

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

**YENNI MARITZA GARCÍA CASALLAS**

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE ZOOTECNIA  
FUSAGASUGÁ  
2016**

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

**Proyecto de trabajo de grado opción  
investigación, presentado como  
requisito parcial para la obtención del  
título de Zootecnista.**

**DIRECTOR**

**JEHISON TORRES TORRES  
MV. U La Salle**

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE ZOOTECNIA  
FUSAGASUGÁ  
2016**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

**Jurado  
VILMA MORENO MELO**

---

**Jurado  
LUIS A. BOCANEGRA MORENO**

## DEDICATORIA

A Dios Todo Poderoso por brindarme la oportunidad de culminar mi pregrado.

A mi madre querida Marleny por su gran apoyo, esfuerzo y dedicación, por haberme apoyado en todo momento con sus consejos y sus valores, por la motivación constante, por ser un gran pilar en mi vida.

A mi padre Victor por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizaron siempre, por el valor mostrado para salir adelante, que desde el cielo siempre ha sido mi gran motivación.

A mis hermanos Martha, Andrés y Yeimy por su inmenso apoyo.

A mi novio por la paciencia y el gran apoyo que me brinda. Y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Gracias a ustedes!

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecerle a Dios y mamita María por la vida, por las bendiciones que recibí a lo largo de mi carrera y por permitirme culminar este gran sueño.

A la Universidad de Cundinamarca por permitirme estudiar y ser una profesional.

A mi director de tesis Jehison Torres por su dedicación, sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y quien me apoyo en este proceso.

A mis compañeros de carrera, a los docentes que hicieron parte de mi formación académica, a las personas que de una u otra manera me apoyaron, a todos ellos quiero agradecerles por su apoyo.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
RESUMEN	10
ABSTRAC	11
INTRODUCCIÓN	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo general	13
2.2 Objetivos específicos	13
3. MARCO REFERENCIAL	14
3.1 Características generales de la raza	14
3.2 Características morfológicas de la raza	14
3.3 Habitat y población	14
3.4 Características productivas y reproductivas	15
3.5 Evaluación y fertilidad del toro	15
3.6 Evaluación de órganos genitales externos	15
3.6.1 Pene y prepucio	15
3.6.2 Escroto	16
3.6.3 Testículos	16
3.6.4 Epidídimo	16
3.6.5 Cordón espermático	16
3.7 Evaluación de órganos genitales internos	16
3.8 Evaluación funcional de la libido y prueba de capacidad de servicio	17
3.9 Condición corporal	18
3.10 Factores que alteran índices de calidad seminal	18
3.10.1 Infecciosos	18
3.10.2 Infecciosos no virales	19
3.10.3 No infecciosos	19
Factores medioambientales	19
Raza	19
Edad	19
Nutrición	19
Estrés	20
3.11 Circunferencia escrotal	20
3.12 Técnicas de recolección y manejo del semen	21
3.12.1 Vagina artificial	21
3.12.2 Masaje transrectal	22
3.12.3 Electroeyaculador	22
3.12.4 Colecta del semen	22
3.13 Protocolo de evaluación del semen	25
3.13.1 Volumen	25
3.13.2 Color	25
3.13.3 Olor	26
3.13.4 Aspecto	26
3.13.5 Cuerpos extraños	26

3.13.6 Densidad	26
3.13.7 Densidad macroscópica	26
3.13.8 Motilidad masal microscópica	26
3.13.9 Motilidad individual	27
3.13.10 Concentración	28
3.13.11 Características físico químicas	28
3.13.12 Frotis	28
Coloración vital	29
Morfología espermática	29
Alteraciones morfológicas	29
Vitalidad espermática	32
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
4.1 LOCALIZACIÓN	32
4.2 MATERIALES	
4.3 METODOS	
Colecta del semen	32
4.3.2 Características microscópicas	33
4.3.3 Motilidad masal	33
4.3.4 Motilidad individual	33
4.3.5 Vitalidad	33
4.3.6 Morfología	33
4.3.7 Concentración espermática	33
4.3.8 Análisis estadístico	34
<b>5. RESULTADOS</b>	36
<b>6.CONCLUSIONES</b>	37
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Pág.</b>
1. Promedio de la circunferencia escrotal en toros de acuerdo a los rangos de edad	21
2. Evaluación de la apariencia del semen	25
3. Densidad macroscópica con base en número de espermatozoides	26
4. Escala motilidad	27
5. Escala motilidad individual progresiva	28
6. Concentración espermática en bovinos	28
7. Morfología espermática	29
8. Resultados de las características seminales macroscópicas y microscópicas de toros BON evaluados	34
9. Estadística descriptiva de las variables evaluadas	35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
1. Evaluación de los genitales internos en el macho bovino	17
2. Medición de la circunferencia escrotal	21
3. Vagina artificial	22
4. Electroeyaculador y materiales necesarios para la colecta de semen	23
5. Preparación del macho para la recolección vía electroeyaculador	23
6. Lubricación e introducción del electroeyaculador para inicio de impulsos Eléctricos	24
7. Recolector espermático y tubo graduado para la recolección de semen	24
8. Evaluación de motilidad masal: gota de semen en portaobjetos y visualización microscópica en 100X	27
9. Alteraciones morfológicas de la cabeza	30
10. Alteraciones morfológicas	31

