

Determinación y preselección del sexo en ganadería bovina

Andrés Kowalski Larreal, Ing. Agr, MSc, PhD

*Decanato de Agronomía, Departamento de Producción Animal,
Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado,
Barquisimeto-Venezuela. andresk@ucla.edu.ve*

La determinación del sexo de un individuo esta dada por la combinación de los cromosomas sexuales en el genoma del animal. Para el caso de los bovinos, al igual que en el humano la presencia del cromosoma X y del cromosoma Y en el genoma del individuo determina el desarrollo de un animal macho, y la presencia de dos cromosomas X determina el desarrollo de un animal hembra. Esto se debe principalmente a la presencia de ciertos genes en el cromosoma Y, tales como el gen SRY que codifica proteínas que inhiben la producción de un esteroide llamado estrógeno en las células primordiales del embrión, durante los estadios iniciales del desarrollo embrionario. Esta proteína SRY bloquea la producción de la enzima encargada de producir estrógeno (aromatasa). Esta condición favorece al desarrollo de un embrión macho. En el caso de que el cromosoma Y no esté presente en el genoma, no se producirá la proteína SRY lo cual permitirá la producción normal de estrógeno y por ende el desarrollo de un embrión hembra.

La capacidad de identificar o preseleccionar el sexo en animales domésticos siempre ha generado inquietud en los productores de animales domésticos, especialmente aquellos relacionados con la producción de leche y carne y en forma muy especial, si la determinación pudiera realizarse antes de que se produzca la gestación del animal, y aun mucho más si fuera posible, inclinar la balanza hacia uno de los dos sexos. De esta manera, los productores de leche tratarían de obtener mayor proporción de hembras, mientras que los productores de carne tratarían de obtener mayor número de machos.

Durante mucho tiempo han existido creencias las cuales se han idealizado para aplicar tratamientos o fórmulas para tratar de controlar la selección del sexo, muchos de estos tratamientos empíricos se basan en el uso de alimentos específicos, en el estadio de la fase lunar, etc.; sin embargo, ninguna de estas creencias ha tenido éxito.

DETERMINACIÓN DEL SEXO DE LOS EMBRIONES

Una de las alternativas utilizadas hoy en día es la determinación del sexo de los embriones después que ha ocurrido la fertilización. Diferentes metodologías se han aplicado para la separación de los embriones machos de las hembras. Uno de los ensayos es a través de procesos inmunológicos, en el cual se utilizan anticuerpos diseñados que son específicos contra moléculas que se encuentran en la superficie del embrión macho. También a través de enzimas que normalmente son producidas por los embriones hembras; de igual manera, se puede determinar el sexo de los embriones analizando cariotipos de biopsias realizadas en los embriones, en los cuales se observa la presencia o no del cromosoma Y.

El avance de tecnologías de biología molecular en estos últimos años ha permitido la incorporación de tecnologías con hibridación *in situ*, utilizando una sonda marcadora que identifica en una célula del embrión la presencia o no del cromosoma Y. A partir de mediados de la década de los noventa se introdujo una técnica que permite la amplificación de regiones del ADN en forma muy específica, la cual ha sido denominada reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta tecnología funciona en forma muy similar a una copiadora en la cual una región específica del ADN, en este caso una parte del cromosoma Y es copiada millones de veces. Esto permite poder determinar el sexo de los embriones con pequeñas muestras y con una sencilla célula del embrión. Esta biopsia del embrión se realiza aproximadamente cuando tiene 2 ó 3 días de desarrollo. En este periodo, los embriones pueden tener entre 8 y 16 células. La utilización de micromanipuladores permite remover una célula del embrión denominada blastómero, y se procede a la amplificación utilizando PCR de la región que se encuentra en el cromosoma Y como es el gen SRY.

Esta técnica, a diferencia de las anteriormente usadas en la determinación del sexo, es muy precisa y sensible. Esta metodología puede realizarse en un periodo de 2 a 3 horas, con lo que se garantiza que el embrión al cual se le esta determinando el sexo pueda continuar su desarrollo normalmente. Esta tecnología se usa actualmente en Venezuela y su efectividad esta por encima del 95%. Algunas de las limitantes de esta técnica es que el número de embriones sexado es limitado y que el procedimiento es costoso.

SELECCIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES PORTADORES DE LOS CROMOSOMAS X O Y

La separación de los espermatozoides que contienen el cromosoma X o Y se basa en la diferencia que tienen en su contenido de ADN. Es conocido que el cromosoma Y es de menor tamaño que el cromosoma X y esta variación origina diferencias en el tamaño y forma de los espermatozoides, peso, densidad, motilidad, cargas eléctricas y la presencia de antígenos superficiales. Diferentes criterios han sido utilizados para la separación de los espermatozoides portadores del cromosoma X o Y. Uno de estos criterios se basa en su densidad. El espermatozoide que porta el cromosoma X es entre 2,9 a 4,2% más grande que el que porta el cromosoma Y, y por ende las densidades de los espermatozoides son diferentes. Se han utilizado medios con diferentes gradientes de densidades para separar los espermatozoides. También se han realizado separaciones basadas en la carga eléctrica de los espermatozoides que portan el cromosoma X o Y. Se

demonstró que los espermatozoides que portan el cromosoma X migran más rápido en dirección al cátodo, por lo cual se han utilizado campos eléctricos para su separación.

