

ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE TOROS DE LA RAZA CRIOLLA COLOMBIANA BLANCO OREJINEGRO (BON)

Maritza Garcia C., 2015

INTRODUCCIÓN

Colombia es un país con una gran cantidad de razas bovinas localmente adaptadas, las cuales tienen importantes características, tanto de rusticidad como de producción, siendo potencialmente útiles para contribuir a mejorar los sistemas de producción pecuaria. De estas razas se puede resaltar el Blanco Orejinegro (BON), la cual ofrece cualidades relevantes como la resistencia a ciertas enfermedades bacterianas y parasitarias (Rodríguez et.al; 2012), adaptación a pastos de mala calidad nutricional y un gran potencial productivo en el medioambiente tropical Colombiano, de modo que al realizar cruzamientos con razas foráneas especializadas no adaptadas al trópico colombiano, se logran alcanzar niveles importantes de producción. La rusticidad de estos animales no fue aprovechada, por el contrario, con la creciente introducción de razas extranjeras, el ganado BON fue desplazado a zonas periféricas, con forrajes deficientes, evitando su buen desarrollo, en relación con las razas foráneas que cuentan con factores de hábitat favorables permitiéndoles exhibir todas sus características productivas. Muchos de los sistemas bovinos en Colombia basan la obtención de crías a la capacidad del toro en servir el mayor número posible de hembras en forma exitosa en el menor tiempo posible, lo cual se refleja en el intervalo de días abiertos, debido muchas veces a periodos de anestro en las hembras o por una baja calidad seminal en el macho, pudiendo apreciar como el toro influye considerablemente sobre la fertilidad del hato ya que de él depende la mitad de la carga genética en las crías, de acuerdo a esto se logra percibir como una baja fertilidad en el semental puede ocasionar pérdidas sustanciales en el número de crías obtenidas en un determinado periodo de tiempo (Rodríguez et.al., 2012).

Todas las ventajas comparativas del BON en el trópico están subutilizadas, pues el problema fundamental que presentan nuestras razas criollas, es la falta de conocimientos que comprueben sus grandes bondades ya que no existen estudios productivos y reproductivos suficientes, que les muestren a los ganaderos colombianos el verdadero potencial de adaptación de estas razas de indudable valor zootécnico.

Las anteriores consideraciones determinan la necesidad de llevar a cabo el presente estudio, que pretende valorar la calidad seminal en toros de la raza Blanco Orejinegro (BON), evaluando concentración, morfología y motilidad espermática, teniendo en cuenta que el semental bovino juega un papel fundamental en el establecimiento de un sistema productivo eficiente, en una zona como la provincia del Sumapáz, que es ecológica y potencialmente apta para la implementación de esta raza.

METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en la provincia de Sumapáz, departamento de Cundinamarca, veredas El Guavio y Chinauta. La primera parte del trabajo de campo se realizó en las instalaciones de la Granja La Esperanza de la UDEC con los dos toros que se encontraban en el momento y a los cuales se les realizaron todas las pruebas necesarias para obtener los valores de motilidad, morfología y concentración espermática. La colecta del toro restante se realizó en una finca familiar del sector de Chinauta. De los 3 toros evaluados de la raza Blanco Orejinegro (BON) se obtuvieron 3 eyaculados por cada uno, para un total de 9 muestras seminales. Los animales que se utilizaron

se encontraban en un peso promedio de 550 kg, con edades de 36 a 96 meses respectivamente, sometidos a un pastoreo extensivo con pasto estrella en su mayoría y suplementación con sal mineralizada a voluntad. Los estudios andrológicos se realizaron en el laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad de Cundinamarca y para la colecta seminal se utilizó una vagina artificial y un electroeyaculador.

Para el desarrollo de este proyecto se llevó a cabo inicialmente una evaluación física de los toros, donde se analizaron subjetivamente los diferentes parámetros a tener en cuenta en el momento de seleccionar un macho reproductor, como lo es la evaluación física de órganos reproductores, y evaluación de órganos genitales internos, de esta evaluación se deduce si es apto para producir un semen de buena calidad al momento de colecta que se hace mediante el electroeyaculador, para posteriormente evaluar el contenido seminal del eyaculado mediante un examen macroscópico y microscópico. Para el presente estudio se realizaron estadísticos descriptivos (Promedio, desviación estándar, mínimos, máximos), para describir el comportamiento de las variables evaluadas. Los toros no fueron sometidos a tratamientos adicionales. Estuvieron en las mismas condiciones que establece el productor, de modo que se evaluó la calidad espermática en fresco.

