

Artículo de revisión

USO DE SEMEN SEXADO “X” EN PROGRAMAS DE REPRODUCCIÓN DE GANADO LECHERO

Use of sex-sorted sperm for reproductive programs in dairy cattle

E. A. Mellisho

Laboratorio de Biotecnología Reproductiva, Facultad de Zootecnia,

Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú

E-mail: emellisho@lamolina.edu.pe

INTRODUCTION

Desde tiempos antiguos los criadores de ganado lechero en el mundo han deseado conocer un método para predecir el sexo de las futuras crías en el rebaño. Esto es aún más importante cuando vemos el valor comercial de las hembras de reemplazo versus el valor de los machos. Asimismo, con la difusión de la inseminación artificial muy pocos machos 1 a 2% de los nacidos anualmente son utilizados como reproductores en centrales de inseminación o monta dirigida, lo cual reduce las ingresos económicos en el hato y no permite aplicar la selección genética-fenotípica en hembras de reemplazo.

Se han experimentado diversos métodos para separar espermatozoides X e Y, para así obtener mayor proporción crías con el sexo deseado. El método que permite lograr la más alta precisión de 85 a 95%, es utilizando un equipo de flujo citométrico (Seidel *et al.*, 1999). Esta técnica fue desarrollada por el Dr. Johnson en el USDA Betsville Agricultural Research Center y esta patentada y licenciada exclusivamente a nivel mundial para mamíferos no-humanos por la

compañía privada XY, Inc (Johnson, 1992; Welch and Johnson, 1999). El Proceso de sexado se basa en el contenido de ADN, siendo el espermatozoide X con 3,8% más ADN que el esperma Y (Johnson and Welch, 1999).

Sin embargo, Existen varias razones importantes por la cual en la práctica el uso de semen sexado ha sido limitado. Una de las primordiales, es la reducida tasa de preñez (ver tabla 1). La cual se debe a que el procedimiento de sexado reduce marcadamente la viabilidad espermática comparada al semen procesado normalmente. El proceso de sexado espermático utilizando el equipo de flujo citométrico permite sexar y recuperar solo el 30 a 40% del esperma que pasa a través del seleccionador a una velocidad aproximada de 100 km/h. Por consiguiente, a una tasa de 20,000 espermatozoides totales/seg, se pueden seleccionar casi 4,000 espermatozoides vivos/seg. de cada sexo, simultáneamente. El sistema actual puede producir aproximadamente 10 a 13 millones de espermatozoides vivos/hora de cada sexo con una precisión de 85 - 90% (Schenk *et al.*, 1999).

El uso comercial de semen sexado solamente es posible con un número muy bajo de espermatozoides por pajilla (aprox. 2 millones), ya que el proceso es extremadamente lento e ineficaz. Además, considerando el alto costo del equipo de flujo citométrico (aproximadamente US \$250,000) y la intensa cantidad de trabajo de especialistas, hace que el semen sexado comercial sea costoso.

Wheeler *et al.*, (2006) afirman que la fecundación in vitro (IVF) hace posible incrementar la eficiencia del uso de semen sexado. En bovinos, una población espermática de 1500 a 2250 espermatozoides son suficientes para fecundar un ovocito (Lu y Seidel, 2004).

Principios básicos del sexado de semen

La selección de sexo se basa en la diferencia de 3.6 a 4.0% en los núcleos de ADN de espermatozoides X e Y en toros. Estas diferencias varían por razas 4.22% en Jersey, 4.07% Angus, 4.01% en Holstein, 3.98% en Hereford y 3.7% en Brahman (Garner, 2006) y se basa en la diferencia del tamaños de los cromosomas X e Y (ver figura 1)

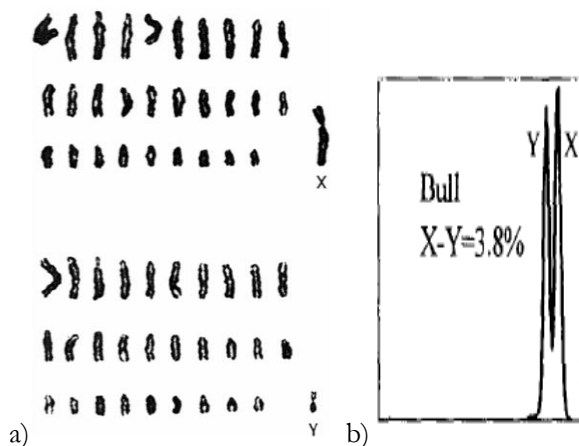


Figura 1: a) Cariotipo de cromosomas de espermatozoide X e Y de toro (Hamano, 2007) y b) Histograma de flujo de citometría aplicada a espermatozoides de toro inherente al contenido de ADN (Johnson y Welch, 1999).