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la calidad del semen fresco en toros raza Blanco Orejinegro (BON) se colectaron muestras seminales de 3 toros, tres muestras tomadas cada quince días, para un total de 9 evaluaciones mediante electroeyaculador, los cuales tenían un peso promedio de 550 kg, y edades de 36 a 96 meses. Los datos se caracterizaron mediante estadística descriptiva. Los parámetros evaluados correspondieron a la circunferencia escrotal (CES) volumen del eyaculado concentración espermática (CE) calculada mediante la cámara de Newbawer, motilidad masal (MM), motilidad individual progresiva (MIP) y morfología (M% espermatozoides normales) se calcularon mediante la tinción de Eosina-nigrosina por observación microscópica. El valor promedio de la CE fue de  $36,67 \pm 1,73$  cm; el VL del eyaculado fue de  $14,11 \pm 2,15$  ml, la MM fue de  $66,67 \pm 2,74$  %, la MIP  $68,89 \pm 4,14$  %, la CE  $835,7 \pm 635 \times 10^6$  espermatozoides /ml y el promedio de la M  $70,44 \pm 3,40$  % normales. Todos los valores se encuentran dentro de los parámetros de calidad seminal establecidos en la especie bovina, incluyendo otras razas bovinas criollas. Por tanto el semen de BON evaluado en el presente estudio estaría apto para ser criopreservado ya que presenta óptimas características fertilizantes.

Palabras clave: Blanco orejinegro, semen fresco, calidad seminal, razas criollas.

## ABSTRACT

In order to evaluate the quality of fresh semen in bulls White Orejinegro (BON) 3 bulls semen samples were collected three samples taken every two weeks, for a total of 9 evaluations by electroejaculator which had an average weight of 550 kg, and ages of 36-96 months. The data characterized using descriptive statistics. The parameters evaluated were for scrotal circumference (CES) volume of ejaculate sperm concentration (CE) calculated by Newbawer, mass motility (MM), and progressive individual motility (MIP) and morphology (M% normal sperm) were calculated using eosin-nigrosin staining for observation microscópica. The CE average value was  $36.67 \pm 1,73$ cm, the VL of the ejaculate was  $14.11 \pm 2.15$  ml, MM was  $66.67 \pm 2.74\%$  MIP  $68.89 \pm 4.14\%$ , the CE  $835.7 \pm 635 \times 10^6$  spermatozoa / ml and the average of  $70.44 \pm 3.40\%$  M normal. All values are within the parameters established in semen quality bovine, including other native cattle breeds. Therefore BON semen would be suitable for cryopreservation.

Key words: White Orejinegro, fresh semen, semen quality, landraces.

## 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.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

- Evaluar características seminales macroscópicas y microscópicas en toros de la raza Blanco Orejinegro (BON), ubicados en la región del Sumapáz.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analizar la motilidad masal en las muestras seminales de los toros BON usados en el estudio.
- Valorar la motilidad progresiva individual espermática en las muestras seminales de los toros BON usados en el estudio.
- Evaluar la concentración espermática en las muestras seminales de los toros BON usados en el estudio.
- Analizar la morfología espermática en las muestras seminales de los toros BON usados en el estudio.

## MARCO REFERENCIAL

### 3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA RAZA

Cuando hacemos referencia a un animal de la raza BON, estamos indicando un animal con las siguientes características fenotípicas: piel negra en todo el cuerpo con pelaje blancos sobresalientes exceptuando las orejas y las extremidades.

