

Trelles, A. & Solari M. A. 2015 Tratamiento generacional de la garrapata. Aplicación de una metodología en un manejo poblacional para la erradicación de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a lactonas macrocíclicas Veterinaria (Montevideo) 51 (198) 14-25.

• Cuore, U.; Gayo, V. & Solari, M. A. 2016a Monitoreo de las parasitosis a través de animales centinela. Revista Opción Veterinaria. Ed N° 4 Marzo-Abril.

• Cuore, U.; Solari, M. A.; Piaggio, J.; Chelle, B.; Di Rienzo, D.; Machado, N.; Politi, P.; Trelles, A. & Rampoldi, O. 2016b Comportamiento biológico y farmacocinético de dos formulaciones comerciales de ivermectina 3,15% en bovinos. Veterinaria (Montevideo) Volumen 52 (201) 13-22.

• FAO, 2004. Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines. CD - ROM. Publications-sales@fao.org

• Nari, A.; Cardozo, H.; Berdié, J.; Canabez, F. & Bawden, R. 1979. Estudio preliminar sobre la ecología de *Boophilus microplus* en Uruguay. Ciclo no parasitario en un área considerada poco apta para su desarrollo. Veterinaria. 15: (69) 25-31.

• Nari, A. & Solari, M.A. 1990. Desarrollo y utilización de vacuna contra *Boophilus microplus*, Babesiosis y Anaplasmosis, perspectiva actual en el Uruguay. XVIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú.

• Nari, A.; Solari, M.; Cuore, U.; Lima, A.; Casaretto, R. y Valledor, S. 2013 Control integrado de parásitos en establecimientos comerciales del Uruguay. In "Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control" Coordinadores: Field César & Nari Armando. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.

tarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control" Coordinadores: Field César & Nari Armando. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.

• Petracchia, C., Nari, A. & Cardozo, H. 1988. Ensayos mediante tratamientos estratégicos contra *Boophilus microplus* con Flumetrina 1% *pour on* en el Uruguay. Noticias Medico Veterinarias, fasc.1: 18-22.

• Reck, J.; Klafke, G.; Webster, A.; Dall'Agnol. 2014 First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. - Elsevier Veterinary Parasitology. Volume 201, Issues 1-2, 17, Pages 128-136.

• Sanchis, J.; Cuore, U.; Gayo, V.; Silvestre, D.; Invernizzi, F.; Trelles, A. & Solari, M. A. 2008 Estudios sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas del Uruguay. XXXVI Jornadas de Buiatría del Uruguay.

• Solari, M.A. & Cuore, U. 2001 Resultados Preliminares sobre el comportamiento biológico de la garrapata a 4° centígrados, VII Congreso Nacional de Veterinaria. Montevideo Uruguay.

• Solari, M.; Dutra, F.; Quintana, S. y Franchi, M. 2013 Epidemiología y control de hemoparásitos (Babesia y Anaplasma) en Uruguay. In "Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control" Coordinadores: Field César & Nari Armando. Editorial Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-674-36-3.

USO DEL SEMEN SEXADO EN LOS PROGRAMAS DE INSEMINACIÓN DE VAQUILLONAS: SU APLICACIÓN EN EL TAMBO Y ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS

Dr. Sergio Kmaid

DMV, Ejercicio Liberal.

INTRODUCCIÓN

Es posible predeterminar el sexo de las crías en varias especies antes de la fertilización con una exactitud que varía entre el 85 y el 95% (31,32,60) La década anterior fue testigo de la evolución del semen sexado, desde su utilización únicamente para Programas de Fertilización In Vitro y Transferencia de Em-

briones hasta el semen utilizado corrientemente en programas de Inseminación Artificial tanto en vaquillonas como en vacas.

La presente revisión se focalizará fundamentalmente en el uso del semen sexado en los programas de inseminación artificial.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA

Numerosos procedimientos genéticos, físicos e inmunológicos destinados a sexar millones de espermatozoides han sido propuestos, pero ninguno de ellos para ser adecuado para su comercialización en la actualidad debido a problemas en exactitud, repetibilidad y daño a los espermatozoides, entre otros problemas (61,62)

En la actualidad el único procedimiento efectivo que permite separar las poblaciones de espermatozoides X e Y en los bovinos es a través del uso de un Citómetro de Flujo de alta velocidad (33, 62) y los primeros nacimientos provenientes de semen sexados fueron reportados en 1989, en conejos (32) Esta metodología se basa en el contenido de ADN de los cromosomas sexuales, el cromosoma X de los bovinos tiene aproximadamente 4% más ADN que el cromosoma Y (24). Aunque esta diferencia es pequeña, atendiendo a los detalles, es posible medir el contenido de ADN de un solo espermatozoide con suficiente precisión para distinguir correctamente si es X o Y con un 90% de efectividad.

Los procedimientos para el sexado del semen están patentados, tanto en su origen, como en las diferentes mejoras que se ha introducido en los últimos años. Esta tecnología está actualmente controlada fundamentalmente por la empresa Sexing Technologies, Inc. Por lo tanto, el sexado comercial del semen es realizado via licencias de Sexing Technologies o licencias establecidas por su predecesora XY, Inc. (63) De acuerdo con la descripción realizada de Seidel (60,61), el procedimiento general es el siguiente.

El contenido de ADN del espermatozoide es determinado usando una tinción fluorescente, Hoechst 33342. Los espermatozoides X captan aproximadamente un 4% más de tinción que los espermatozoides Y.

Esta tinción emite fluorescencia únicamente cuando es expuesta a un haz de luz con una longitud de onda particular, la cual es provista por un láser. La fluorescencia es medida por un detector y analizada por una computadora. Estos principios se combinan para generar la tecnología capaz de separar el semen. El dispositivo básico usado es un citómetro de flujo / separador de células (Figura 1.)

Beltsville Sperm Sexing Technology

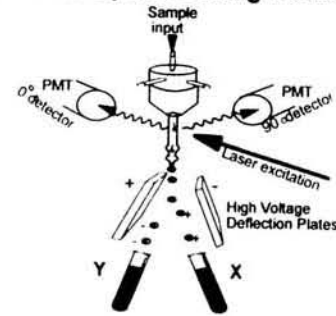


Figura. 1. Citómetro de flujo/separador. (Seidel 2007).

Este equipo consiste en una bomba que mueve el fluido conteniendo los espermatozoides a través de un detector de fluorescencia. Un láser provee luz con la apropiada longitud de onda para causar fluorescencia sin dañar el ADN. Esta fluorescencia será analizada por una computadora. Cuando el fluido sale del citómetro de flujo, éste es fraccionado en pequeñas gotas por un vibrador, formando alrededor de 70,000 a 80,000 gotas por segundo. Si la computadora detecta una gota conteniendo un espermatozoide X, una carga eléctrica positiva se agrega a la gota; si la gota contiene un espermatozoide Y se agregará una carga negativa y si la gota no contiene espermatozoides, dos espermatozoides, un espermatozoide dañado o un espermatozoide que no se puede sexar, no se agrega carga eléctrica a la gota.