El desarrollo de esta tecnología se inició en 1910, reportándose la existencia de cromosomas y los primeros intentos para la preselección de sexo fue centrifugando el semen en 1925, sin mucho éxito (Kiddy and Hafs, 1971). Con la aparición de la citometría de flujo en 1967 y tinciones fluorescentes se informó de las diferencias asimétricas de espermatozoides, correspondiendo a diferencias de contenido de ADN entre los espermatozoides X e Y (Dean *et al.*, 1978). El uso de colorante Hoechst 33342 altamente permeable la membrana de espermatozoides vivos por incubación, fue la llave para seleccionar espermatozoides viables. El avance de la tecnología hizo más eficiente el proceso logrando un avance logarítmico de selección de 350,000 espermatozoides por hora a 75 -100 millones por hora y una pureza de 90% de espermatozoides X ó Y (Johnson and Welch, 1999). Las primeras crías bovinas con sexo predeterminado del producto de selección espermática comercial en pajilla 0.5ml con motilidad 30% e integridad de acrosoma de 40% y una concentración de 2 millones de espermatozoide fue reportado en 1996 por Jhonson *et al.*

El proceso de selección de espermatozoide X e Y tiene las siguientes etapas; interacción por 45 minutos del ADN con fluorocromo en incubación a 34.5° C, exposición a luz láser, separación de espermatozoides en microgotas (diluido 1000 a 1500 veces), paso acelerado a 90km/h de los espermatozoides individuales en líquido a presión y finalmente la centrifugación para concentrar antes del empajillado y congelado (Lu and Seidel, 2004), todo este proceso puede provocar daños que pueden alterar estructuralmente a los espermatozoides incluyendo pre-capacitación, reducción de la viabilidad y termoresistencia (Schenk *et al.*, 2009). Sin embargo, los resultados de inseminación artificial en las dos últimas décadas, nos indican que no afecta la tasa de preñez en vaquillas (Seidel y Schenk, 2008).

Basado en muchos estudios realizados desde 1998, la aplicación comercial se anticipó en el uso de 2,1 millones de espermatozoides seleccionados a un

sexo, siendo generalmente recomendado para vaquillas Holstein, lo cual permitía mantener la fertilidad entre 75 a 80% a la lograda con semen convencional con dosis de 15 millones (DeJarnette *et al.*, 2011). Asimismo, en trabajos realizados con una dosis de 3.5 a 5.0 millones de espermatozoides seleccionados a un sexo, la tasa de preñez no compensaba el valor de la dosis seminal (DeJarnette *et al.*, 2010).

Inseminación artificial con semen sexado

Las dosis de semen comercial está establecida en un numero de espermatozoides de 2.1 millones de espermatozoides seleccionados a un sexo, siendo mucho menos que las pajillas convencionales (>15millones/dosis) (DeJarnette *et al.*, 2011). Sin embargo, existen muchos trabajos utilizando entre 2 a 10 millones de espermatozoides sexados “X” que han reportado varias tasas de preñez en vaquillas (ver tabla 1).

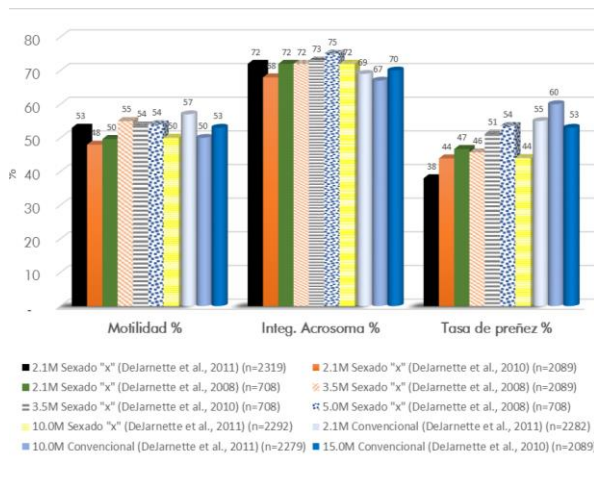


Figura 2: Calidad de espermatozoides sexados y tasa de preñez de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado “X” a diferentes número de espermatozoide por dosis dentro de las 8 a 12 horas de iniciado el celo.

La calidad de las dosis espermáticas luego del proceso de semen sexado “X” fue muy similar en los tres trabajos que hacemos mención en la figura 2. Sin embargo, vemos que hay diferencias

numéricas (38 hasta 47%) en la tasa de preñez obtenida a la inseminación con 2.1 millones de espermatozoides preseleccionado “X”, lo cual se debe, según sostiene DeJarnette et al. (2011) a la interacción de diversos factores tales como condiciones de manejo del hato, numero de servicio y efecto toro.

Actualmente existen muchos reportes que indica que el toro afecta la fertilidad en ganado lechero y sus valores fenotípicos (inseminaciones) y genéticos (PTA) lo demuestran. En abril de 2014, el Laboratorio del Programa de Mejoramiento de USDA (Animal Improvement Programs Laboratory-AIPL) reportó la evaluación de servicios de 1,531 toros Holstein de centrales de inseminación, los cuales tenían SCR (tasa de concepción de toros) promedio de+0.42, sin embargo, el límite máximo fue +14.2 correspondiendo al toro 099HO06145 en 4,442 inseminaciones y mínimo (-10.4) corresponde al toro 054HO0588 en 1,188 inseminaciones. En cuanto a valores de habilidad genética transmisible de fertilidad correspondiente a tasa de preñez de hijas (PTA-DPR) para abril de 2014, el promedio fue +1.03 para 1,276 toros Holstein evaluados, siendo el límite máximo de +4.1 (506HO0024) y el mínimo -1.9 (29HO1406) (AIPL, 2014). Estos datos soportan que el factor toro uno de los más importantes a tener en cuenta al momento de elegir el toro para mantener una adecuada fertilidad en el hato. Tal como lo demuestra DeJarnette et al. (2008) en la figura 3, en la cual se muestra que el toro B y C tienen una tasa de preñez menor y diferente estadísticamente al toro A, a pesar que se inseminó a las vaquillas con 5 millones de espermatozoides sexados “X” por dosis.