RESULTADOS

La evaluación de las características seminales de motilidad masal, motilidad individual, concentración espermática y morfología de los 3 toros tratados, con tres muestras tomadas cada quince días, en semen fresco para un total de 9 evaluaciones, arrojó los siguientes resultados:

Tabla 8. CARACTERÍSTICAS SEMINALES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE TOROS BON EVALUADOS

PARÁMETRO	MUESTRA 1 / DÍA: 0	MUESTRA 2 / DÍA: 15	MUESTRA 3 / DÍA: 30
CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	40 cm	38 cm	38 cm
VOL. EYACULADO	11 ml	12 ml	13 ml
MOTILIDAD MASAL	65 %	70 %	70 %
MOT. IND. PROGRESIVA	69 %	73 %	72 %
CONCENTRACIÓN	824 x 10 ⁶ / ml	946 x 10 ⁶ / ml	912 x 10 ⁶ / ml
MORFOLOGÍA (Normales)	67 %	75 %	74 %
CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	35 cm	36 cm	36 cm
VOL. EYACULADO	15 ml	16 ml	18 ml
MOTILIDAD MASAL	64 %	68 %	63 %
MOT. IND. PROGRESIVA	60 %	71 %	68 %
CONCENTRACIÓN	756 x 10 ⁶ / ml	792 x 10 ⁶ / ml	785 x 10 ⁶ / ml
MORFOLOGÍA (Normales)	65 %	72 %	69 %
CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	37 cm	35 cm	35 cm
VOL. EYACULADO	13 ml	14 ml	15 ml
MOTILIDAD MASAL	64 %	69 %	67 %
MOT. IND. PROGRESIVA	65 %	72 %	70 %
CONCENTRACIÓN	790 x 10 ⁶ / ml	869 x 10 ⁶ / ml	848 x 10 ⁶ / ml
MORFOLOGÍA (Normales)	68 %	73 %	71 %

La estadística descriptiva de los resultados que se muestra en la tabla 9 permite establecer que el valor promedio de la circunferencia escrotal fue de $36,67 \pm 1,73$ cm, el volumen del eyaculado fue de $14,11 \pm 2,15$ ml, la motilidad masal fue de $66,67 \pm 2,74$ %, la motilidad individual progresiva $68,89 \pm 4,14$ %, la concentración espermática $835,7 \pm 635 \times 10^6$ espermatozoides /ml y el promedio de la morfología $70,44 \pm 3,40\%$ normales (cuadro 9)

La CES obtenida de los toros de la raza BON se puede considerar aceptable para la raza, afirmación basada en valores obtenidos en diferentes toros de las razas criollas latinoamericanas (Delgado et al, 2000). El estudio de la circunferencia escrotal es muy importante puesto que hay una relación entre este parámetro y la concentración espermática. (Aranguren et al, 1995).

El volumen del eyaculado tuvo un promedio de $14,11 \pm 2,15$, ml valor que se encuentra entre el rango normal establecido para bovinos (3-15ml) (Madrid, 2010). Valores similares se encontraron en un reporte de toros BON (Tobon et al; 2013), en este estudio llevaron a cabo la colecta seminal en toros desde los 12 meses de edad por medio de electroeyaculador obteniendo un promedio de eyaculado de 16 ml.; en otros reportes indican valores en toros costeño con cuernos y Romosinuano (Palmieri et al, 2004) volúmenes ligeramente inferiores ($3,9 \pm 1,4$ y $3,5 \pm 1,1$ ml) a los obtenidos en BON. Es de suma importancia tener conocimiento que el VL eyaculado puede variar de un individuo a otro o entre el mismo, esto puede verse ocasionado por múltiples factores ya sea derivados del grupo genético al que pertenecen, peso, edad, época del año, método de colección, alimentación; por tanto no es ajeno conseguir estas variaciones en cuanto al VL eyaculado entre los distintos estudios. Salisbury, 1978 y col reportaron que no hay relación entre el potencial reproductivo de los toros y el volumen del eyaculado.