Conforme las gotas caen al salir de la boquilla del citómetro (aproximadamente a 90 Km/hora), pasan a través de un campo magnético que es positivo en un lado y negativo en el otro. Las gotas con carga positiva (conteniendo un espermatozoide X) se mueven en dirección del lado negativo; aquellas con carga negativa se moverán hacia el lado positivo del campo y las que llegan sin carga, continuarán su camino sin desviarse.

De esta forma, se producen tres corrientes de gotas, las cuales se pueden coleccionar en tres tubos de ensayo que separan los espermatozoides X e Y. En la práctica, cerca de un 20% de los espermatozoides terminan coleccionados en la fracción X, 20% en la fracción Y y 60% son espermatozoides dañados o que no pudieron ser sexados por alguna razón u otra. Este procedimiento individual permanece como una seria limitante en esta tecnología, ya que reduce la cantidad de esperma que puede ser separado manteniendo el proceso económicamente viable.

UTILIZACIÓN DEL SEMEN SEXADO EN PROGRAMAS REPRODUCTIVOS

En Uruguay el semen sexado bovino fue comercializado por primera vez en el año 2006 (P. Barreto, comunicación personal) y su destino principal es el sector lechero. La información disponible en nuestro país, a través de la Encuesta Lechera 2014 de INALE, da cuenta de que solo el 13% de los productores lecheros utiliza semen sexado en sus programas de inseminación.

En países vecinos como Argentina, las ventas de semen sexado en el sector lechero evolucionaron desde el 1% de las dosis en el 2009 al 5,7% en el año 2014 sobre un total de más de 3 millones de dosis comercializadas (12) En Francia las inseminaciones con semen sexado en el 2014 corresponden a casi el 8% del total, con un crecimiento del 39% con respecto al año 2013 (35) También en Estados Unidos, el uso del semen sexado ha tenido un crecimiento del 31% con respecto al año 2009 en vaquillonas. Considerando la totalidad de los servicios en el sector lechero en el año 2015, el semen sexado corresponde 3% de los mismos (30)

¿Por qué utilizar semen en la producción lechera?

El control del sexo de los terneros previo a su concepción, permite a la producción pecuaria en general y lechera en particular planificar una proporción óptima de machos y hembras de manera tal de aprovechar las características productivas influenciadas por el sexo y por ende desarrollar prácticas de manejo más flexibles.

Entre las razones mencionadas como más importantes entre los productores lecheros de Wisconsin, publicados en una encuesta realizada en 2015, está el crecimiento del tambo. Más de 2/3 de los productores preveían crecer en vacas en los próximos 5 años y casi el 50% de los encuestados señaló el crecimiento desde adentro (65) Modelos de simulación en países con producción estacional basados en el pastoreo como Irlanda demuestran que el uso del semen sexado permite una expansión más rápida y rentable del rodeo lechero (10)

El aumento de la cantidad de hembras de reemplazo en el tambo, permite entre otras cosas planificar más racionalmente los descartes de vacas, así como manejar el exce-

dente de terneras. La comercialización de las vaquillonas preñadas con semen sexado, de manera tal que de prever un 90% de terneras al nacimiento, ha incrementado sus valores con respecto a las vaquillonas (F. DiSanti, comunicación personal)

La combinación de la selección por marcadores genéticos y el semen sexado tanto en ganado comercial como de cabañas, permite un progreso genético mayor (3)

Las distocias son menos frecuentes tanto en vacas como en vaquillonas inseminadas con semen sexado que paren hembras (6.0 vs 10.4% y 4.3 vs 11.3% respectivamente) También las dificultades al parto disminuyen sensiblemente tanto en vaquillonas como en vacas, 28 y 46% de reducción respectivamente (47) La dificultad en los partos también es mayor cuando se comparan los partos con asistencia: 3.23% vs 5.71% hembras y machos respectivamente en más de 145.000 partos registrados en ganado lechero (56). La mortalidad de los machos en más de 3 millones de nacimientos registrados en Francia, fue mayor comparada con las hembras en el primer mes de vida, con una probabilidad de 1,20 (48)

Reciente evidencia en diversos países, Estados Unidos (29), Canadá (5), Francia (4), Irán (15), Dinamarca (26) y Nueva Zelandia (28) sugieren que el sexo del feto afecta el nivel de producción láctea de su madre en mayor o menor medida. El feto durante el periodo gestacional, puede influir sobre la futura lactancia, ya sea a través de factores hormonales que cruzan la placenta influyendo sobre diversos niveles hormonales en la madre (29) o la duración de la gestación (28)

El análisis de las lactancias en Estados Unidos (29) encontró una mayor producción de leche, (aproximadamente 445 kg) en las primeras 2 lactancias en una vaca cuyo primer parto fue una hembra. En otros estudios este impacto resultó menor (4,28) o mayor para los fetos machos (26)

También las consideraciones sobre bienestar animal y la preocupación de los consumidores por las condiciones en que se desarrolla la producción lechera, han puesto énfasis sobre la necesidad de incrementar los nacimientos de terneras (16). El destino y manejo de los terneros macho supone un desafío para el sistema a la luz de estas tendencias y el Uruguay como país exportador de lácteos

debe tener en cuenta estos factores.

¿Por qué no se ha extendido el uso del semen sexado en las explotaciones lecheras?

El factor más relevante que ha limitado la utilización de semen sexado es su *menor fertilidad en relación al semen convencional*. En la práctica, la tasa de preñez del semen sexado ronda el 80% de la del semen convencional en situaciones con excelente manejo, pero son menores si el manejo es promedio o peor (62) La concepción en los Programas de Inseminación Tiempo Fijo (IATF) es menor cuando se utiliza semen sexado vs semen convencional (7,20,27) y existe coincidencia en que su utilización en estos programas debe ser considerada cuidadosamente.

Las causas de esta diferencia en fertilidad se han atribuido a los diversos cambios bioquímicos que sufre el semen durante el proceso de sexado. Estos procesos incluyen el tiempo previo a la tinción, las altas presiones del fluido utilizado, la exposición al laser y al campo eléctrico entre otros (61) El proceso de sexado afecta características estructurales induciendo la capacitación y reacción acrosómica, así como la alteración de las mitocondrias (70) , la membrana plasmática de la cola, favoreciendo un estado de hiperactivación (45)

y el ADN (24,25) sin embargo, la cinética evaluada por CASA luego de 12 horas de cultivo fue similar al semen convencional (14)

También se ve afectada la capacidad de las células espermáticas de unirse a las células oviductales (14) pero no reduce su capacidad de producir embriones in vitro, y estos embriones machos o hembras, tienen similares tasas de desarrollo (13)

Cuando se evaluaron los efectos de la baja dosis y el proceso de sexado por separado, se encontró que dos terceras partes de la disminución en la fertilidad pueden ser atribuibles a las bajas dosis y un tercio al proceso de sexado propiamente (23).

