natural como con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), por eso se recomienda ser usado en novillas con buena condición corporal y celo natural (14).

Un estudio en Finlandia, evaluó los resultados de ET en novillas y vacas Holstein, se utilizaron dosis de 2 millones de espermatozoides sexados inseminando cada 12 horas por 2 - 4 veces. En este estudio se encontró que en las novillas no había diferencias significativas en el número o calidad de los embriones obtenidos, pero en las vacas si hubo una reducción sustancial (de alrededor de un 50%) en el número de estructuras fertilizadas. El estudio también se comparó si las tasas de producción de embriones mejoraban si el semen se depositaba en la punta del cuerno de cada lado o si se depositaba todo el semen en el cuerpo del útero, sin (3)(15) encontrar diferencias significativas.

Un punto muy importante en el semen sexado es la facilidad de parto. Su uso en novillas y el hecho que origine hembras disminuye la dificultad de parto, además se pueden seleccionar toros con facilidad de parto, que garanticen la mayor generación de terneras vivas.(13)(16)(17).

Parte de la variación observada en la fertilidad en el campo empleando IA con semen sexado parece estar relacionada con la variabilidad de los toros (4). Informes recientes han subrayado que la fragmentación del ADN es altamente variable entre los sementales tras el proceso de selección, mediante la actual tecnología de citometría de flujo. Por tanto, la diferente resistencia a los procesos de selección encontrada en el semen de distintos toros, puede explicar al menos, parte de la gran variación en los resultados de concepción en el campo descrito y publicado en la literatura .(4)(2)(18).

Las investigaciones han mostrado que la cantidad de espermatozoides corresponde a una porción de la fertilidad (19). Esta relación entre los resultados de preñez y el número de espermatozoides vivos y progresivamente móviles después de la descongelación se encuentra en la tabla 2 (9)(20).

Después de descongelar a la temperatura recomendada de (35 a 37 °C) y mantener una temperatura consistente después de la descongelación, el número de espermatozoides progresivamente móviles disminuye con el tiempo(10,21).

Tabla 2.

Sardoy MC, Anderson DE, George A, Wilkerson MJ, Skinner S, Ferrer MS. 2012.

Numero de espermatozoides progresivamente móviles en el sexaje del semen		
Tasa de empacado	Después de la congelación	15 min. después
2.1 M	0.97 M	0.68 M

(M) Millones

Existen diferencias fundamentales entre el semen sexado y el semen convencional. El proceso de clasificación descarta las células desconocidas y células que no son

del sexo deseado (22). Debido a este proceso, existen menos espermatozoides vivos disponibles para ser incluidos en cada pajilla en comparación con el semen convencional. La menor concentración de espermatozoides puede afectar la fertilidad del semen. El proceso de selección también puede comprometer la habilidad de los espermatozoides de preñar a los animales (23). En datos recientes, los hatos de novillas Holstein que reportaron 50 servicios con semen sexado y con semen convencional, obtuvieron una tasa de concepción promedio de 45% para semen sexado (con un rango de 27 a 70%), comparada con una tasa promedio de concepción para semen convencional de 56% (rango de 34 a 83%) (24)(25)(26).

El uso de semen sexado en novillas presenta una alta tasa de fertilidad, algunas razas dan mejores resultados con el semen sexado como son Jersey y Holstein (27).

Existen diversas variables de las cuales depende el éxito del uso de semen sexado. Entre las más importantes se encuentra la tasa de concepción (28). En el análisis realizado en cuanto a las tasas de concepción del semen convencional y del semen sexado se espera que estas sean altas (70% y 50%, respectivamente), vale la pena utilizar semen sexado en el 1 servicio. En este caso el uso de semen sexado traerá un ingreso adicional.

Cuando la tasa de concepción del semen convencional es baja (40%) y la del semen sexado es alta(20). Cuando se espera que la tasa de concepción del semen sexado sea baja (50% del convencional), no valdría la pena usar semen sexado (29). Las desventajas que presenta el semen sexado, son críticas y condicionantes en el sistema ganadero y obligan a realizar manejos que permitan que los 20 puntos porcentuales de disminución de la tasa de concepción en comparación al semen convencional, no generen grandes pérdidas económicas (30). Los estudios con respecto a la tasa de concepción demuestran que los manejos ganaderos asociados a una adecuada detección de celo e inseminación artificial, junto al uso de este

recurso solo en novillas en el primer servicio, puede mejorar la baja fertilidad obtenida con esta tecnología.

4. CONCLUSIONES

Cuando la tasa de concepción (TC) del semen convencional y del semen sexado se esperan que sean altas (70% y 52.5%, respectivamente) vale la pena utilizar semen sexado en el primer servicio. A pesar de que se ha avanzado mucho en el proceso, todavía las tasas de preñez son bajas en vacas y por consiguiente su uso se restringe principalmente a novillas fértiles

Las ventajas de usar semen sexado van a depender en gran medida en las características particulares y condiciones de mercado de cada lechería, por lo cual es indispensable un análisis individual a nivel de cada producción.