El valor promedio de la concentración espermática del semen fresco de los toros BON fue de $835,7 \times 10^6 \pm 635 \times 10^6$ espermatozoides/ml. (cuadro 9) esta CE se encuentra dentro del parámetro establecido para la especie bovina (800 a 2000×10^6 espermatozoides/ml) (Garner; 2000). Palmieri y col describieron CE más elevadas en toros autóctonos Colombianos Criollo Costeño con Cuerno ($1009 \times 10^6 \pm 0,6 \times 10^6$ espermatozoides /ml) y Romosinuano ($1.013 \times 10^6 \pm 0,5 \times 10^6$ espermatozoides/ml) que las obtenidas en este estudio. Las CE en el semen no afecta la fertilidad de un toro mientras no se aleje del límite inferior establecido para la especie y que conjuntamente exista un alto porcentaje de espermatozoides con rasgos normales (Amann, y Hammerstedt; 1993)

Tabla 9. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES EVALUADAS

	C.ES cm	VL cm	M.M %	M.I.P.%	C.E. (x 10⁶)	M % (normales)
MEDIA	36,67	14,11	66,67	68,89	835,7	70,44
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	1,73	2,15	2,74	4,14	635	3,40
MÍNIMO	35	11	63	60	756,0	65
MÁXIMO	40	18	70	73	946,0	75
CUENTA	9	9	9	9	9	9

C.ES: Concentración Espermática; **VL:** Volumen del eyaculado; **M.M:** Motilidad masal; **M.I.P:** Motilidad individual progresiva; **M:** Morfología % (normales).

Según los valores encontrados para la motilidad masal y la motilidad individual progresiva ($66,67 \pm 2,74$ y $68,89 \pm 4,14\%$) el semen de los toros BON pueden evaluarse como bueno, clasificación establecida por (Derivaux, 1976 y Salisbury y col, 1978)

Palmieri y col. encontraron motilidades individuales similares en toros Criollos Costeño con Cuerno y Romosinuano ($67 \pm 7,1$ y $68 \pm 8,0\%$). De las valoraciones ejecutadas para la motilidad

espermática en semen fresco la MI es la más importante, se han reportado estudios donde mencionan que hay una correlación entre el movimiento rectilíneo progresivo de los espermatozoides y la fertilidad (Christensen et al, 2004). Chenoweth y col. señalan que toros con una MI inferior a 30% no deberían ser seleccionados como futuros reproductores en centros de IA. Los toros evaluados en este trabajo están por encima del valor mínimo establecido que recomienda dicho autor. Finalmente para la evaluación de la morfología el promedio obtenido fue de $70,44 \pm 3,40\%$ espermatozoides normales; (30% anomalías) teniendo en cuenta que el valor mínimo recomendado es de 70% espermatozoides normales (Camp, 1992) podemos clasificar la muestra morfológicamente apta la cual podría estar relacionada con un resultado satisfactorio en un estudio andrológico. Madrid-Bury y col observaron valores de anomalías espermáticas inferiores al 10% en toros Criollo limonero, Aguirre y col. hallaron un porcentaje de anomalías espermáticas en toros criollo Encerado ($12,4 \pm 2\%$), mientras que Palmieri y col referencian valores levemente superiores de anomalías espermáticas en toros Criollo Costeño con Cuerno y Romosinuano ($18 \pm 7,7$ y $20 \pm 8,5\%$).

CONCLUSIONES

Se puede concluir que las características seminales que presentaron las muestras usadas en el presente estudio se encuentran dentro de los parámetros normales establecidos para la especie bovina y las reportadas en otras razas bovinas criollas colombianas. (Garner, 2000; Derivaux, 1976; Salisbury y col, 1978; Camp, 1992).

Al contrastar la medida de circunferencia escrotal con el valor de la concentración espermática, podemos confirmar como a una mayor circunferencia escrotal se obtiene una mayor concentración espermática (Aranguren et al, 1995).