Comercialmente la concentración de espermatozoides por dosis se ha establecido en 2.1 millones por ml. Para llegar a esta concentración se realizaron numerosos trabajos, considerando los aspectos comerciales tanto en vacas como en vaquillonas (18,19,21,38,57) Las tasas de concepción son similares en vacas y vaquillonas holando inseminadas con semen sexado a 2.1 o 3.5×10^6 espermatozoides/ml, pero esta concepción aumenta significativamente cuando las inseminaciones son realizadas con semen convencional (15×10^6 /ml) como se presenta en la tabla siguiente (Tabla 1)

Tabla 1. Porcentaje de concepcion en vacas y vaquillonas.

	Semen Sexado (Dosis)		Semen Convencional (Dosis)
	2.1×10^6	3.5×10^6	15×10^6
Vaquillonas (%)	43.9 _a (2.752/6.268)	45.7 _a (2.864/6.268)	60.7 _b (3.805/6.268)
Vacas (%)	23.0 _a (1.257/5.466)	25.4 _a (1.388/5.466)	31.5 _b (1.722/5.466)

Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas ($p < 0.01$)
Adaptado de DeJarnette y col. (19)

Varios estudios en gran escala en vaquillonas lecheras en los Estados Unidos, indican que las tasas de preñez son entre 10 y 20% menores con semen sexado comparado con semen convencional. La tasa de preñez en vacas en lactación es menor que en las vaquillonas lecheras (7,20,21,27)

Independientemente de la dosis utilizada, la tasa de concepción en las vaquillonas es menor con semen sexado y la interacción entre el tipo de semen y el establecimiento tiene mayor efecto en aquellos tambos con peor manejo reproductivo (39) Esta diferencia puede ser mayor dependiendo de las condiciones de manejo, ambientales, humanas y del toro utilizado.

Evaluaciones más recientes en Estados Unidos, considerando los servicios entre 2007 y 2015 (casi 6 millones en vaquillonas y más de 42 millones en vacas) han permitido determinar un incremento en las tasas de concepción del semen sexado. Sobre más de 1.3 millones de servicios en vaquillonas, la concepción se incrementó de 42% a 49% (2007 – 2015 respectivamente) En vacas la concepción aumentó: 26% vs 30% (2007 – 2015). Esta tendencia también fue verificada para el semen convencional: 56% y 59% en vaquillonas, y 30% y 32% para vacas (2007 – 2015 respectivamente) (30)

En la siguiente tabla se presentan algunos datos de gestaciones en vaquillonas lecheras (principalmente holandó) inseminadas en

varios países con semen convencional y sexado (Estados Unidos, Irlanda, Egipto y Dinamarca) (2,10). (Tabla 2)

Tabla 2. Tasa de concepción al primer servicio en vaquillonas y vacas en lactancia con Semen Convencional (SC) o Sexado (SS) (Adaptado de 9,26)

Autor	Año	Categoría	Sexado	Convencional	TC Semen Sexado (Nº IA)	TC Semen convencional (Nº IA)
DeJarnette y col.	2011	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	2.1 x 10 ⁶	0.38 (2.319)	0.55 (2.282)
		Vaquillonas	10 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	0.44 (2.779)	0.60 (2.292)
DeJarnette y col.	2010	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	0.44 (2.089 ± 12)	0.61 (2.089 ± 12)
		Vaquillonas	3.5 x 10 ⁶		0.46 (2.089 ± 12)	
		Vacas en lactancia	2.1 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	0.23 (1.822 ± 20)	0.32 (1.822 ± 20)
		Vacas en lactancia	3.5 x 10 ⁶		0.25 (1.822 ± 20)	
DeJarnette y col.	2009	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	0.45 (28.980)	0.56 (25.024)
Norman y col.	2010	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	0.41 (105.382)	0.56 (718.101)
	2010	Vacas en lactancia	2.1 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	0.26 (17.616)	0.32 (4.446.036)
Chebel y col.	2010	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	20 x 10 ⁶	0.40 (343)	0.52 (1.028)
Hutchinson y Buttler	2013	Vaquillonas	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶ Fresco	0.46 (1.490)	0.53 (1.614)
		Vacas en lactancia	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶ Fresco	0.42 (1.924)	0.49 (2536)
Abdalla y col.	2014	Vaquillonas	2.1 x 10 ⁶	25 x 10 ⁶	0.34 (425)	0.62 (325)

Todos los autores coinciden en señalar que debe recomendarse el uso de semen sexado en las vaquillonas. En el caso de vacas en producción, estas deberían ser seleccionadas cuidadosamente por sus antecedentes reproductivos y genéticos (aquellas vacas hijas de toros que son positivos en los datos de fertilidad de las hijas) para ser incluidas en un programa de inseminación con semen sexado.

Las vacas que tienen ≤ 63 días abiertas y con una condición corporal ≥ 3,0 tienen una probabilidad de concebir de 51.1% mayor que las vacas con condición corporal ≤ 2,75 y más de 63 días abiertas. Claramente el semen sexado debe ir dirigido a los animales de mayor fertilidad del rodeo (10)

Influencia del momento de la inseminación y fertilidad del semen sexado en Programas de sincronización con celo detectado y en Programas de sincronización del celo y ovulación (Tiempo Fijo)

El momento de la inseminación es un factor determinante de la tasa de concepción. Existe una estrecha ventana en la cual maximizar la concepción a la Inseminación Artificial. Esta ventana depende de diversos factores, entre ellos el tiempo requerido para que el esperma viable se traslade desde el lugar de inseminación al sitio de fertilización, la vida media de espermatozoides y óvulo y el momento de la ovulación en relación a la inseminación.

El tiempo requerido estimado para el transporte espermático hacia el oviducto es de 6 a 12 horas. La vida media del espermatozoides en el tracto reproductivo de la vaca ha sido estimada en 24 horas, mientras que periodo óptimo para la fertilización del óvulo es menos de 10 horas (17)

El consenso general es que las inseminaciones tardías (más de 12 horas del comienzo del celo) usualmente resultan en mayores tasas de fertilización, pero menor calidad embrionaria cuando se comparan con inseminaciones más cercanas al celo (17,54) El intervalo desde la aceptación de la primera monta a la inseminación afecta la probabilidad de preñez y las mayores tasas de concepción se obtuvieron entre 4 y 12 horas después del inicio del celo (22)

Lamentablemente el intervalo óptimo para la inseminación con semen convencional, puede no ser el mismo para el semen sexado. La correlación entre la Tasa de Concepción del semen convencional y el sexado es 0,66 (1) Estas razones, hacen más relevante el análisis de la influencia del momento de la inseminación sobre la tasa de concepción en los programas de inseminación con semen sexado y la incidencia de los programas de sincronización del celo.