El BON tiene una serie de características que lo destacan haciéndolo representativo entre las razas criollas por su rusticidad, adaptabilidad y amplia docilidad. (Botero, 1979). Son muy hábiles para el aprovechamiento de pastos con altos contenidos de celulosa, este ganado ha demostrado el sostenimiento alimenticio de fuentes bajas en contenidos minerales por ende bajo contenido nutritivo. (Martínez, 1989).

La gran capacidad de aprovechamiento en cuanto al consumo de pastos rudos, y las excelentes capacidades digestivas y fisiológicas han sido unos de los temas por los cuales se ha promovido el manejo de este ganado en hatos ganaderos. En cuanto a las hembras de la raza BON, se dice que tienen alta tasa de fertilidad similar a las de otras razas lecheras, intervalo entre parto aproximada a los 12 meses, capacidad pélvica y muy longeva puesto que se presentan casos de crías a los 15 años, habilidad materna semejante a otras razas (Botero, 1979).

En los machos BON se ha encontrado que son más precoces que las hembras, el inicio de la pubertad oscila entre 14 y 16 meses con pesos promedio de 208 a 232 kg. Evidencias presentadas en estudios de campo sugiere que un macho de la raza BON consigue un mayor servicio que un toro Holstein. (Munévar, 1990)

Esta raza es muy característica por la relevancia que tiene en cuanto a la resistencia ectoparásitos, principalmente a garrapatas y moscas como la *Haematobia irritans* (nuche) y así mismo presenta una baja inflamación en el momento de reacción frente al nuche, estas características se dice que son de carácter hereditario por medio de los componentes dominantes (Colmenares, 1961). El mejor registro característico del ganado BON mencionado en algunas investigaciones es la excelencia en sus aplomos (presentando corvejones finos, cuadrillas rectas y muy limpias y cascos proporcionados al tamaño del animal) (Arboleda, 1980).

### 3.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA RAZA

Se puntualiza la conformación del BON como un ganado con considerable variabilidad, encontrando animales desde finos a carnosos y pesados, en general no es una raza armónica, y se le critica sobre todo el tamaño excesivo de la cabeza. Tiene dorso ensillado, anca caída, inserción alta de la cola, pecho estrecho, poca anchura de riñón, estrechez de isquiones, falta de refinamiento, poca capacidad abdominal, ubres defectuosas (Gutiérrez, 1993).

Tal vez estos defectos presentes en el BON son compensados por algunos caracteres importantes como lo es la inserción de la cola por ende una amplitud en la pelvis el anca caída y el dorso ensillado, le permiten circular por terrenos quebrados y tallados (Buitrago; et.al, 1999).

### **3.3 HABITAT Y POBLACIÓN**

El habitat de la raza blanco Orejinegro (BON) se encuentra principalmente distribuida en la zona de las cordilleras occidental y central en alturas alcanzadas entre 800 y 1800 m.s.n.m. refiriéndose cafetera de Colombia, la cual está representada en 122000 km<sup>2</sup> del territorio colombiano. Geográficamente esta zona clasificada en bosque húmedo y bosque húmedo tropical, así encontrando suelos ácidos y por ende suelo poco fértiles. (Arboleda, 1980)

La raza BON fue poco trabajada en los temas referentes a los parámetros productivos y reproductivos. El inventario promedio del ganado BON es de aproximadamente 2866 cabezas de ganado puro, el 12.21% de cabezas criollas del país, del total de la población 1296 animales son encontrados en la zona cafetera, 799 en Antioquia y 136 en Caldas. Conforme a la clasificación de especies en vía de extinción de la FAO, esta es una las razas criollas que se encuentra en un estado vulnerable (entre 1000 y 5000 hembras y relación hembras: macho de 50:1). (FEDEGAN 1999).

### **3.4 CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y REPRODUCTIVAS**

La raza BON en algunas ocasiones tiende a producir más leche o más carne, siendo sus parámetros productivos inferiores a las razas foráneas especializadas. La raza BON se considera una raza criolla de doble propósito y cuenta con un buen potencial biológico para el cruzamiento con razas de carne y leche. (Munévar, 1990).