Se puede resaltar como los sementales bovinos evaluados en el presente estudio mostraron características seminales óptimas a pesar que se encuentran en un ambiente con una disminuida oferta forrajera debido a los efectos climáticos del momento, además con una presencia alta de ectoparásitos y un estrés térmico elevado; condiciones ambientales que afectarían notablemente las características seminales y por ende el número de preñeces logradas por sementales bovinos foráneos los cuales presentan una deficiente adaptabilidad, evidenciando de esta forma el enorme potencial genético y productivo que ofrece la raza BON a los productores bovinos de la región.

Debido a la falta de información y conocimiento de la diversidad de razas bovinas criollas en la mayoría de los ganaderos en la región, es complicado reunir un número considerable de toros de esta raza criolla en una misma finca, pero es pertinente realizar estudios futuros en los que se involucre un número mayor de sementales bovinos, de este modo poder obtener un número considerable de resultados a comparar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agüero G, (2012). Evaluación de las características seminales de sementales bovinos mediante el analizador seminal computarizado (CASA). Universidad central de Venezuela.
2. Amann, R.P.; Hammerstedt, R.H.(1993). In vitro evaluation of sperm quality: An opinion. J. Androl. 14: 397-406.
3. Angarita E; (2000). El uso del ultrasonido en pruebas de fertilidad en los toros. El Cebú 314: 59-66

4. Amann, R.P., Seidel, G.E., Mortimer, R.G., (2000). Fertilizing potencial in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with aproximal droplet. *Theriogenology*. 54 (9), 1499-515.
5. Aranguren-mendez, J.A.; Madrir-bury, N.; Gonzalez-stagnaro, C.; Rincón, E.; Ramirez, L.; Quintero-moreno, A. (1995). Pubertad en toretes 5/8 Holstein y 5/8 Pardo Suizo. *Rev. Fac. Agro. (LUZ)*. 12: 393 - 407.
6. Arboleda O. (1980) El ganado Blanco Orejinegro. *Suplemento ganadero*. (1):42.p
7. Barth ad, alisio L et ál. (2008); Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality; *anim reprod sci*; 106: 274288
8. Barth, A.(1989). Anormal morfology of bovine espermatozoa. Iowa St. University Press.
9. Barth, A. D. (1995).Bull Breeding Soundness Evaluation western Canadian asociation of borne practitioners. Dep. Herd Medicine and Theriogenology, University of Saskatchewan. Saskatoon, Canada.
10. Barth A.(2006). Looking for alternative methods of sêmen collection in bulls. *Foundation for animalcare Saskatchewan Newsletter*. University Press. Animal Reproduction. Pp.: 61-81.
11. Barth, A.D., Oko, R.J.,(1989). *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press.
12. Bloom, A. (1977). Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa State
13. Bloom, E., (1977). Sperm morphology with reference to bull infertility. *First All-India Symp. Anim. Reprod.* pp: 61-81.
14. Boggio J, (2008). Evaluación de la aptitud reproductiva potencial y funcional del toro, capacidad del servicio. Instituto de reproducción animal. Universidad Austral de Chile.
15. Botero F.M. (1979) El ganado Blanco Orejinegro. Razas Criollas Colombianas. ICA, Manual de Asistencia Técnica No 21.
16. Brito LF, (2002). Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* ai bulls in Brazil. *Anim reprod sci* (3-4): 181-90.
17. Brinks, J.S;(1981). Circunferencia Escrotal y su Utilidad Potencial. *An. Soc. Cr. Her. del Uruguay* p. 31-33.
18. Buitrago S. y Gutiérrez. I. (1999). Potencial genético y productivo del ganado Blanco Orejinegro (BON). En: *Censo y caracterización de los sistemas de producción del ganado criollo y. Colombiano*. 65 - 74p.
19. Castellanos J. (1986). comparación de la calidad del semen por dos métodos de obtención y el efecto en el toro al uso continuo de electroeyaculador. Tesis de grado (Médico Veterinario) Universidad Nacional de Colombia. Facultad de veterinária Bogotá, Vol 214.
20. Camp S, (1992). Ancillary test for assesment of the reproductive system. En: *veterinary clinics of north America: food animal practice* , vol8, No 2.
21. Chenoweth PJ. (2007).Influence of the male on embryo quality.*Theriogenology*; 68 (3): 308-15.
22. Chenoweth PJ, Chase CC Jr et ál; (2000). Characterization of gossypol-induced sper Abnormalitie in bulls. *Theriogenology*.53 (5): 1193-203.
23. Christensen, P.; Stenvang, J.; Godfrey, W.L (2004). A flow cytometric method fo rapid determination of sperm concentration and viability in mammalian and avian semen. *J. Androl*. 25: 255-264
24. Colmenares C (1961) Investigaciones genéticas sobre el ganado colombiano BON. Universidad de Caldas, Manizales. *Revista de veterinaria y Zootecnia*; 5: 40-73.
25. Delgado, C.; Valera, M.; Molina, A.; Jiménez, J.;Rodero, A.(2000). Circunferencia escrotal como predictor de la capacidad reproductiva en razas de vacuno de carne autóctono: Curva de crecimiento en el vacuno Retinto. *Arch. Zoot*. 49: 229-240.
26. Derivaux, J. (1976).Reproducción de los animales domésticos, segunda edición, editorial Acribia, España. . Págs. 139 – 166.