En vacas, el efecto toro aparentemente puede no es tan importante, sin embargo las tasas de preñez son inferiores a las que se reporta en vaquillas. DeJarnette et al. (2008) analizando 2,369 servicios con semen sexado “X” en vacas post parto con 86 días en lactancia (DEL) y promedio de 1.9 partos, encontró que no hubo efecto de en la tasa de preñez de los factores que condicionan el manejo del hato, numero de servicio, numero de parto y

efecto toro (figura 4). La tasa de preñez general para vacas de primer parto (30.4%), segundo parto (31.1%) y tercer parto (25.6%) no fue diferente estadísticamente ($p>0.1$).

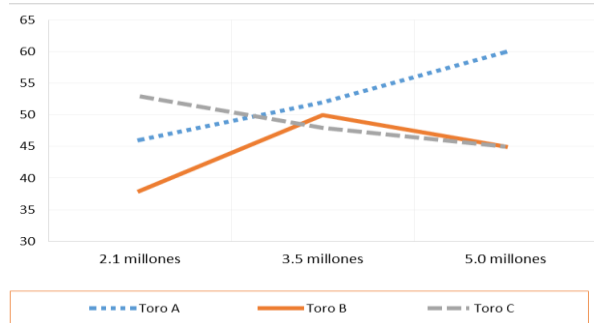


Figura 3: Efecto toro en la tasa de preñez de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado "X" a diferentes número de espermatozoide por dosis dentro de las 8 a 12 horas de iniciado el celo (Dejarnette *et al.*, 2008)

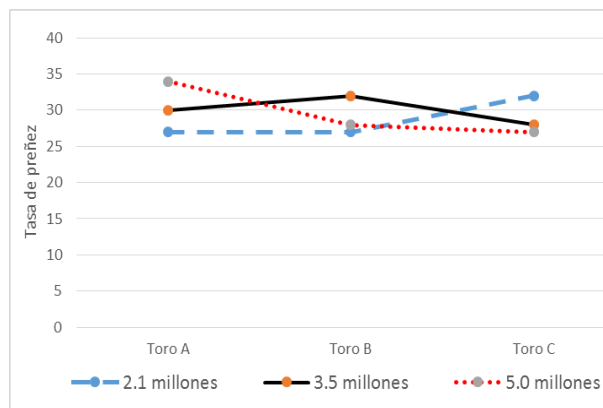


Figura 4. Efecto toro en la tasa de preñez de vacas de 1 a 3 partos inseminadas con semen sexado "X" a diferentes número de espermatozoide por dosis dentro de las 8 a 12 horas de iniciado el celo (Dejarnette *et al.*, 2008)

En la tabla 1 se muestran un resumen de varios trabajos de investigación que han realizado inseminación artificial con uso de semen sexado "X" en diferentes condiciones de manejo, alimentación, sanidad, toro, estado fisiológico, animales, etc y los resultados muestran que es posible la aplicación en vacas y vaquillas y que la proporción de crías hembras nacidas es superior a

85% versus al 49% de hembras nacidas con semen convencional.

Tabla 1. Tasa de preñez de vacas y vaquillas inseminadas con semen preseleccionado "x" y convencional en Holstein y Jersey

Investigador	Raza	Esperm /dosis	Celo - IA	n	Tasa preñez	Hembras nacidas
SEMEN SEXADO "X" VAQUILLAS						
Borchersen y Peacock, 2009	y HO	2.0 x 10 ⁶	nn	554	49.3%	88.6%
Borchersen y Peacock, 2009	y JE	2.0 x 10 ⁶	nn	504	46.6%	93.3%
Villanueva y Mellisho, 2011	y HO	2.0 x 10 ⁶	nn	106	42.7%	93.5%
Dejarnette et al., 2009	HO	2.1 x 10 ⁶	nn	48200	45.0%	89.0%
Dejarnette et al., 2009	JE	2.1 x 10 ⁶	nn	3110	50.0%	89.0%
Dejarnette et al., 2008	HO	2.1 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	708	46.7%	
Dejarnette et al., 2011	HO	2.1 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	2319	38.0%	
Kurykin et al., 2007	HO	2.2 x 10 ⁶	80 a 82h 2da dosis de PGF2a	91	41.8%	93.2%
Kurykin et al., 2007	HO	2.2 x 10 ⁶	80 a 82h 2da dosis de PGF2a	57	49.1%	93.2%
Kurykin et al., 2007	HO	2.2 x 10 ⁶	80 a 82h 2da dosis de PGF2a	61	39.3%	93.2%
Dejarnette et al., 2008	HO	3.5 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	708	51.2%	
Dejarnette et al., 2008	HO	5.0 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	708	50.2%	
Dejarnette et al., 2011	HO	10 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	2279	44.0%	
SEMEN SEXADO "X" VACAS 1 A 3 PARTOS						
Dejarnette et al., 2009	HO	2.1 x 10 ⁶	nn	2298	27.0%	89.0%
Dejarnette et al., 2009	JE	2.1 x 10 ⁶	nn	1585	37.0%	89.0%
Dejarnette et al., 2008	HO	2.1 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	790	27.0%	
Dejarnette et al., 2008	HO	3.5 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	790	29.0%	
Dejarnette et al., 2008	HO	5.0 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	790	30.3%	
SEMEN CONVENCIONAL VAQUILLAS						
Dejarnette et al., 2011	HO	2.1 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	2282	55.0%	
Dejarnette et al., 2011	HO	10 x 10 ⁶	8 a 12 h de inicio de celo	2292	60.0%	
Borchersen y Peacock, 2009	y HO	15 x 10 ⁶	nn	181	61.9%	48.1%
Borchersen y Peacock, 2009	y JE	15 x 10 ⁶	nn	165	53.9%	49.4%