La integración de la raza criolla, con buenos parámetros reproductivos y su estupenda adaptación a los entornos del trópico y la raza con excelentes parámetros productivos unidos constituyen un hecho importante al momento de la sobrevivencia en trópico.)Esta raza presenta periodos de gestación promedios de 283 días de gestación. (Buitrago; et.al, 1999) Edades al primer servicio y al primer parto de 33.5 meses. Según Staffe (1956) la fecundidad del BON es alta, reporta 85 a 88%ídi

### **3.5 EVALUACIÓN Y FERTILIDAD DEL TORO**

Según (Echeverry, 2003) es muy útil detectar reproductores cuyo potencial se aleje sustancialmente de los ejemplares óptimos para preñar en el hato. Por medio de ello podemos eliminar animales estériles o infértiles, que cuando se utilizan en sistemas de empadre múltiple podrían estar enmascarados en el trabajo de aquellos más infértiles y permanecer allí agazapados en el trabajo de los toros.

Para esto se lleva a cabo un examen del aparato reproductor donde se evalúan órganos sexuales externos como: el pene y prepucio, escroto, testículos, epidídimo y un examen transrectal para examinar órganos sexuales internos como vesículas seminales, próstata y ámpulas del conducto deferente (Morillo M; et al. 2012).

### **3.6 EVALUACIÓN DE ÓRGANOS GENITALES EXTERNOS**

**3.6.1 Pene y prepucio:** Órgano copulador que tiene el macho al cual se le debe realizar una evaluación anatómica y practica; en la evaluación anatómica corresponde a la identificación de heridas, inflamaciones o traumas. En la práctica corresponderá a los mecanismos de erección, exteriorización y reintroducción del pene, patologías y mucosas. El prepucio se evalúa al instante en que se realiza la evaluación del pene esto con el fin de descartar la aparición de heridas, adherencias, hematomas, aumento de temperaturas, aumento de tamaño, deformaciones y secreciones. La mucosa en cuestión de prolapso prepucial y la evaluación del orificio prepucial se lleva a cabo introduciendo tres dedos para descartar lesiones en la zona. (Morillo M; et al. 2012)

**3.6.2 Escroto:** El estudio de este órgano nos permite saber el estado de los testículos. El escroto debe ser simétrico, pues esta es un gran reflejo de las diferencias testiculares. Se observa la piel la cual debe estar sin ningún tipo de lesiones, cicatrices inflamación, heridas y sensibilidades que pudiesen comprometer la salud de los testículos. Tanto las razas Bos indicus como razas Bos taurus muestran mecanismos de adaptación a medios tropicales lo cual se traduce en escrotos muy pendulosos, convirtiéndolos en susceptibles a lesiones por traumatismos. (Morillo M; et al. 2012)

**3.6.3 Testículos:** En los machos son los órganos genitales más importantes debido a que en este lugar se originan los espermatozoides, en estos se da la producción de testosterona, la cual es muy importante en el proceso de espermatogénesis, comportamiento sexual, crecimiento genital y corporal. Cuando el testículo muestra características duras o fibrótica es un indicador de la presencia de procesos inflamatorios, mientras que si muestra consistencia muy blanda es símbolo de alteraciones en los procesos de espermatogénesis. Los animales que presentan problemas de descensos de uno o ambos testículos son llamados criptorquídicos, estos animales deberán ser descartados de nuestra producción puesto que este factor es hereditario. En el caso de animales de edades adultas es probable que se relacione con una degeneración testicular, esto puede corroborarse al momento de realizarse la evaluación seminal, puesto que por medio de esta es posible dar un diagnostico a problemas presentes y poder dar soluciones a los mismos. (Morillo M; et al. 2012)

**3.6.4 Epidídimo:** Esta evaluación se debe hacer mediante una palpación en el preciso momento de la evaluación de los testículos. El lugar de almacenamiento de los espermatozoides producidos por los testículos es el epidídimo, así mismo en este lugar se produce la maduración espermática y adquisición de la capacidad potencial para fertilizar. Este miembro esta adosado en cada testículo, estando conformado por: cabeza, cuerpo y cola (Morillo M; et al. 2012).