Programas de Inseminación a celo detectado

En líneas generales existen diversas diferencias entre el procesamiento del semen convencional y el sexado para su congelación. Estos procesos pueden reducir la sobrevivencia del semen en el tracto reproductivo (42), determinar un menor número de espermatozoides por dosis (19), o inducir la pre capacitación del semen (37)

Mientras que el semen convencional requiere intervenciones mínimas (3 o 4 dependiendo del proceso), el semen sexado atraviesa 21 etapas en procedimiento antes de ser congelado. Cada etapa es física y químicamente demandante para el espermatozoide y la conclusión lógica es que estos espermatozoides podrían o deberían estar comprometidos en términos de su funcionalidad (69)

El trabajo realizado por Sa Filho y colaboradores en 2010 (51) con inseminación a celo detectado, aporta conclusiones interesan-

tes. Vaquillonas jersey sincronizadas con una doble inyección de Prostaglandina (n=638), fueron inseminadas con una dosis de semen sexado (2.1 millones/ml, 14 toros diferentes) entre 12 y 30 horas del inicio del celo determinado por radio telemetría (Heatwatch™). En total, la tasa de concepción fue de 49.5%. No hubo interacción entre toros e inseminación. Las vaquillonas inseminadas entre 12 y 16 horas después del inicio del celo tuvieron menor probabilidad de preñez (37.7%) que aquellas inseminadas entre 16 -20 (51.8%) y 20-24 horas (55.6%) Las vaquillonas inseminadas entre 24 y 30 horas no difirieron en su concepción de ninguno de los otros intervalos (45.5%)

Recientemente (6) fueron analizados los porcentajes de preñez en torno de los 60 días post servicio en vacas jersey en lactancia (n=678) inseminadas con semen sexado, han reportado que los mejores resultados se verifican cuando son inseminadas más cerca del momento de la ovulación. En la tabla siguiente se muestran los resultados.

	Horas post inicio del celo				
	≥ 3	4 - 12	13 - 22	23 - 41	≥ 42
Preñez (%)	20 ^a	27.1 ^a	39.1 ^b	45.6 ^b	40 ^{a b}

Porcentajes con diferentes superíndices en las columnas difieren significativamente (<0.05 P< 0.15). Adaptado de Bombardelli y col.2016

Programas de Inseminación a Tiempo Fijo (IATF)

El semen sexado tiene menor viabilidad en el tracto reproductivo comparado con el semen convencional, y una posibilidad de mejorar su fertilidad es controlar el momento de la ovulación e inseminar más próximo a este. En los protocolos de IATF con Progesterona y Estradiol, la inseminación se realiza entre 48 y 60 horas del retiro del dispositivo y la ovulación se produce entre 70 y 72 horas después de retirado el mismo.

En un estudio sobre 420 vaquillonas jersey cíclicas (55) se compararon las tasas de preñez obtenidas con semen sexado (2.1 x10⁶/ml) y con semen convencional (20 x 10⁶/ml) inseminando 54 o 60 horas después del retiro del dispositivo de Progesterona. La preñez fue mayor en el caso del semen sexado cuando las inseminaciones se realizaron a las 60 horas (31.4%) comparado con las 54 horas (16.2%), (p < 0.01). En contraste, no existieron diferencias entre los grupos inseminados con semen convencional (50.5% vs 51.8%) Tam-

bién el aplazamiento de la IATF (20 horas) en vacas de carne que no demostraron celo, inseminadas a tiempo fijo (n = 656), sincronizadas con dispositivos de Progesterona, GnRH y Prostaglandina aumentó la tasa de concepción significativamente, de 3% a 36%. (66)

A su vez, en el experimento realizado sobre vacas de carne cebuinas con ternero (n=3.339) (55) se observó que las tasas de preñez con semen sexado mejoraban al inseminar más cerca del momento de la ovulación (determinada por ultrasonografía): 37.9% en las vacas inseminadas entre 0-12 horas antes de la ovulación vs 19.4% y 5.8% en las inseminadas entre 12.1 - 24 horas o >24 antes de la ovulación, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos con vacas Nelore entre 30 - 60 días post parto. Los animales (n=339) fueron sometidos a un protocolo de 8 días con dispositivo intravaginal de Progesterona, Estradiol al inicio y prostaglandina y eCG al retiro del mismo. Las inseminaciones se realizaron con semen sexado (2.1 x10⁶/ml) a las 36, 48 y 60 horas del retiro del dispositivo. Se determinó por ultrasonografía el in-

tervalo entre inseminaciones y ovulaciones. La tasa de preñez fue aumentando a medida que se incrementó el tiempo entre inseminación y retiro del dispositivo: 5,8% (36 horas), 20,8% (48 horas) y 30,9% a las 60 horas (46). Los resultados obtenidos por Rorie y col. (50) en vacas Angus paridas (60 días post parto aproximadamente) muestran que no hubo diferencias en las tasas de concepción de los animales inseminados entre 9-15 horas o entre 16-24 de detectado el celo: 62,5% y 65% respectivamente. Es interesante destacar que los autores señalan que no hay evidencia que sugiriera que demorar la inseminación tenga efectos negativos sobre la tasa de concepción.

En vaquillonas holando (n= 240) se compararon las tasas de preñez inseminadas a tiempo fijo utilizando un protocolo de 14 días de dispositivo de Progesterona, Prostaglandina y GnRH. La inseminación fue realizada con semen sexado o convencional a las 66 horas del retiro del dispositivo. Las vaquillonas inseminadas con semen sexado que demostraron celo, tuvieron una tasa de preñez mayor que las que no presentaron celo: 46% (32/70) vs 26% (13/50). Los protocolos de IATF deben considerarse con precaución ante el uso del semen sexado (41).

Silva y col. (64) analizaron económicamente la inseminación a tiempo fijo (n=306) o la inseminación con celo natural en vaquillonas holando (n=306) utilizando semen convencional o sexado. El protocolo de IATF fue 5 días de Progesterona, más GnRH y Prostaglandina. Curiosamente, la preñez en los animales inseminados con semen sexado a tiempo fijo fue superior (54,8%) comparado con los inseminados a celo detectado (31,6%). La especulación de los autores es que la inducción de las ovulaciones en el protocolo de IATF resultó en una mejor sincronización entre el momento de la inseminación y la ovulación. También en vaquillonas de carne se compararon los resultados de preñez en inseminaciones a tiempo fijo o con detección de celo con semen sexado (2×10^6 /ml) (34) utilizando un protocolo de IATF con dispositivo intravaginal de progesterona, GnRH y prostaglandina. En el momento de la inseminación (67-68 horas post retiro del dispositivo) se inyectó GnRH (n=82). El resto de los animales fueron inseminados a celo detectado por 5 días luego de 2 aplicaciones de Prostaglandina separadas 11 días (n=76). Los resultados de preñez evaluados a los 30 días por ultrasonografía resultaron similares: 54,9% (45/82)

y 52,6% (40/76) para los grupos IATF y celo detectado respectivamente.

Algunos resultados en Uruguay Consideraciones iniciales

Como hemos planteado, la utilización del semen sexado en los programas de inseminación de vaquillonas en los tambos de nuestro país ha tenido un impacto relativo. Resulta difícil contar con información nacional confiable, pero numerosas comunicaciones personales han dado cuenta de la disparidad de los resultados de preñez obtenidos.