Múltiple ovulación y transferencia de embriones con semen sexado

Actualmente, los sistemas de selección de toros para programas de inseminación aplican procedimientos de superovulación y transferencia de embriones para obtener hembras o machos de

alto valor fenotípico, genético y económico. El tipo de tecnología reproductiva que nosotros escojamos para multiplicar los individuos selectos en la población, podría afectar los factores que influyen en la ganancia genética y determinar la tasa a la cual nosotros queremos incrementar la frecuencia de los genes deseables en la población.

El uso de inseminación artificial (IA) con semen de toros con prueba de progeñe resulta en una ganancia genética promedio en producción de leche de 1,0 – 1,5% sobre el promedio por año. Una simulación computarizada predice una tasa de ganancia genética de 8,0 - 9,5% más alta que una actual programa de prueba de progeñe, cuando la múltiple ovulación y transferencia de embriones (MOET) se incluye en un programa de prueba de progeñe (Lohuis, 1995). Asimismo, Nicholas and Smith (1983) estiman que la tasa de ganancia genética en ganado lechero podría ser incrementado en un 100% por el uso transferencia de embriones en la generación de hembras de reemplazo.

En un hato lechero, la habilidad de seleccionar el sexo de la descendencia de vaquillas y vacas es muy práctico e importante económicamente. Con el diagnostico de sexo, las donadoras élite producirán mayor número de terneras de reemplazo, en vacas de media y baja calidad (receptoras) del hato. En algunos países la técnica de sexado de embriones mediante biopsia es una técnica de rutina, el procedimiento es simple y alta exactitud, aun en condiciones de hato (Bredbacka *et al.*, 1995, 1996). Sin embargo, el método no es económicamente viable debido a que en promedio el 50% de los embriones posee el sexo no deseado y la tasa de sobrevivencia de los embriones biopsiados se ve comprometida su calidad en comparación a embriones intactos (Hasler *et al.*, 2002)

El éxito de la criopreservacion de espermatozoides seleccionados “X” por citometro de flujo, ha permitido su aplicación comercial en toros de centrales de inseminación (Seidel, 2003). Sin embargo, a la fecha existen muy pocos reportes

enfocados al uso de semen sexado en la producción de embriones in vivo, como resultado de la superovulación en vaquillas o vacas (ver tabla 2). En promedio, con MOET se puede producir 5 a 6 embriones por lavado y 5 a 7 lavados por año (si la donadora solo se usa para producir embriones) y con una tasa de preñez promedio entre 50 - 60%. Esto da un promedio de 20 a 24 crías producidas por donadora/año.

Tabla 2: Embriones transferibles recuperados de vaquillas y vacas superovuladas e inseminadas con semen preseleccionado “x” versus convencional en Holstein y Angus.

Investigador	Raza	n	Inicio de superov.	8 Dosis decrec. FSH	# IA	Esperm / IA	Ovas recup	Emb. viables	Det Se
Vaquilla Sexado “X”									
Peippo et al., 2009	HO	50	8 a 12 del ciclo estral	240 mg	3	2.1x10 ⁶	6.4	3.1	PC
Schenk et al., 2006	AN	20	9 a 11 del ciclo estral	204 mg	2	2.0 x 10 ⁶	14.0	3.6	Na
Schenk et al., 2006	AN	21	9 a 11 del ciclo estral	204 mg	2	10 x 10 ⁶	12.0	3.7	Na
Schenk et al., 2006	HO	31	Dia 4AM de CIDR	200 mg	1	2.0 x 10 ⁶	4.1	1.3	Na
Schenk et al., 2006	HO	34	Dia 4AM de CIDR	200 mg	1	20 x 10 ⁶	4.4	2.0	Na
Sartori et al., 2004	HO	12	Dia 6AM de CIDR	300 mg	1	20 x 10 ⁶	6.8	1.9	-
Sartori et al., 2004	HO	13	Dia 6AM de CIDR	300 mg	2	10 x 10 ⁶	8.9	2.3	-
Vacas Sexado “X”									
Peippo et al., 2009	HO	50	8 a 12 del ciclo estral	360 mg	3	2.1 x 10 ⁶	10.4	2.1	PC
Schenk et al., 2006	AN	9	9 a 11 del ciclo estral	302 mg	2	2.0 x 10 ⁶	26.0	3.1	Na
Schenk et al., 2006	AN	9	9 a 11 del ciclo estral	302 mg	2	10 x 10 ⁶	32.0	4.6	Na
Vaquilla Semen convencional									
Peippo et al., 2009	HO	51	8 a 12 del ciclo estral	240 mg	3	15 x 10 ⁶	8.6	5.7	PC
Schenk et al., 2006	AN	21	9 a 11 del ciclo estral	204 mg	2	40 x 10 ⁶	11.0	6.5	Na
Schenk et al., 2006	HO	31	Dia 4AM de CIDR	200 mg	1	40 x 10 ⁶	4.4	3.1	Na
Sartori et al., 2004	HO	14	Dia 6AM de CIDR	300 mg	2	10 x 10 ⁶	9.9	6.3	-
Vacas Semen convencional									
Peippo et al., 2009	HO	51	8 a 12 del ciclo estral	360 mg	3	15 x 10 ⁶	9.4	6.3	PC
Schenk et al., 2006	AN	9	9 a 11 del ciclo estral	302 mg	2	40 x 10 ⁶	29.0	11.0	Na