La cabeza de este órgano se ubica en la parte posterior del testículo y se debe hacer una evaluación tenso-firme-elástica. Se continúa con el cuerpo del epidídimo, el cual se localiza en la cara del dorso lateral de la glándula, la cual debe palpase haciendo una evaluación de tamaño, ubicación, consistencia y forma, el final de la evaluación se da por terminada en la cola, la cual por lo general debe ser firme. Algunos animales después de la colecta seminal o el servicio puede que presenten a la Palpación la porción de la cola con menos firmeza. En cuanto a los machos reproductores que tiene inhibida la producción de espermatozoides o en casos de presentar oligospermia, la cola presenta características planas y consistencia blanda en el momento de efectuar la palpación, agregándole a esto se debe buscar en la palpación anomalías tales como: engrosamientos, malformaciones, aplacías, inflamaciones.( Haffes, 2002)

**3.6.5 Cordón espermático:** Estructura conformada por vasos sanguíneos y linfáticos, músculos, nervios, conducto deferente y musculo cremaster, su ubicación se encuentra en el polo dorsal del testículo y su palpación se puede hacer cerca del canal inguinal. Las anomalías más comunes encontradas son: aplasia segmentaria de los conductos de Wolff, hernia inguinal y procesos inflamatorios de diversa etiología (Cita bibliográfica).

### 3.7 EVALUACIÓN DE ÓRGANOS GENITALES INTERNOS

Cuando se habla de los órganos genitales internos se hace referencia a las glándulas sexuales accesorias, dicha evaluación se lleva a cabo por medio de la palpación rectal y ultrasonografía. Al iniciar el examen, en el piso de la cavidad pélvica se encuentra la uretra pélvica, la cual se siente como un objeto firme, cilíndrico y aplanado dorso aproximadamente de tres a cuatro centímetros de diámetro (Morillo M; et al. 2012).

En el sector anterior de la uretra pélvica se encuentra una elevación de contorno triangular llamada próstata, la cual se puede sentir en la palpación solo en la porción del cuerpo, esto debido a que el resto de la glándula se encuentra camuflada entre algunos tejidos musculares que cubren la uretra pélvica. ( Figura 1)

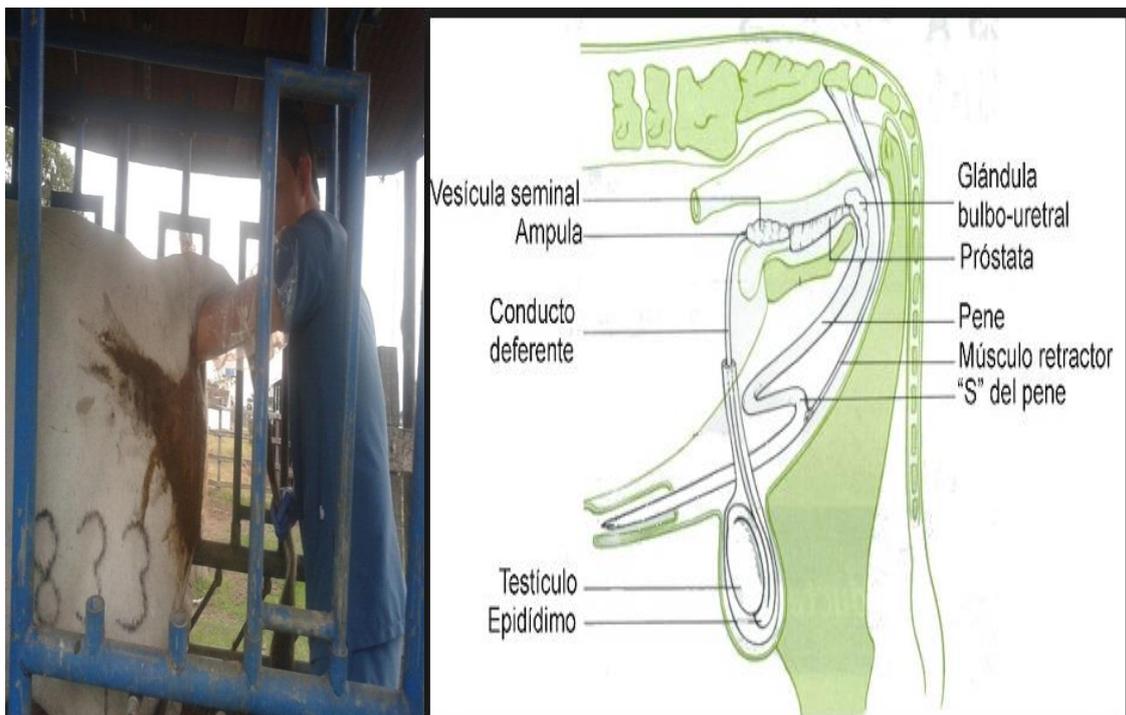


Figura 1. Evaluación de los genitales internos en el macho bovino  
Aptado de (Prosegan, 2015)