En este contexto, se realizaron diversos trabajos de inseminación en vaquillonas holando entre los años 2012 y 2014 utilizando semen sexado (2.1×10^6 /ml). El objetivo central de estos trabajos fue comprobar si era posible alcanzar niveles de preñez similares a los obtenidos en otros países (entre el 10 y 20 % de la fertilidad del semen convencional, en el entorno del 45% de preñez al primer servicio). Tomando en consideración las informaciones generadas tanto en programas de inseminación a celo detectado como a Tiempo Fijo, se trató de optimizar el momento de la inseminación en relación con la detección de celo, e indirectamente con la ovulación. Los datos obtenidos fueron analizados retrospectivamente (Kmaid S. resultados no publicados).

Descripción de la metodología empleada Animales y establecimientos

En todos los casos se trató de vaquillonas holando vírgenes (n= 1739), criadas en condiciones de campo y suplementadas con concentrado, silo de maíz de planta entera o de sorgo. Las edades oscilaron entre los 13 y los 20 meses. Fueron considerados únicamente los primeros servicios, ya que los repasos fueron realizados por el personal de cada establecimiento en particular. Se incluyeron 9 establecimientos lecheros del Uruguay ubicados en diferentes zonas del país.

Sincronización de celos, detección de celos e inseminación

Los animales fueron sincronizados con doble inyección de prostaglandina separada 11 días (Día -11 y Día 0) y día (Delprostenate, Glandinex® 400 ug; Cloprostenol: Estrumate® 500 ug, Veteglan® 150 ug). Los celos fueron detectados a partir de las 36 horas de la segunda inyección hasta el día quinto día. Las detecciones de celo fueron realizadas por el

mismo equipo de trabajo en todos los establecimientos, 3 veces por día por periodos de 1 hora: Mañana 7:00 – 8:00, Mediodía: 12:00 – 13:00 y tarde 17:00 – 18:00. Se aplicó pintura de celo en la cola (40) para facilitar el aparte de las vaquillonas. Las inseminaciones fueron realizadas por 2 inseminadores experimentados en todos los casos, también en tres horarios diferentes: Mañana: 6:00 – 7:00, Mediodía: 12:30 – 13:30 y Tarde: 19:30 – 21:00. Esto permitió agrupar las vaquillonas en 2 grupos de acuerdo con el tiempo transcurrido entre la detección de celo y la inseminación: 12 y 18 horas.

Semen, descongelado e inseminación

Fue utilizado semen sexado (2.1 millones/ml) proveniente de 7 toros diferentes (GenChoi-cego®, CRI). El semen fue descongelado a

35°C por 40 segundos en un descongelador automático (Cito Thaw Unit y Thawing unit MT 30/54 Minitube). Las pajuelas fueron descongeladas de a una, secadas y montadas en el aplicador para su utilización. La inseminación fue realizada depositando toda la dosis en el cuerpo del útero.

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación fue realizado por palpación rectal, entre los 40 y los 55 días post inseminación.

Resultados

Los datos se presentan balanceando los factores Toro y Predio. En la tabla siguiente se presentan los datos de concepción obtenida (P/IA).

	Intervalo detección de celos - Inseminación					
	12 h	%	18 h	%	Total	%
Concepción*	227/508	44,7	387/744	52,0	614/1252	49,0

* Los datos incluyen aquellos toros y establecimientos que tenían los dos intervalos de inseminación. Diferentes superíndices en las filas son significativos p < 0.01.

Estos resultados concuerdan con los reportados en diversos trabajos de inseminación con semen sexado y detección de celos (51,6). También están en línea con los datos provenientes de los protocolos de inseminación a tiempo fijo con semen sexado (46,55,66) En las condiciones de este trabajo, el aplazamiento de la inseminación en relación al momento de la detección de celos, de 12 a 18 horas, mejoró la tasa de concepción en las condiciones analizadas: 44,7% vs 52,0% respectivamente. El resultado final,

49% de concepción al 1° Servicio, concuerda con los valores reportados en otras latitudes (2,11,20,27)

La detección de celos y la inseminación en tres momentos del día no resultó un impedimento en ninguno de los establecimientos para llevar a cabo el trabajo. Pese a ser una rutina más engorrosa, se obtuvo prácticamente un 7% más de concepción. La diferencia obtenida en algunos toros resultó numéricamente mayor a 10 puntos porcentuales.

	Intervalo detección de celos - Inseminación					
	12 h	%	18 h	%	Total	%
Concepción Toro I	12/28	42,8	22/37	59,4	34/65	52,3
Concepción Toro B	12/29	41,3	20/35	57,1	32/64	50,0

Lamentablemente la muestra es muy pequeña para analizar el efecto toro. La influencia del toro sobre el resultado final de la fertilidad del semen sexado ha sido descrita y puede ser significativa, tanto en los programas con detección de celo como en las IATF (9,17,18, 21, 27, 55, 57) Es factible que los toros que se ven más afectados por el proceso de sexado, se vean más favorecidos por la inseminación más cercana al momento de la ovulación (68)

La interacción entre el proceso de sexado y el toro es significativa y contribuye a la variabilidad en la fertilidad. Por lo tanto, los toros deberían ser analizados especialmente antes de ser sometidos al proceso de separación (1)

Otros factores relacionados con la inseminación y la fertilidad del semen sexado

Lugar de deposición del semen

Debido a la reducción ya comentada en la fertilidad del semen sexado en las actuales condiciones, parece lógico considerar la idea de que la inseminación más próxima al lugar de la ovulación y fertilización podría mejorar los resultados de preñez.

Verberckmoes y col. (67) utilizando un dispositivo para inseminación profunda en vacas y vaquillonas lecheras y doble propósito compararon las tasas de preñez en relación con el sitio de deposición y la concentración espermática. En ninguno de los experimentos las tasas de gestación fueron afectadas por la técnica de inseminación, el orden de inseminación, la raza del toro, la dosis (12,8,4 o 2×10^6 /ml) o el sitio de inseminación (extremo de los cuernos vs cuerpo del útero). Tampoco se obtuvieron diferencias en las tasas de preñez en vaquillonas inseminadas con semen sexado refrigerado a 5°C ($1.5, 2.5 \times 10^5$ o 2.5×10^6 millones/ml) en el cuerno ipsilateral a la ovulación vs el cuerno contralateral (58) o en ambos cuernos vs el cuerpo del útero (59)

Sin embargo, Lopez-Gatius y Camón-Urgel (36) en vacas en lactancia, reportaron que la inseminación cercana a la unión útero-tubárica ipsilateral al folículo pre-ovulatorio, con semen de alta fertilidad mejoró la tasa de preñez en un 10% comparado con la deposición en el cuerpo uterino.