El semen sexado no es viable para todos los toros y por ende no se encuentra disponible semen sexado de todos los toros de los diferentes catálogos. A pesar de que el aumento de la dosis espermática puede ser un factor que incrementa la tasa de concepción al utilizar semen sexado, parece ser que un factor inherente al proceso de sexaje por citometría de flujo es el que genera una baja en los índices de fertilidad en comparación al semen convencional. Sin embargo, las oportunidades para incrementar la eficiencia del producto están en la optimización de la tecnología y en la continua selección de toros cuyos eyaculados respondan mejor al proceso de sexado.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Osés M V., Teruel MT, Cabodevila J a. Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización in vitro. *Rev Vet.* 2009;20(2):138–45.
2. Argentino S, Souza A, Advisor D, Sa C. USO DE SEMEN SEXADO EN EXPLOTACIONES DE. 2013;1–4.
3. Suarez R, Coral A. Técnicas de congelación y sexado del semen bovino y su importancia en reproducción. *MVZ Cordoba* [Internet]. 2012;12(23):12–4. Available from: <http://open.mendeley.com/library/document/4989337562>
4. Relación entre celo – inseminación con semen sexado y porcentaje de preñez en vaquillonas Holstein. 2011;50–2.
5. Lima VFMH De. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozoides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. *Rev Bras Zootec.* 2007;36:219–28.
6. Laguado J. Aplicaciones de la Citometría de Flujo en Microbiología y Veterinaria y Agricultura. *RevMVZ Córdoba.* 2007;vol. 12(2):1077–95.
7. Carvalho JDO, Sartori R, Lemes AP, Mourão GB. após sexagem por citometria de fl uxo. 2009;(1):1346–51.
8. A AS, V SE, A CC, H AVB, G JR, G RS. Evaluación de la integridad de ADN mediante citometria de flujo En Espermatozoides De Alpaca Criopreservados. 2012;23(2):182–91.
9. Sexation ABS. Lograr la máxima fertilidad del semen sexado. 2012;7.
10. Klinc P, Rath D. Application of flowcytometrically sexed spermatozoa in different farm animal species: a review. *Reproduction.* 2006;49:41–54.
11. Kouznetsov V V. Retos y perspectivas de la biología química, una exitosa área

multidisciplinaria de ciencias exactas y naturales. 2012;34(96).

12. Lu Y, Zhang M, Lu S, Xu D, Huang W, Meng B, et al. Sex-preselected buffalo (*Bubalus bubalis*) calves derived from artificial insemination with sexed sperm. *Anim Reprod Sci* [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;119(3-4):169–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20137870>
13. Cabrera V. Semen Sexado: grandes ganancias en vaquillas bien manejadas. 2009;1–4.
14. Sexado S, Herramienta UN a, Para T, Tambo EL. Semen sexado, una herramienta tecnológica para el tambo. 2007;15(188):2–6.
15. Brasil N. ANÁLISE MARGINAL DOS CUSTOS DA UTILIZAÇÃO DE SÊMEN. 2012;
16. Sexado S, Técnica UN a, Llegó QUE. Semen sexado, una técnica que llegó para quedarse. 2008;16(197):16–7.
17. Madariaga G. SEMEN SEXADO Su impacto en la producción animal. 2007;
18. Rates P, Of S, Insemination A, Crossbred IN, Norman F, Cows XC. PORCENTAJES DE PREÑEZ Y HORARIOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN VACAS CRIOLLAS X NORMANDO EN EL MUNICIPIO DE CIÉNEGA , BOYACÁ PREGNANCY RATES AND SCHEDULES OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN CROSSBRED OF FEMALES NORMAN X CREOLE COWS IN CIÉNEGA MUNICIPALITY 2013. 3(2):19–27.
19. Marty H. Proceso de sexaje de semen. 2010.
20. Sardoy MC, Anderson DE, George a, Wilkerson MJ, Skinner S, Ferrer MS. Standardization of a method to detect bovine sperm-bound antisperm antibodies by flow cytometry. *Theriogenology* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012;78(7):1570–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3444527&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

21. Campanile G, Vecchio D, Neglia G, Bella A, Prandi A, Senatore EM, et al. Effect of season, late embryonic mortality and progesterone production on pregnancy rates in pluriparous buffaloes (*Bubalus bubalis*) after artificial insemination with sexed semen. *Theriogenology* [Internet]. Elsevier Inc; 2013;79(4):653–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.020>
22. Spitzley C. C.Spitzley, Datos sobre el Semen ABS SEXATION TM, el proceso de sexaje del semen. 2011;
23. Henrique H, Neves DR, Carvalheiro R, Fries LA. Revista Brasileira de Zootecnia Uso combinado de sêmen sexado e acasalamento dirigido sobre uma população de bovinos de corte submetida a seleção: estudo de simulação Combined use of assortative mating and sexed semen in a simulated beef cattle populatio. 2009;3598.
24. De L, Dalton JC. Maneje el Semen Sexado con Cuidado. 2010;
25. Colombianas G, El P, La YTDE, Arterial H. Revista Colombiana De. Rev Colomb Cardiol. 2007;186–317.
26. Olynk NJ, Wolf CA. Expected Net Present Value of Pure and Mixed Sexed Semen Artificial Insemination Strategies in Dairy Heifers. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2007;90(5):2569–76. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207717551>
27. Norman HD, Hutchison JL, Miller RH. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2010;93(8):3880–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20655457>
28. Felipe ignacio jaramillo ojeda valdivia – chile 2012. 2012;
29. Galli A, Balduzzi D. Fertility of sexed bovine semen. 2009;(2008).
30. Microsoft Word - Gender selected semen NCBA - John Hall. 2011;1–8.

Available from: <papers3://publication/uuid/E0C0907B-6AFB-4663-B88E-AB50C1AB4EE5>