27. Dufau ML, Tinajero JC et ál; (1993). Corticotropinreleasing factor: an antireproductive hormone of the testis. *FaseB J.* 7 (2): 299-307.
28. Echeverry J. (2003) Las Situaciones de Estrés en los Toros: Efectos en la Reproducción. *El Cebú* N° 331 pag. 52-57.
29. FEDEGAN, ICA, PRONATA y ASOBON. (1999) Censo y caracterización de los sistemas de producción de ganado criollo y colombiano. 13-64.
30. Fields MJ, Cornelisse KM (1982). Aspects of the sexual development of Brahman versus angus bulls in Florida. *Theriogenology*; 18: 17-31.
31. Garner, D.L.; Hafez, E.S (2000). Espermatozoides y plasmasesimal. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. ES. Hafez (Ed). 7maEd. Editorial McGraw Hill Interamericana, México. Pp 3-12.
32. Garner, D.L., (1997). Ancillary tests of bull semen quality. *Bull Infertility. Veterinary clinics of north america: Food Animal Practice*. Vol. 13(2), 313-33.
33. Gran, D.G., Dott, H.M., (1976). The ultrastructure of knobbed bull spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 47 (2), 407-408
34. Gutierrez M. (1993). El BON como base de cruzamiento, gran alternativa de carne y leche en el Trópico. *Apertura y Desarrollo*. p 14-16.
35. Gutierrez, W. (2003). Situación de los recursos zootécnicos. Bogota D.C: ministerio de agricultura y desarrollo rural.
36. Hafez, E. S. Hafez, E. B.(2000). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Séptima edición. Editorial McGraw Hill, México.
37. Hafez, E.S.E; Hafez, .B.(2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7 ed. México. p. 375-386
38. Hafez, E. S. (1989) *Reproducción en inseminación artificial en animales*. Quinta edición, Editorial interamericana McGraw Hill, México. . Págs. 506 – 513
39. Herthnek d, englund s, Willemsen PTJ .(2006). sensitive detection of subsp. in bovine semen by real-time PCr
40. Hidalgo, C; Tamargo, C; Diez, C. (2005). Análisis del semen bovino. Asturias, España. *Información ganadera*. 39Boletín Informa- tivo SERIDA. No. 2. p. 39-43.
41. Howard, T.H., Pace, M.M., (1998). Seminal evaluation and artificial insemination: Fertility and Infertility in Veterinary Practice. Eds: Laing, J.A., Morgan, W.J., Wagner, W.C., Bailliere Tindall. London. U.K., 39-51.
42. Jaime Tobon, Jorge Neiras, Sandra Cordoba , Juan Guillermo Mladonado, Luis emilio Trujillo (2013). Determinación de la edad y peso al inicio de la pubertad en machos de la raza criolla colombiana BON. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica.
43. Januskauskas, A., Žilinskas, H., (2002). Bull semen evaluation post-thaw and relation of semen characteristics to bull's fertility. *Veterinarija ir Zootechnika* 17 (39).
44. Lozano H, Jiménez C;(2007). seguimiento de la circunferencia escrotal, calidad seminal eco textura testicular en toros Brahman entre 18 y 24 meses de edad. *Memorias vii Simposio internacional de reproducción animal*. Córdoba, argentina.
45. Lozano H, (2009). Factores que afectan la calidad seminal en toros. Clínica de la reproducción Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, sede Bogotá. Universidad Nacional de Colombia.
46. Madrid-Bury, N (2010). Manejo y determinación de la aptitud reproductiva del toro. En: *Selección y manejo de machos bovinos*, N. Madrid-Bury (Ed.) Ediciones Astro Data SA. Fundación GIRARZ, Maracaibo-Venezuela. Pp 147-160.
47. Madrid Bury, N; Bohada, E. (1993). Características de un buen reproductor bovino. *FONAIAP Divulga*. No. 44.
48. Martínez CG. (1989). El BON, Ganado Criollo Blanco Orejinegro. Folleto ICA.