Brogliatti y col. (8) utilizando semen sexado (3×10^6 /ml) en vaquillonas holando, encontraron un incremento en la tasa de gestación cuando las inseminaciones fueron realizadas en el cuerno ipsilateral a la ovulación en comparación a las inseminaciones en el cuerpo del útero. Las inseminaciones fueron realiza-

das 58 horas post remoción de un dispositivo de Progesterona. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en vacas Nelore inseminadas con semen de baja concentración ($4 \times 10^6 \pm 4,86 \times 10^3$ espermatozoides/ml) a celo detectado, 64,7% vs 44,7% para las inseminaciones en el cuerno ipsilateral al folículo dominante vs las inseminaciones intracornuales (43,44)

Tendencias recientes:

Semen sexado fresco

La interacción entre el proceso de separación y la congelación siguiente ejercen efectos multiplicativos sobre el semen sexado (62) Existe evidencia creciente de que el proceso de sexado por sí mismo no es tan nocivo como el posterior proceso de congelación (69). La utilización del semen sexado fresco puede ser una alternativa para mejorar la fertilidad en donde existen condiciones logísticas y económicas para su desarrollo. En Nueva Zelanda entre 2011 y 2013, fueron analizados más de 51.000 inseminaciones con semen sexado fresco (1×10^6 millones/ml) comparadas con 57.000 servicios con semen convencional (2×10^6 millones/ml) en vacas en lactación. Se determinaron las tasas de No Retorno (TNR) a los 24 días y los partos sobre las inseminaciones realizadas (71)

La TNR fue 69,1% vs 73,1% para el semen sexado y el convencional respectivamente. La fertilidad del semen sexado resultó ser 94,6% de la del semen convencional. El porcentaje de parición sobre los animales inseminados luego de descontar las vacas descartadas y las inseminadas y vacías, es presentado en la tabla siguiente

	2011		2012	
	Semen sexado	Semen Convencional	Semen sexado	Semen Convencional
N° Inseminaciones	14.239	17.232	31.051	31.294
IA / Partos %	51,2	54,3	49,7	52,6

Estos resultados no fueron concordantes con el ensayo realizado en Irlanda con semen sexado fresco (1×10^6 y 2×10^6 /ml) y congelado (2.1×10^6 /ml) en 394 tambos (11) En este trabajo fueron utilizados 9 toros de alta fertilidad y se inseminaron más de 15.000 animales entre vaquillonas y vacas en lactancia. Tanto en vacas como en vaquillonas el semen sexado congelado tuvo mayor tasa de concepción al 1° servicio que el semen sexado fresco (1×10^6 /ml): 42% vs 32% en vacas y 46% vs 39% en vaquillonas. Para el semen sexado fresco

2×10^6 /ml, la concepción fue de 37% en vacas y 46% en vaquillonas. En todos los casos la fertilidad fue menor, 12 a 8% en vacas y 13% a 7% en vaquillonas con respecto al semen convencional.

Nuevos avances en los sistemas de sexado

En los últimos años diversos avances y modificaciones se han incorporado en la tecnología sexado (49) Se han producido mejoras en el manejo del semen antes, durante y des-

pués del proceso de separación, de manera tal que los resultados de ensayos recientes realizados con los nuevos equipos de sexado (SexedUltra®) se muestran promisorios (69). En Estados Unidos, sobre casi 7.000 inseminaciones, la tasa de concepción fue de 41,6% para el Sexado XY y 46,1% para SexedUltra® ($P < 0,01$). También en Alemania, considerando la Tasa de No Retorno para 5 toros en 50 tambos, obtuvieron resultados positivos: 55,9% (1953 servicios) vs 59,9% (1999 servicios) y para el método XY y el SexedUltra® respectivamente. Cuando se comparó la tasa de no retorno para el semen sexado por SexedUltra® 4×10^6 espermatozoides/ml vs el semen convencional 15×10^6 espermatozoides/ml, no existieron diferencias: 66,7% y 66,5% respectivamente.

Consideraciones finales

La utilización del semen sexado en los sistemas lecheros de nuestro país es una tecnología en desarrollo. Los beneficios de su aplicación están documentados en diversos sistemas productivos. En la medida en que sean ajustadas las rutinas de inseminación como el horario de inseminación y la detección de celos, el manejo y alimentación de las vaquillonas, los cuidados en la descongelación y manejo del semen, los resultados podrán estabilizarse en torno del 50% al primer servicio. La mejora en los procesos de producción y la incorporación de nuevas tecnologías al mecanismo de separación de los espermatozoides mejoraran la fertilidad del semen sexado de manera tal de poder incorporar con resultados comercialmente aceptables las vacas en lactancia.

BIBLIOGRAFÍA

• Abdel-Azim G. Effect of synchronization and semen sorting on artificial insemination bull fertility J. Dairy Sci 2010 (93) 420-425.
 • Abdalla H, Abd El-latif M, Mahmoud Salah El-T. Fertility of Commercial Sexed Semen and the Economic Analyses of its Application in Holstein Heifers. Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2014. September (2) 9, 535.
 • Abdel-Azim G. and Schnell S. Genetic Impacts of Using Female-Sorted Semen in Commercial and Nucleus Herds J. Dairy Sci. (90)1554-1563, 2007.
 • Barbat A, Lefebvre R, Boichard D. Replication study in French Holstein and Montbeliarde cattle data. 2014. www.plosone.org/annotation/listThread.action?root=78955.

• Beavers L, Van Doormaal B. Is Sex-Biased Milk Production a Real Thing? www.cdn.ca/document.php?id=348: Canadian Dairy Network, 2014
 • Bombardelli GD, Soares HF, Chebel RC Time of insemination relative to reaching activity threshold is associated with pregnancy risk when using sex-sorted semen for lactating Jersey cows Theriogenology 2016. (85) 533-539.
 • Borchersen S, Peacock M. Danish A.I. field data with sexed semen Theriogenology 2009 (71) 59-63, 2009.
 • Brogliatti G.; Caballero J.; Cattaneo L, Cantare, Ferré L, Dallalasta M, Cerrate H, Medina, M. Primeras aplicaciones del semen sexado en Argentina. Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, 2001. 31-38.
 • Buckley F, J Mee J, O'Sullivan K, Evans R, Berry D. Insemination factors affecting the conception rate in seasonal calving Holstein-Friesian cows. Reproduction Nutrition Development, EDP Sciences, 2003, 43 (6), 543-555.
 • Butler ST, Hutchinson IA, Cromie AR, Shalloo L. Applications and cost benefits of sexed semen in pasture-based dairy production systems Animal 2014 (8) 1,165-72.
 • Butler S, Hutchinson I, Cromie A. Is there a role for sexed semen in seasonal-calving systems? Breeding Strategies for an Expanding Dairy Industry Moorepark Publications Dairy Levy Updates Series 23.
 • CABIA. Movimiento Anual de semen 2014. www.cabia.org.ar.
 • Carvalho JO, Sartori R, Machado GM, Mourão GB, Dode MAN Theriogenology. 2010. 74,1521-1530 Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in in vitro embryo production.
 • Carvalho Neto JO. Aspectos moleculares, estruturais e funcionais de espermatozoides bovinos sexados por citometria de fluxo. Tese Doutorado Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz 2013.
 • Chegini A, Hossein-Zadeh NG, Hosseini-Moghadam H. Effect of calf sex on some productive, reproductive and health traits in Holstein cows. Spanish Journal of Agricultural Research. 2015. 13(2):7.
 • Compassion in World Farming. The efficacy, economics and practices of sexed semen as a welfare - friendly herd replacement tool in the dairy industry. Report produced for Compassion in World Farming & The Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals. Compassion in world farming. 2008. www.ciwf.org.
 • Dalton JC, Nadir S, Bame JH, Noftinger M, Nebel RL, Saacke RG. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertil-

ization rate, and embryo quality in non-lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2001; 84:2413–8.