El uso de semen sexado “X” en la inseminación de vacas superovuladas para la producción de embriones in vivo reduce el número de embriones transferibles (Sartori *et al.*, 2004; Schenk *et al.*, 2006; Peippo *et al.*, 2009). En tabla 2, se observa que la proporción de embriones transferibles con respecto a las ovas recuperadas se reduce de 52%(embriones viables/ovas recuperadas) a 14.3% en vacas con uso de semen sexado “X” y 33.5% en vaquillas con semen sexado “X”, Representando una desventaja desde el punto de vista de eficiencia y costos de producción de embrión en ganado

lechero. Sin embargo, el resultado final de la proporción de hembras nacidas o determinadas sexo hembra como sexo deseado fue de 95% en vaquillas y 90% en vacas superovuladas, versus al 39% de hembras que representó el uso de semen convencional en vaquillas y vacas.

Soares *et al.* (2011) demostró que un retraso de 6h en la inseminación de vacas superovuladas con semen sexado "x" puede incrementar el número de embriones viables a 4.5 versus el número de embriones (2.4) cuando de mantenía el protocolo original de inseminación a la de semen convencional (ver figura 4). Lo cual, puede mejorar la aplicación de MOET con semen sexado y los indicadores económicos de esta técnica en la generación de animales de alto valor productivo y genético.

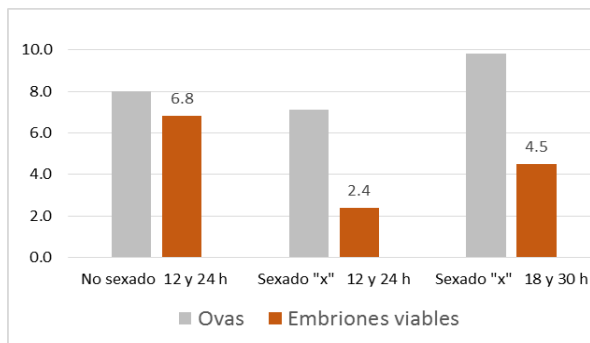


Figura 4: Producción de embriones viables con el uso de semen sexado "X" en inseminación con retraso de 6h (Soares *et al.*, 2011).

Producción de embriones *in vitro* con semen sexado

La aplicación de los procedimientos de producción *in vitro* (IVP) en la reproducción bovina se han incrementado en los últimos años y en algunos países, como Brasil es la técnica utilizada en programas de reproducción a gran escala de producción comercial de embriones *in vitro*. La eficiencia de la producción de embriones *in vitro* en términos de crías obtenidas varía grandemente de acuerdo a varios factores: edad, tipo de

donadora, método de recuperación de ovocitos, frecuencia de OPU, condición corporal y estatus nutricional de la donadora, estado fisiológico de la donadora, raza, habilidad de la fecundación de los espermatozoides del toro, el método de producción *in vitro* aplicado, etc.

Los ovarios contienen un elevado número de folículos que se encuentran en diferentes estados de desarrollo (primordiales, en crecimiento, atrésicos) de los cuales, solamente una pequeña proporción va a ser utilizada durante la vida reproductiva del animal. La recolección de ovocitos permite recuperar y aprovechar folículos no ovulatorios, que bajo condiciones fisiológicas se tornarían en folículos atrésicos, con el fin de aprovechar el máximo potencial genético de una donadora por procedimientos *in vitro* (Gordon and Lu, 1990).

Yang (2003) afirma que vía OPU, potencialmente una donadora valiosa podría producir 15 a 20 ovocitos por semana (2 veces por semana de 7 a 10 colecciones por colección) o cerca de 700 a 1000 ovocitos por donadora/año. Asumiendo un 30% de tasa de blastocistos y 40% de tasa de preñez, una vaca puede potencialmente dar 200 a 300 blastocistos o 80 a 120 preñeces por año. Además, los embriones de valor comercial o de alto valor genético pueden ser obtenidos de animales recién sacrificados o de muerte accidental.

A pesar de ello muchos investigadores consideran a la técnica de producción *in vitro* asociada al uso de semen sexado a convertirse en una de las herramientas más importantes para producir grandes impactos en la ganadería. Siendo una de las ventajas, el uso eficiente de los espermatozoides de toros élite, es así que en IVF, 10 ovocitos se pueden fecundar con tan solo 10,000 a 15,000 espermatozoides, esto es muy importante cuando se usa semen sexado y la eficiencia es muy grande cuando se aplican técnicas de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (Raymussen, 2011).