A través de procedimientos inmunológicos se han separado los espermatozoides, específicamente mediante la utilización de anticuerpos en contra del antígeno H-Y que esta presente en los espermatozoides portadores del cromosoma Y. Aunque todas estas técnicas están basadas en criterios lógicos, ellas no han producido resultados aceptables en la preselección de los espermatozoides. Sin embargo, las diferencias en el contenido de ADN entre los espermatozoides que portan el cromosoma X o Y han permitido el uso de tecnologías como la citometría de flujo. Esta técnica se basa en analizar la cantidad de luz emitida por cada espermatozoide cuando es impactada por luz ultravioleta proveniente de un rayo láser. Se ha determinado que la fluorescencia de los espermatozoides que portan el cromosoma X es mayor que aquellos que portan el cromosoma Y y esta diferencia es detectada por el equipo de citometría de flujo, la cual separa los espermatozoides. Este equipo no solo separa los espermatozoides en base al contenido de sus cromosomas, sino que también separa aquellos espermatozoides que han muerto. De esa manera, se generan 3 poblaciones de espermatozoides: los X, los Y y los muertos. Una de las limitaciones de esta tecnología es el poco número de espermatozoides sexados. El máximo número de espermatozoides sexado por hora no es mayor que 4 millones de espermatozoide en cada fracción (X o Y), lo que implica que producir pajuelas de semen sexado para inseminación artificial es muy costoso. Sin embargo, esta cantidad de espermatozoides sexados por el sistema de citometría de flujo son suficientes para ser utilizados en fertilización *in vitro* y de esta manera poder lograr un número considerable de embriones de sexo predeterminado a un costo razonable.

Esperamos que esta tecnología este a disposición del ganadero venezolano en un corto plazo de tiempo ya que existen actualmente instalaciones en las universidades de Venezuela que tienen la capacidad para realizar fertilizaciones *in vitro* y sólo están a la espera de la adquisición de los equipos de citometría de flujo.

APLICACIÓN DE ULTRASONOGRAFÍA EN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO

La aplicación de la ultrasonografía transrectal en el estudio de la reproducción bovina ha representado un salto tecnológico que ha revolucionado la biología reproductiva. Las imágenes obtenidas del ultrasonido han facilitado el estudio del complejo proceso reproductivo en bovinos. En la hembra se incluyen estudios de la dinámica folicular, funcionamiento del cuerpo lúteo, manejo reproductivo posparto, diagnóstico precoz de gestación, desarrollo fetal y de las patologías reproductivas. En el macho se evalúan condiciones normales o patológicas de las glándulas sexuales accesorias, del cordón espermático, epidídimo y de los testículos.

La aplicación de la ultrasonografía en las especies bovina y equina corresponde a los años 80; sin embargo, su desarrollo y perfeccionamiento para el estudio de los eventos reproductivos se ha acelerado en la presente década. En la actualidad, la ultrasonografía es usada como una tecnología secundaria en la práctica reproductiva bovina. No obstante, la capacidad de recolectar información del ultrasonido es superior a la de la palpación rectal.

La evaluación temprana de la preñez y de la viabilidad fetal con el uso del ultrasonido, permite identificar las vacas que no se preñaron. De esta manera, se logra mejorar la eficiencia reproductiva al reducir el intervalo entre servicios y los días vacíos, a la vez que incrementa la tasa de servicios. Esta técnica también nos permite la identificación temprana de gestaciones gemelares; así mismo, las patologías uterinas y ováricas que no son detectadas con precisión en la palpación rectal, pueden ser visualizadas con el ultrasonido y de esta manera facilitar la aplicación de una terapia adecuada.

El ultrasonido se ha usado ampliamente en el desarrollo de programas de cruzamiento controlado en bovinos, entre las que se mencionan la sincronización de celo y ovulación. Otras aplicaciones más especializadas incluyen la aspiración folicular de ovocitos (ovum pick-up) y la ablación folicular.

El fundamento de la ultrasonografía se basa en el empleo de ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y de los órganos internos, las cuales se pueden visualizar a través del ecógrafo. Es una técnica de diagnóstico por imagen sobre la base de emisión de ultrasonidos y la recepción de ecos. Estos ecos se producen por la reflexión de los ultrasonidos a nivel de los distintos tejidos. En el formato de imagen llamado modo B, estos ecos van a ser presentados como puntos de brillos. Los órganos o tejidos serán hiper, hipo o anaecogénicos, según la cantidad de ultrasonido que reflejen. No obstante, en la imagen aparecen puntos de brillo que no se corresponden con ecos producidos a nivel de estructuras reales del paciente. Estos son denominados artefactos, y es importante conocerlos y diferenciarlos de los ecos reales para poder interpretar correctamente las imágenes.