- DeJarnette JM, Leach MA, Nebel RL, Marshall CE, McCleary CR, Moreno JF. 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*. 2011. 94 (7), 3477–3483.
- DeJarnette JM, McLeary CR, Leach MA, Moreno JF, Nebel RL, Marshall CE. Effects of 2,1 and 3,5c 106 sex sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *J. Dairy Sci.* 2010 (93) 9, 4079-85.
- DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology* 2009. (71) 49–58.
- DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE, Moreno JF, McCleary. CR, Lenz RW. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci.* 2008 (91), 1778–85.
- Dransfield MB, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radio telemetric estrus detection system. *J Dairy Sci* 1998; 81:1874–82.
- Frijters ACJ, E. Mullaart E, R.M.G. Roelofs RMG, R.P. van Hoorne RP, Moreno JF, Moreno O, J.S. Merton What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology* 2009 (71) 64–67.
- Garner DL. Sex-Sorting Mammalian Sperm: Concept to Application in Animals. *Journal of Andrology*. 2001 (22) 4.
- Gosalvez J, Ramirez MA, Lopez-Fernandez C, Crespo F, Evans KM, Kjelland ME, Moreno JF. Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: I. Static features. *Theriogenology* 2011 (75) 197-205.
- Graesboll K, Kirke, by C. Nielsen SS, Christiansen LE. Danish Holsteins Favor Bull Offspring: Biased Milk Production as a Function of Fetal Sex, and Calving Difficulty. *Plos One*. 2015; 10(4).
- Healy AA, House JK, and Thomson PC. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Dairy Sci.* 2013.96 (3) 1905–1914.
- Hess M, Hess A, Garrick DJ. The effect of calf gender on Milk Production in Seasonal Calving cows and its impact on Genetic Evaluations. *PLOS one*. 2016 (11) 3 1-18.
- Hinde K, Carpenter AJ, Clay JS, Bradford BJ. Holsteins Favor Heifers, Not Bulls: Biased Milk Production Programmed during Pregnancy as a Function of Fetal Sex *PLOS ONE* | www.plosone.org 1 February 2014 | Volume 9 | Issue 2 | e86169.

- Hutchison JL, Bickhart DM. Sexed-semen usage for Holstein AI in the United States *J. Dairy Sci.* 2016 (Submitted)
- Johnson LA, Flook JP, Hawk HW. Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. 1989, *Biol Reprod* 41, 199–203.
- Johnson LA, Glenn R, Welch R, Wim Rens W. Sperm output for in vitro fertilization and AI The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sperm sorting gives improved *J Anim Sci* 1999. 77:213-220.
- Johnson LA, Welch GR. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X- and Y-sperm for maximum efficiency. *Theriogenology* 1999. 52, 1134–1323.
- Lagioia, JJ, Loguercio, JE, Young S, Basualdo M, Feula, P, Santarena A, Panarace, Medina, INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO CON SEMEN SEXADO EN VAQUILLONAS M.P. 2008. *Taurus, Bs. As.*, 10(39):22-25.
- Le Mézec P Le point sur l'utilisation de semence sexée en 2014 *Institut de L'élevage*. 2015, *L'Institut de l'Elevage*. www.idele.fr.
- Lopez-Gatius F, Camon UJ. Increase of pregnancy rate in dairy cattle after preovulatory follicle palpation and deep cornual insemination. *Theriogenology* 1988 (29)1099-1103.
- Lu KH, Seidel GE Jr. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates of bovine oocytes inseminate with flow cytometrically- sorted bovine sperm. *Theriogenology*. 2004 (62) 819–30.
- Lucena JA, Kenyon AG, Reunolds JP, Moreno JF, Lenz RW, Carroll D, Lehenbauer TW, Champagne JD, Aly SS. Comparison between low-dose, high-sort and high-dose, low-sort semen on conception and calf sex ratio in Jersey heifers and cows. *J. Dairy Sci.* 2014 (97) 1782-1789.
- Macedo G, Sá Filho MF, Vasconcellos Sala R, Mendanha M, Pires de Campos E, Pietro Sampaio Baruselli PS. The Use of Sex-Sorted Sperm for Reproductive Programs in cattle. Success in Artificial Insemination - Quality of Semen and Diagnostics Employed. 2013. (3) ISBN 978-953-51-0920-4.
- Macmillan KL, Curnow RJ. Tail Painting – a simple form of oestrus detection in New Zealand dairy herds. *N.Z Journal of Experimental Agriculture* 1977 (5) 357-61.
- Mallory DA, Lock SL, Woods DC, Poock SE, Patterson DJ. Hot topic: Comparison of sex-sorted and conventional semen within a fixed-time artificial insemination protocol designed for dairy heifers *J. Dairy Sci.* 2013 (96) :854–856.
- Maxwell WMC, Evans G, Hollinshead FK, Bathgate R, de Graaf SP, Eriksson BM, Gillan L, Morton KM, O'Brien JK. Integration of sperm

sexung technology into the ART toolbox. *Anim Reprod Sci* 2004 (82- 83), 79 -95.

• Meirelles C, Faria VR, Souza AB, Weiss RR, Segui MS, Kozicki LE. Eficiência da inseminação artificial com sêmen sexado bovino: aspectos de viabilidade reprodutiva e econômica. *Archives of Veterinary Science*. 2008. (13) 2, 98-103.

• Meirelles C, Ernandes Kozicki L, Weiss RR, Saporski Segui M, Souza A, dos Santos IW, dos Santos Breda JC. Comparison Between Deep Intracornual Artificial Insemination (DIAI) and Conventional Artificial Insemination (AI) Using low Concentration of Spermatozoa in Beef Cattle Braz. *Arch. Biol. Technol.* 2012 (55) 3, 371-374.

• Mejia-Gallego A. Avaliação das características da motilidade (CASA), morfologia e funcionalidade da membrana plasmática (HOST) de espermatozoides bovinos Sexado por citometria de fluxo. Dissertação Mestrado Universidade de São Paulo 2010 T2352 FMVZ.

• Neves KA. Efeito do intervalo entre a inseminação e a ovulação na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com sêmen Sexado. Teses Mestrado 2010 T2341 FMVZ Fac. Med. Vet. E Zootecnia São Paulo.

• 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.* 2010. 93(8), 3880-90.

• Raboisson D, Delor F, Cahuzac E, Gendre C, Sans P, Allaire G. Perinatal, neonatal and rearing period mortality of dairy calves and replacement heifers in France. *J. Dairy Sci.* 2013 (96) 2913-2924.