Asimismo, la producción de embriones in vitro típicamente se caracteriza por una baja fecundación y tasa de blastocistos y los embriones son de inferior calidad que los producidos in vivo. Son varios los factores que afectan el éxito de la IVP incluyendo la calidad de los gametos, manejo y condiciones de medios de cultivo en cada estado embrionario y la fertilidad individual de un toro (Lonergan and Fair, 2008; Lonergan, 2007). Es sumamente importante, la selección del toro de semen sexado, que nos permita lograr una tasa de fecundación y blastocistos aceptable (Wheeler et al., 2006).

Normalmente, la producción de blastocistos por ovocito es 30 a 40% cuando se usa semen convencional (no sexado) y 10 a 20% cuando se usa semen sexado "X" (Wheeler et al., 2006; Lonergan, 2007) y es posible que se deba a daños a nivel de cromosoma durante el proceso de sexado, y subsanar este problema es casi imposible, ya que que todo el semen sexado se procesa con la misma tecnología de flujo de citometría.

Tabla 3: Tasa de blastocistos y tasa de preñez, producidos en la producción de embriones in vitro con el uso de semen preseleccionado "x" y convencional en Holstein

Referencia	Obtención de ovocitos	Tipo de semen	Ovocitos (n)	Tasa de división, %	Tasa de Blastocistos, % (día, 7)	Tasa de preñez en vacas	Hembra nacidas %
Lu et al., 1999	Matadero	Sex "X" fresco	792	66.0	16.0	--	--
Raymussen, 2011	OPU	Sex "X" Cong	3485	67.0	23.0	10.0%	89
Schbrian-Serrano et al., 2013	OPU	Sex "X" Cong	103	52.4	15.5	--	--
Wilson et al., 2005	Matadero	Sex "X" Cong	3524		10.6	24.3%	93
Lu et al., 1999	Matadero	Sex "X" Cong	554	71.0	18.0	--	--
Blondin et al., 2009	OPU	Sex "X" Cong	487	81.2	12.9	--	--
Raymussen, 2011	OPU	Convenc. Cong	1785	68.0	23.0	22%	50
Schbrian-Serrano et al., 2013	OPU	Convenc. Cong	110	69.0	21.8	--	--
Lu et al., 1999	Matadero	Convenc. Cong	566	75.0	25.0	--	--
Blondin et al., 2009	OPU	Convenc. Cong	1773	68.2	22.2	--	--

La tasa de preñez resultante de la transferencia de embriones in vitro es inferior a la de producida in vivo. Park et al. (2005) reporta una tasa de preñez de 20 a 40% para embriones producidos in vitro, mientras que para los embriones producidos in vivo estos pueden ser de 50 a 60%. La proporción

de crías hembras nacidas con el uso de transferencia de embriones producidos in vitro con el uso de semen sexado "X" es de 80 a 93% (Raymussen, 2011; Wilson et al., 2005). Sin embargo, por transferencia de embriones in vitro con el uso de semen convencional, la proporción de sexo deseado al nacimiento solamente es el 50% (Raymussen, 2011).

Existe limitada información de la tasa de preñez de embriones producidos in vitro con fecundación usando semen sexado (Xu et al., 2006). Aunque, el proceso de selección de espermatozoide "X" reporta una alta exactitud de 85 a 95% (Garner and Seidel, 2003; Garner, 2006), es reducido el éxito que se consigue cuando se produce embriones in vitro con el uso de semen sexado, requiere más evaluaciones (Hansen, 2006).

Análisis económico del uso de semen sexado en IA, MOET y FIV

En un establecimiento lechero el manejo de una estructura de costos, ingresos y utilidades, debe ser una herramienta a utilizar frecuentemente para la toma de decisiones, que le permitirá hacer más eficiente los procesos que involucran producir leche y carne en cantidad y calidad.

La implementación de una tecnología reproductiva dependerá de lo costos que se requiera para la producción de una cría viva, sin embargo, en nuestro caso, el énfasis es producir una futura hembra de reemplazo de alta calidad genética, por lo que el nivel genético de las crías producto de transferencia de embriones sería más alta, dentro de un programa de mejoramiento genético. El valor comercial de los animales producto de transferencia de embriones debiera ser por lo menos 30 a 50% más alta que las crías producidas vía inseminación artificial.

Tabla 4: Comparación de costos y beneficios económicos estimados de aplicar semen sexado vía inseminación artificial en ganadería lechera.