El mayor impacto de la ultrasonografía en la práctica veterinaria bovina ha sido el de superar a la técnica de palpación rectal, puesto que permite mejorar la precocidad y la eficiencia del diagnóstico de preñez temprana o la palpación ovárica a través del recto. Con el ultrasonido en tiempo real se han reportado gestaciones en ganado de hasta de 12 días; no obstante, la precisión del diagnóstico es variable. En estudios realizados en novillas de leche entre 16 y 18 días de preñez, la precisión fue menor del 50% y se obtuvieron mejores resultados entre los 20-22 días donde se alcanzaron resultados de hasta un 100%.

La ventaja del uso de la ultrasonografía en el diagnóstico temprano de la preñez se apoya en que es capaz de detectar la viabilidad del embrión a través de su latido cardíaco. Con el diagnóstico temprano de la preñez, se disminuyen los costos de mantenimiento de vacas no gestantes; y en el caso de la transferencia de embriones, el mantenimiento de la vacas receptoras. La manipulación directa del tracto reproductivo es innecesaria con esta técnica. De esta manera se reduce el riesgo de causar pérdidas embrionarias, las cuales ocurren con frecuencia en rebaños bovinos por causas virales, bacterianas, micóticas, protozoos y a menudo por causas iatrogénicas en el desarrollo de la palpación rectal.

Se han realizado estudios en bovinos que revelan que la mortalidad embrionaria ocurre con mayor frecuencia entre los 25 y 45 días de gestación (7%) y entre 45 y 65 días (2%). No obstante, a pesar de la confiabilidad de la técnica de palpación rectal, algunos autores recomiendan hacer una revisión ginecológica entre los 60 y 90 días de gestación.

La ultrasonografía también es usada para el sexaje del feto bovino. Después del día 50 de gestación, los fetos hembras y machos pueden ser diferenciados por la localización relativa del tubérculo genital (presumible pene o clítoris) y el desarrollo de una masa dentro del escroto en el feto macho. El procedimiento del sexaje por ultrasonido es confiable (Cuadro 1). La precisión del sexaje puede ser optimizada cuando se realiza en el tiempo apropiado. La determinación del sexo antes del día 60 es más difícil porque el desplazamiento relativo del tubérculo genital es incompleto. De igual manera, cuando se realiza la técnica después del día 85 de gestación puede disminuir la precisión, debido a que el feto se hace de mayor tamaño, dificultando el movimiento del transductor para obtener la imagen adecuada. Cuando avanza la gestación, el cuerno uterino gestante desciende hacia la cavidad abdominal, lo cual dificulta el sexaje sin la retracción del cuerno. Esta retracción y manipulación del cuerno gestante incrementa los riesgos de pérdida del feto. Al evaluar estas situaciones se sugiere realizar el sexaje por ultrasonido del feto bovino entre los días 60 y 85 de gestación.

El principal objetivo de la determinación del sexo de fetos en hembras bovinas gestantes es para la comercialización, ya que una hembra bovina a la que se le conoce el sexo de su feto se le incrementara el valor a nivel de mercado.

Cuadro 1

Precisión de la Predicción por Ultrasonido del sexo fetal bovino entre 59 y 78 días de gestación usando un transductor de 7,5 M Hz o de 5 MHz

	Predicción del sexo	
	Macho	Hembra
N° de predicciones	170	164
N° de confirmaciones	169	160
Porcentaje de confirmación	99%	98%

La ultrasonografía tiene el potencial de mejorar los métodos usados en la práctica veterinaria convencional y en la transferencia de embriones. Una de las aplicaciones más importantes es para mejorar y ampliar la capacidad de la palpación rectal. La determinación del sexo del feto en hembras bovinas gestantes a través de la ultrasonografía se convertiría en una herramienta valiosa para el establecimiento de la ganadería de doble propósito en el ámbito nacional. No obstante, el uso de la ultrasonografía en la actualidad está algo limitada debido al costo del equipo.

LECTURAS RECOMENDADAS

Garner DL, Seidel GE Jr. Sexing bull sperm. In: www.ivis.org. Document No. A5005.0600. 2004.

Perea F, Cruz R. Usos de la ultrasonografía en la evaluación reproductiva de la vaca. En: *Reproducción Bovina*. C. González-Stagnaro (ed). Cap. XXIII: 357-372. 2001.

Seidel GE Jr. Sexed sperm and sexed embryos – Where are we and where are we going, and when. In: *Proceedings 18th Ann Convention American Embryo Transfer Association.*, p 47-59. 1999.