• Rath D, Barcikowski S, de Graaf S, Garrels W, Grossfeld R, Klein S, Knabe W, Knorr C, Kues W, Meyer H, Michl J, Moench-Tegeder G, Rehbock C, Taylor U, Washausen S. Sex selection of sperm in farm animals: status report and development prospects. *Reproduction* 2103 (145) 1741-7899 on line.

• Rorie RW, Davis AJ, Lester TD, Powell JG. Comparison of 2 estrous synchronization protocols for use with X-sorted semen in lactating beef cows *The Professional Animal Scientist* 2014 (30) 620-624

• Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Nichi M, Fosado M, Campos Filho EP, Baruselli PS. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology* 2010 (74) 1636-1642.

• Sá Filho MF, Girotto RK, Abe RK, Penteadó L, Campos Filho EP, Moreno JF, Sala RV, Nich M, and P. S. Baruselli PS Optimizing the use of sex-sorted sperm in timed artificial insemina-

tion programs for suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 2012 (90) 1816-1823.

• Sá Filho MF, Mendanha MF, Sala RV, Carvalho FJ, Guimarães LHC, Baruselli PS. Use of sex-sorted sperm in lactating dairy cows upon estrus detection or following timed artificial insemination *Animal Reproduction Science* 2013 (143),19-23.

• Saacke RG. Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology* 2008 (70) 479-84.

• Sales, JNS, Neves KAL, Souza AH, Crepaldi GA, Sala RV, Fosado M. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. *Theriogenology* 2011 76 (3), 427-35.

• Sawa A, Jankowska M, Neja W, Krezel-Zopek S. Effect of single and multiple pregnancies and calf sex on parturition process and perinatal mortality. *Ann. Anim. Sci.* 2014 (14) 4, 851-858.

• Schenk, JL, Cran DG, Everett RW, Seidel GE 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* 2004 (62), 5, 819-830.

• Seidel Jr GE, Allen CH, Johnson LA, Holland MD, Brink Z., Welch GR, Graham JK, Cattell MB. Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of non-frozen and sexed spermatozoa. *Theriogenology* 1997 (48) 1255-1264.

• Seidel, Jr., GE, Schenk JL, Herickhoff LS, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology.* 1999 (52), 1407-1420.

• Seidel Jr GE, Garner DL. Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reproduction.* 2002 (124), 733-743.

• Seidel Jr GE. Overview of sexing sperm. *Theriogenology* 2007 (68) 443-446.

• Seidel Jr. GE. Sexing mammalian sperm - Where do we go from here? *Journal of Reproduction and Development.* 2012 (58) 5, 505-508.

• Seidel Jr. GE. Ten Years of Sexed Semen in North America. *Dairy Cattle Reproduction Council Proceedings.* 2015, 77 - 82.

• Silva TV, Lima FS, Thatcher WW, Santos JEP. Synchronized ovulation for first insemination improves reproductive performance and reduces cost per pregnancy in dairy heifers. *Journal of Dairy Science.* 2015 (98) 11, 7810-7822.

• Sterry R, Brusveen D, Cabrera V, Kent Weigel K, Fricke P. Why they use sexed semen. *Hoard's Dairyman,* March 2016.

• Thomas JM, Lock, Pooch SE, Ellersieck MR, Smith MF, Patterson DJ. Delayed insemination

of non-estrous cows improves pregnancy rates when using sex sorted semen in timed artificial insemination of suckled beef cows. J. Anim. Sci. 2014 (92)1747-1752.

• Verberckmoes S, Van Soom A, Dewulf J, Thys M, de Kruif A. Low dose insemination in cattle with the Ghent device. Theriogenology 2005 (64) 1716-1728

• Vishwanath R, Moreno JF. Sperm Sexing – New Perspectives in Evaluating Male Reproductive Function. Proceedings Association for Applied Animal Andrology, 9th Biennial Conference. 2014. 61-69.

• Vishwanath R. Sexed sperm vs conventional sperm: a comparative discussion. Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle, California. 2015, August 17-18.

• Wu Z, Wu Y, Qin Y, Li X. Influences of sorting and cryopreservation on the mitochondrial membrane potential (MMP) and phosphatidylserine (PS) externalization in bovine sperm. Livestock Science. 2014 (168) 177-182.

• Xu ZZ. Application of liquid semen technology improves conception rate of sex-sorted semen in lactating dairy cows Journal of Dairy Science 2014 (97) 11.

PERSPECTIVAS PARA EL CONTROL DE *Rhipicephalus (boophilus) microplus* EN LA PRÓXIMA DÉCADA

Armando Nari Henrioud DMV, MSc.

Consultor Parasitología.

1 - MARCO GLOBAL ¿PORQUE IMPORTA LA GARRAPATA?

El sector agropecuario se encuentra actualmente enfrentado al dilema de producir más, producir mejor (inocuidad alimentaria) y además, hacerlo en forma amigable con el medio ambiente (Nari, 2011). Este dilema presenta algunas contradicciones, difíciles de resolver en tiempos de economías inestables y mercados inciertos.

En suma, ahora ya no basta, con decir que la garrapata es importante porque produce U\$D 45 millones de pérdidas anuales en Uruguay (Muzio, 2006) o U\$D 3.24 billones en Brasil (Grisi et al, 2014). Es también importante, porque atenta contra la propia sustentabilidad del sistema productivo y el mantenimiento de mercados rentables. Esto es más fácil de entender, si se piensa que casi la única herramienta eficaz que se dispone para el control de garrapatas son los compuestos químicos. Los acaricidas, son un recurso no renovable (resistencia) que cuando se utilizan indiscriminadamente, no están exentos de riesgos (residuos, contaminación ambiental, Salud Pública). Hoy más que nunca la inocuidad de un garrapaticida es considerada como multifactorial y esto incluye la seguridad del consumidor (residuos en carne / leche), seguridad del operador (toxicidad durante la fabricación y aplicación), seguridad para el

medio ambiente (contaminación) y seguridad para aquellas especies que no son objeto de control (ecotoxicidad).

La magnitud e impacto del cambio económico global es y será tan fuerte que terminará de cambiar el enfoque de la Salud Animal. Nuestro país, como fuerte exportador de carne y leche no escapa a esta realidad.. Algunos de los cambios más notorios que ya se están procesando son:

Producción animal. A escala mundial la producción de carne será doblada para el 2050 (relativo al período 1999-2001). Este incremento, tendrá como base fundamental a aves y cerdos (FAO., 2006) a través de sistemas industriales, que incorporen tecnología de punta e inversión en poco espacio. Para 2050, se estima que las carnes bovina y ovina, serán consideradas como una "délicatesse" ocupando un nicho muy exclusivo del mercado (Nari et al. 2013).

Comercio. Hoy estamos accediendo a mercados de carne y leche más rentables, pero también más variables, especializados y exigentes, en términos de Salud Pública y Animal, incluidos los residuos de pesticidas (insecticidas, acaricidas, antihelmínticos) en los alimentos. Ya se ha dado la paradoja de que, algunos países son considerados como productores de carne y leche destinados al con-