49. Moreno A; Alcazar H; Guasca J (2012). Buenas prácticas de manejo en reproducción: manejo ecológico sostenible y uso adecuado de los sistemas silvopastoriles, mejoradores de las condiciones ambientales y nutricionales para animales inmersos en el sistema. Universidad de Cundinamarca. Sede Fusagasugá.
50. Morillo, M; Salazar, S; Castillo, E. (2012). Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. Maracay, VE, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 60 p.
51. MORROW, D. A. (1986). Current. Therapy in Theriogenology diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. Editorial Saunders Company, Filadelfia, Págs. 132 – 136
52. Munévar M (1990). Blanco Orejinegro, Clave para Cruces. Carta Ganadera; Bogotá – Colombia.
53. Nichi M, Bols Pe. (2006) seasonal variation in semen quality in Bos indicus and Bos Taurus bulls raised under tropical conditions. Theriogenology ; 66 (4): 822-828.
54. Nothling, J.O., Arndt, E.P (1995). Fertility of two bulls with poor sperm morphology. J. S. Afr. Vet. Assoc. 66 (2).
55. Palmierl, R.; Daladier, S.; Amado, E.; Marco, G.; Esperanza, P. (2004). Variables seminales en toros Criollos Colombianos Costeño con Cuernos y Romosinuano. MVZ-Córdoba. 9(1): 381-385.
56. Paparella, (2001). Giuliano. Salud Genital - Calidad seminal. V Seminario Internacional de Reproducción Bovina.
57. Prosean, (2015). Estructuras reproductivas del macho.
58. Rodríguez Romero, E., y Perez Leal, J.C.(2012). Efecto de la suplementación con grasa sobrepasante sobre calidad seminal en reproductores bovinos. Fusagasugá: UDEC.
59. Rodríguez-Martínez, H., (1999). Nuevas técnicas de evaluación de la fertilidad en el macho. II Congreso Ibérico de Reproducción Animal. pp: 302-316.
60. Rosemberger, G.(1981). Exploración clínica de los animales domésticos. Zaragoza Hemisferio Sur.p.12-22.
61. Saacke, R.G., J. Bame, C.J. Vogler, S. Nadir, and J. Mullins. (1992). Association of sperm nuclear vacuoles (craters) with failure of sperm to sustain embryonic development after fertilization in cattle. J. Anim. Sci. 70: (Suppl. 1):256.
62. Salisbury, G; Van Demark, N; Lodge, J.(1978) Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. Ed. Freeman.
63. Salisbury, GW., Van dermark N. L. y Lodget J. R, (1974). Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovinos. Editorial W. H Freeman and company. Estados Unidos. Págs. 209 – 283.
64. Salisbury, GW; Van Demark, NL; Lodge, JR. (1982). Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bóvidos. 2 ed. Zaragoza, España. Acribia. p. 419-565
65. Sataffe, A.I. (1956). Granja experimental pecuaria E/ Nus.Agricultura tropical.(Col) 7: 471.
66. Vera Muñoz, O.(2001). Técnicas de laboratorio para la evaluación del semental bovino. Seminario Internacional sobre biotecnología y patología reproductiva del bovino Maracay, VE. IRAIA, FCV, UCV. p. 504-508.
67. Younquist R S. (1997). current therapy in large animal theriogenology