

Semen sexado: alta producción y rendimiento económico



Dr. Miguel Germán Rivera Gaona
MVZ, Especialista en reproducción

La predeterminación del sexo en bovinos es uno de los objetivos afanosamente buscado por los investigadores en reproducción asistida y su aplicación comercial en la producción y productividad de las explotaciones ganaderas, ya sea mediante *Inseminación Artificial* o en *Fertilización In Vitro*.

El objetivo es conseguir el mayor número de nacimientos de hembras para la producción de leche, de machos en la explotación de carne, o la producción de reproductores de reemplazo en ganaderías puras.

Para la industria lechera, la tecnología del *semen sexado* aumenta la posibilidad de tener una hembra de un 50% con semen convencional, a un 90% cuando se utiliza *semen sexado*. Aumentar el número de becerras nacidas en la lechería, le permite al productor tener una expansión rápida de su hato. El *semen sexado* ha ganado cada día más espacio hasta el punto de convertirse en un proceso indispensable para los que desean obtener una alta producción y rendimiento económico.

A pesar de los grandes avances técnicos alcanzados, el porcentaje de

animales preñados es menor con *semen sexado*, que con *semen convencional*. La fertilidad en ganado vacuno puede estar condicionada por diversos factores, cuando utilizamos *semen sexado*. A su vez, el menor número de espermatozoides de la dosis y la fertilidad asociada a un toro determinado, pueden reducir las tasas de concepción de la explotación.

El *proceso de sexaje* induce daños en el esperma, debido a la exposición al láser, la alta velocidad dentro del tubo colector, los cambios eléctricos y la temperatura ambiente antes de iniciar

En la Enfermedad Respiratoria tenemos mucho que aportar..



Efectiva cura clínica

Rápido retorno a la productividad

Tranquilidad y confianza



agv salud animal

el proceso. Considerando que el *semen* es sometido a una gran variedad de condiciones adversas, es necesario efectuar una evaluación estructural y funcional de estos daños durante el proceso de sexaje, la cual se efectúa por el sistema *Casa*.

Análisis de motilidad

El análisis de la *motilidad* es una de las características más importantes del *semen* para el mantenimiento de la fertilidad, por lo que su evaluación tanto subjetiva como por análisis computarizado es esencial en cualquier valoración espermática. *Carvalho 2009* encontró una baja velocidad, frecuencia y motilidad lineal, lo cual puede deberse a la exposición al láser, el colorante o los cambios eléctricos. Además de la *motilidad*, se han evaluado otros factores como los cambios en el ADN. Varios estudios han demostrado que el *sexado* no afecta la integridad del ADN espermático debido a la alta cantidad de protamina (*histona*) presente en el *semen* bovino.

Por lo general, los cambios en los protocolos *FIV*, así como la preparación del esperma y el tiempo de incubación entre el esperma y el ovocito, se han utilizado para incrementar el porcentaje de blastocistos cuando se usa *semen sexado*. Sin embargo, la tasa reducida de fertilidad después de la *IA* o tendencias entre las condiciones necesarias para la fertilización, se constituye en un problema para el empleo de *semen sexado in vivo*. Los resultados asociados a las diferencias entre las condiciones necesarias para fertilización, sugiere que el proceso de *sexado* compromete los parámetros que, aunque no son importantes en la fertilización *in vitro*, pueden ser esenciales para la fertilización *in vivo*.

De otra parte, el tiempo de supervivencia en el tracto reproductivo puede ser lo más notable, ya que el esperma permanece viable después de las 30 horas de la descongelación. En un estudio, *Carvalho 2013* mostró que el proceso de *sexado* tiene un efecto negativo sobre la *motilidad*, potencial

de la membrana mitocondrial y la integridad de la membrana plasmática y acrosomal

Algunos estudios han documentado que el desarrollo del *embrión* se ve comprometido después de la *IA* con *semen sexado*, los que tienden a sustentar esta hipótesis.

El proceso de separación celular lesiona el esperma física y fisiológicamente, lo cual compromete la fertilidad resultante, en comparación con *semen* procesado convencionalmente, cuando se emplea en *IA* e *IVF*.

Citometría de flujo

En la actualidad para el *sexado* de espermatozoides se emplea principalmente la técnica de *citometría de flujo*. Esta técnica se basa en las características propias del ADN espermático y su contenido en los cromosomas. La cadena cromosómica "X" de la hembra, tiene 3.8% más ADN que la cadena "Y" del macho en bovinos, siendo por consiguiente más grande.

Es el espermatozoide el que siempre determinará el sexo de una cría. El caso es que el espermatozoide puede contener o un cromosoma "X" o uno "Y"; por su parte el óvulo siempre poseerá un cromosoma "X". Por tanto, para que se produzca una hembra (XX), un espermatozoide "X" debe fertilizar el óvulo. Por el contrario, si fuera un espermatozoide con cromosoma "Y" el que lo fertiliza, se producirá un macho (XY). La mitad de los espermatozoides en un eyaculado portan el cromosoma X y la otra mitad el cromosoma Y, por lo tanto en un lote de vacas los nacimientos de crías machos o hembras se distribuye en un 50% de cada sexo.

Esa diferencia hace que las células espermáticas puedan ser separadas de manera que haya predominio de hembras o machos, para ser empleadas en *IA*, *TE* o *FIV*.