IA Convencional	IA Convencional	IA semen sex (vaquillas)	IA semen sex (vacas vaquillas)
Población estabilizada	100	100	100
Vaquillas de reemplazo/año	30	30	30
Preñez vacas (conv):	40%	40%	--
Preñez vacas (Sex):	--	--	20%
Preñez vaquillas (Conv.):	60%	--	--
Preñez vaquillas (sex):	--	45%	45%
Requerimiento de semen Convencional	250 + 50 dosis	250 dosis	--
Sexado	--	66 dosis	500 +66 dosis
Partos / año: 80% Vacas	80%	80%	70%
(sexo macho/hembra)	80 nac. (40 M y 40 H)	80 nac. (40 M y 40 H)	70 nac. (8 M y 62 H)
Vaquillas (sexo macho/hembra)	90% 27 nac. (14M y 13 H)	90% 27 nac. (03M y 24 H)	90% 27 nac. (3M y 24 H)
Mortalidad 15% nac. Hasta vaq.	6	6	9
Crías de vacas:	4	4	4
Crías de vaquillas:			
Crías hembras para reemplazo	34	34	53
De vacas:	9	20	20
De vaquillas:			
Inversión en semen (USD) Convencional	6000.00	5000.00	--
Sexado	--	2640.00	22640.00
Hembras reemplazo sigte año	34	34	34
Hembras excedentes para venta	09	20	39
Costo de producir una vaquilla (hasta 18meses)	800.00	800.00	800.00
Costo adicional factor semen	140 USD	141 USD	310 USD
Valor comercial de una vaquilla	1200.00 USD	1200.00 USD	1200.00 USD
Utilidad por venta de vaquillas Individual:	260 USD	258 USD	90 USD
Por venta de lote:	2,344 USD	5,160 USD	3,504 USD
Factor de cambio genético	1.0	1.2	1.4
Factor de selección hembras:	Top 68%	Top 55%	Top 41%

Tabla 5: Comparación de costos y beneficios económicos estimados de aplicar semen sexado vía inseminación artificial y transferencia de embriones en ganadería lechera

IA Convencional	IA semen sex (vaquillas)	MOET TOP 10% con semen sexado	FIV top 7% con semen sexado
Población estabilizada	100	100	100
Vaquillas de reemplazo/año	30	30	30
Preñez vacas (conv):	40%	40%	40%
Preñez vaquillas (sex):	45%	--	--
Preñez vaquillas IVF sex	--	--	25%
Preñez vaquillas MOET sex	--	50%	--
Requerimiento de semen Convencional	250 dosis	250 dosis	250 dosis
Sexado	66 dosis	--	--
Embrión MOET sex	--	45 embriones	--
Embrion IVF sex	--	--	45 embriones
Partos / año: 80% Vacas	80%	80%	80%
(sexo macho/hembra)	80 nac. (40 M y 40 H)	80 nac. (40 M y 40 H)	80 nac. (40 M y 40H)
Vaquillas (sexo macho/hembra)	90% 27 nac. (03M y 24 H)	80% 23 nac. (3M y 20H)	90% 12nac. (2M y 10H)
Mortalidad 15% nac. Hasta vaq.	6	6	6
Crías de vacas:	4	3	1
Crías de vaquillas:			
Crías hembras para reemplazo	34	34	34
De vacas:	20	17	09
De vaquillas:			
Inversión en semen (USD) Convencional	5000.00	5000.00	5000.00
Sexado	2640.00	--	--
Embriones	--	13500.00	9900.00
Hembras reemplazo sigte año	34	34	34
Hembras excedentes para venta	20	17	09
Costo de producir una vaquilla (hasta 18meses)	800.00	800.00	800.00
Costo adicional factor semen/embrión	196 USD	362 USD	337USD
Valor comercial de una vaquilla	1200.00 USD	1200.00 USD	1200.00 USD
Utilidad por venta de vaquillas Individual:	258 USD	37 USD	63 USD
Por venta de lote:	5,160 USD	633 USD	565USD

REFERENCIAS

- AIPL. Top sires with official evaluations sorted by NM\$, CM\$, and FM\$ by breed. Pagina web: <https://www.cdc.us/eval.htm>. 2014.
- Blondin P., M. Beaulieu, V. Fournier, N. Morin, L. Crawford, P. Madan, W.A. King. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. *Theriogenology*, 2009. 71: 30–38
- Borchersen S., M. Peacock. 2009. Danish A.I. field data with sexed semen. *Theriogenology*, 2009 71: 59–63
- Cebrian-Serrano A., M. A. Silvestre, S. Ruiz, D. Rath. Effect of sex-sorted sperm on development and quality of *in vitro*-produced bovine embryos derived from ovum pick up oocytes. *Animal Science Papers and Reports*, 2013. 31(2): 111-122
- Chebel, R. C., Guagnini, F. S., Santos, J. E. P., Fetrow, J. P., & Lima, J. R. Sexsorted semen for dairy heifers: Effects on reproductive and lactational performances. *Journal of dairy science*, 2010. 93(6), 2496-507.
- De Jarnette, J.M., Mc Cleary, C.R., Leach, M.A., Moreno, J.F., Nebel, R.L., & Marshall, C.E. Effects of 2.1 and 3.5×10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows

- and heifers. *Journal of Dairy Science*, 2010. 93(9), 4079-85.
- Dean P.N., Pinkel D., Mendelsohn M.L. Hydrodynamic orientation of sperm heads for flow cytometry. *Biophys J*. 1978; 23:7-1
 - DeJarnette J. M., M. A. Leach, R. L. Nebel, C. E. Marshall, C. R. McCleary and J. F. Moreno. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? *J. Dairy Sci*. 2011. 94 :3477–3483
 - Garner, D. L. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology*, 2006. 65(5), 943-57.
 - Hamano K. Sex preselection in bovine by separation of Y-chromosome bearing spermatozoa. *Journal of Reproduction and Development*, 2007. 53(1):27-38.
 - Hansen P.J. Realizing the promise of IVF in cattle and overview. *Theriogenology*. 2006. 65: 119-25.
 - Johnson L.A., Cran D.G., Welch G.R., Polge C. Gender preselection in mammals. In: Miller RH, Pursel VG, Norman HD (eds), Beltsville Symposium XX. Biotechnology's Role in the Genetic Improvement of Farm Animals. Beltsville, USDA; 1996. 15 1-1 64.
 - Johnson, L. A. Sexing mammalian sperm for production of offspring: The state-of-the-art. *Anim. Reprod. Sci*. 2000. 60-61:93–107.
 - Kamentsky LA, and Melamed RR. Spectrophotometric cell sorter. *Science*; 1967. 156: 1364-1365.
 - Kiddy CA, Hafs HD (eds). Sex Ratio at Birth - Prospects for Control. *J Anim Sci; Symp-Suppl*. 1971. 104pp
 - Kurykin J., U. Jaakma, M. Jalakas, M. Aidnik, A. Waldmann, L. Majas.. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers *Theriogenology* 2007, 67: 754–759
 - Lohuis MM, Potential benefits of bovine embryo manipulation technologies to genetic improvement programmes. *Theriogenology*, 1995. 43: 51-60.
 - Lonergan P. State of the art embryo technologies in cattle. *Reproduction in Domestic Ruminants VI*. Nottingham University Press. Nottingham, UK. 2007. Pp. 315-25.
 - Lonergan P. and T. Fair. 2008. In vitro produced bovine embryos- Dealing with the warts. *Theriogenology*. 69: 17-22.
 - Lu K.H., D.G. Cran and G.E. Seidel, Jr. In vitro fertilization with flow-cytometrically-sorted Bovine sperm. *Theriogenology* 1999, 52:1393-1405
 - Lu, K. H., & Seidel Jr, G. E. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage and blastocyst development rates of bovine oocytes inseminated with flow cytometrically-sorted sperm. *Theriogenology*, 2004. 62(5), 819-30.
 - Nicholas F.W., Smith C, Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Anim. Prod*. 1983. 36: 341- 353.
 - Park Y-S., S-S. Kim, J-M. Kim, H-D. Park, and M-D. Byun. The effects of duration of in *vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent development, quality and transfer of embryos. *Theriogenology*. 200564: 123-34.
 - Parrish J.J., J.L. Susko-Parrish, M.L. Leibfried-Rutledge, E.S. Critser, W.H. Eyestone and N.L. First Bovine in *vitro* fertilization with frozen-thawed semen. *Theriogenology* 1989. 25: 591–600.
 - Peippo J., K. Vartia, K. Kananen-Anttila, M. R`aty, K. Korhonen. 2009. Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen. *Animal Reproduction Science*. 2009, 111: 80–92
 - Rasmussen S.L. Applying *in vitro*-produced embryos and sexed sperm to dairy cattle reproduction. *Thesis, Department of Biomedical Sciences for the Degree of Master of Science, Colorado State University*. 2011. 61pp.
 - Rens W., Welch G.R., Houck D.W., van Oven C.H., Johnson L A. Slit-scan flow cytometry for consistent high resolution DNA analysis of X- and Y –chromosome bearing sperm. *Cytometry*, 1996. 25:191-199

- Sartori R., A.H. Souza, J.N. Guenther, D.Z. Caraviello, L.N. Geiger, J.L. Schenk, M.C. Wiltbank. Fertilization rate and embryo quality in superovulated Holstein heifers artificially inseminated with X-sorted or unsorted sperm. *Anim. Reprod.*, 2004. 1(1): 86-90, Oct./Dec. 2004
- Schenk J.L., T.K. Suh, G.E. Seidel Jr, T. Hurme, H. Myllymaki, A. Sairanen, A. Maki-Tanila. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. *Theriogenology*, 2006. 65: 299–307
- Schenk, J. L., Cran, D. G., Everett, R. W., & Seidel, G. E. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology*, 2009. 71(5), 717-28.
- Schenk, J. L., T. K. Suh, D.G. Cran, and G. E. Seidel. Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. *Theriogenology*, 1999. 52:1375–1391.
- Seidel, G. E. Sexing mammalian spermatozoa and embryos—state of the art. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1999. 54:477–487
- Seidel, G. E., & Schenk, J. L. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Animal Reproduction Science*, 2008. 105(1-2), 129-38.
- Villanueva E. y E. Mellisho. Fertilidad de semen sexado "x" comercial en vacunos de leche SPERMOVA, 2011. 1(1): 106-107
- Wheeler M.B., J.J. Rutledge, A. Fischer-Brown, T. VanEtten, S. Malusky, and D.J. Beebe. Application of sexed semen technology to in vitro embryo production in cattle. *Theriogenology*. 2006. 65: 219-227.
- Wilson R. D., K. A. Weigel, P. M. Fricke, J. J. Rutledge, M. L. Leibfried-Rutledge, D. L. Matthews, and V. R. Schutzkus. *In Vitro* Production of Holstein Embryos Using Sex-Sorted Sperm and Oocytes from Selected Cull Cows. *J. Dairy Sci.* 2005. 88:776–782.
- Zhang, M., K. H. Lu, and G. E. Seidel. Development of bovine embryos after *in vitro* fertilization of oocytes with flow cytometrically

sorted, stained and unsorted sperm from different bulls. *Theriogenology*, 2003. 60:1657–1663.