La calidad y concentración espermática de los eyaculados son quizás los factores más importantes para obtener una buena separación de las dos poblaciones espermáticas. Así lo

demuestran resultados que indican una alta correlación entre la motilidad espermática, la concentración y la separación de las poblaciones en un citómetro de flujo de alta velocidad. Por ende, la separación de espermatozoides X y Y, se lleva a cabo normalmente en eyaculados con más del 50% de espermatozoides con motilidad progresiva y 75% de espermatozoides normales.

Consiste en la incubación del *semen* con un colorante (*Hoechst 33342*), que se adhiere al ADN del espermatozoide produciendo diferentes longitudes de onda, las cuales emiten fluorescencia cuando son sometidos a una luz láser ultravioleta. Como el espermatozoide "X" contiene más ADN, este atrapa más colorante, por lo que es más brillante.

Para poder detectar la diferente fluorescencia y separar los deseados, se utiliza un citómetro de flujo. El mismo consiste en un circuito cerrado de alta velocidad de flujo de líquidos que permite alinear y "leer" los espermatozoides de manera individual en microgotas.

Una vez que el *semen* entra en el *citómetro*, es succionado por una bomba de vacío y registrado por diferentes lentes que le dan orientación, previa marcación de las células por el colorante.

- Un cristal piezoeléctrico ondula y quiebra la corriente en gotículas -90,000/segundo.
- Un rayo láser proyecta luz azul sobre los espermatozoides con una longitud de onda específica, de acuerdo al contenido de ADN de la célula.
- Los espermatozoides "X" poseen una fluorescencia 4% mayor que la intensidad de los "Y".
- La computadora procesa la fluorescencia detectada y categoriza los espermatozoides como "X", "Y" o dudosos.
- Se aplica una carga negativa, positiva o ninguna, a las gotículas.
- Las gotículas cargadas son desviadas cuando pasan frente a placas cargadas continuamente. Las de

PAISAGRO

¡ Un gran equipo al servicio del campo !



20 años sirviendo al campo colombiano



**Instrumental
veterinario**

**Maquinaria
agrícola**

Productos veterinarios



Sales y minerales



**Semillas de pasto
y hortalizas**

Bogotá

(601) 2124715

Avenida Cra 30 No 70 – 58



Pereira

(606) 3236030

KM 7 vía Pereira – Cerritos

www.paisagro.com.co

- carga positiva son atraídas al lado negativo y las de carga negativa lo son al lado positivo.
- Los espermatozoides seleccionados son recogidos en tres recipientes.
- Conjuntamente se adiciona otro colorante, el Yoduro de Propidio (PI) que permite identificar los espermatozoides muertos o dañados y separarlos sin carga eléctrica de los espermatozoides sexados viables, en un recipiente independiente.

Del total de muestra obtenida en el eyaculado inicial, aproximadamente 20% de los espermatozoides es colectado en la fracción X, 20% en la fracción Y, mientras que el 60% restante lo constituyen espermatozoides que no pudieron ser detectados por la técnica. La dosis de *semen sexado* contiene en promedio un 90% de espermatozoides del sexo deseado, además de no contener espermatozoides muertos o dañados, pues son separados durante el proceso de sexado.

Una vez separados los espermatozoides, el *semen fresco* debe utilizarse dentro de las 24 horas siguientes, o

son congelados para su utilización posterior.

La diferencia de esta técnica de *citometría de flujo* con otras técnicas radica en:

- Excelente velocidad (*miles de células por segundo, contra el conteo manual*)
- Excelente precisión
- Inocuidad con las células sometidas o con materiales biológicos (*la viabilidad celular no cambia, ni su función*) al ser procesadas por la máquina
- Posibilidad de tomar varios parámetros o medidas de una célula al mismo tiempo

Las características del semen luego del sexado deben estar entre:

- Motilidad progresiva superior al 45%
- Acrosomas intactos a las 3 horas de incubación del 50%
- Recuento de espermatozoides por pajilla 3×10^6
- Menos de 25% de colonias de bacterias por muestra
- Mínimo 87% de selección de sexo

Puesto que por el porcentaje aleatorio de género en pajillas convencionales, se espera un 50% de pérdidas,

estas dosis contienen entre 2.5 a 3 millones de espermatozoides por pajilla. Las casas productoras de genética superior aconsejan usar el *semen sexado* en novillas o vacas superovuladas y/o FIV, para las cuales producen pajillas con concentraciones más altas (5 millones), con buenos resultados de fertilización.

La fertilidad en el ganado bovino está condicionada por diversos factores cuando se utiliza *semen sexado*, ya que tiene un tiempo de supervivencia menor en el útero que las dosis convencionales, alterando el intervalo óptimo para inseminar el animal en relación con el momento de la ovulación. A su vez, el menor número de espermatozoides de la dosis y la fertilidad asociada a un toro determinado, hace que se reduzca la tasa de concepción de la explotación. En consecuencia, si se tienen en cuenta algunas variables como la expresión o no del celo, el momento de la inseminación adaptado al menor período de vida del *semen sexado* y el porcentaje de preñez obtenido, se está más cerca de utilizar más ampliamente y de manera programada, el *semen sexado*. 6