Las vesículas seminales, tiene forma lobulada, su palpación se puede obtener al colocar la mano desde la parte anterior de la uretra pélvica y llevado a cabo movimientos suaves laterales. De acuerdo con la raza y a edad del animal- las dimensiones varían, esta es una estructura de 10 a 15 centímetros de largo aproximadamente y de ancho dos a tres centímetros (Morillo M; et al. 2012)

En los machos de baja edad las glándulas son poco lobuladas el desarrollo es un índice de la función testicular, esto se debe a que las glándulas accesorias son andrógeno- dependientes (Morillo M; et al. 2012)

### **3.8 EVALUACIÓN FUNCIONAL DE LA LÍBIDO Y PRUEBA DE CAPACIDAD DE SERVICIO**

El libido sexual en el macho tiene como definición el deseo o apetito de montar a la hembra, y la habilidad copulatoria se expresa como la capacidad del macho para completar el servicio. Durante la evaluación funcional se debe prestar vigilancia a cada serie de características sexuales expresadas por el macho, esto con el fin de determinar si hay presencia o no de alguna patología que dificulte un servicio exitoso. (Madrid N; 1993).

El modo en que el macho realiza el acercamiento y contacto con la hembra, desenvuelve una serie de reacciones fisiológicas, los cuales necesitan de una gran coordinación por parte del animal, en la evaluación de la capacidad del servicio, se estudia el comportamiento sexual del macho, entre estos:

- Búsqueda y detección
- Excitación
- Flehmen
- Erección y protrusión del pene
- Monta penetración con o sin eyaculación
- Eyaculación y desmonta.

Otros de los importantes factores a tener en cuenta es el periodo refractario o de latencia que se basa en el tiempo transcurrido entre una eyaculación y la subsiguiente, y el tiempo de reacción que se define como el tiempo que transcurre desde que el macho entra en contacto con la hembra y se da la primera eyaculación (Madrid N; 1993).

### **3.9 CONDICIÓN CORPORAL**

La condición corporal del bovino se basa en un indicador de la cantidad de grasa que posee acumulada como resultado al aporte del tema de la nutrición que se le está suministrando con el alimento, etapa reproductiva en la que se encuentre y su estado sanitario.(Moreno A; 2012).

En los machos es una valoración importante que además de crear una imagen del balance nutricional, nos facilita utilizar esto como indicador de la capacidad reproductiva. La evaluación que se da a la condición corporal se basa esencialmente en dos escalas, de 1 a 5 o 1 a 9. Estos resultados los dará una persona con conocimiento en el tema, hay otros indicadores a tener en cuenta como lo son: raza y finalidad (carne, leche o doble propósito).

Esta valoración desarrollada a los animales de la finca, son una herramienta básica que al ser bien desarrollada facilita la toma de decisiones de animales viables o no para reproducirse. (Moreno A; 2012).

### **3.10 FACTORES QUE ALTERAN ÍNDICES DE CALIDAD SEMINAL**

La calidad de semen puede verse afectado por varios motivos, ya sean de tipo infeccioso o no infeccioso. Tener conocimiento de que tipo de afectación presenta es de suma importancia puesto que de esta manera se pueden tomar decisiones correctivas ya sean para hacer un tratamiento al toro o para sencillamente ser descartado del sistema que hace parte. Son múltiples los motivos que llegan a afectar la calidad seminal en toros; tener muy presente que estos factores llegan a afectar tanto el plasma seminal y/o espermatozoides. (Lozano H, 2009)

#### **3.10.1 INFECCIOSOS**

VIRAL: por lo general los virus se han detectado en la zona testicular, encontrando lugar apto para su desarrollo, la barrera hemano-testicular puesto que en esta zona evitan los mecanismos de defensa o tratamientos que se pueden hacer para su pronta eliminación, lo cual lleva al testículo a ser el principal reservorio de agentes infecciosos.(Chenoweth P,2007).

#### **3.10.2 INFECCIOSOS NO VIRALES**

Los microorganismos no virales y que llevan a algún tipo de alteración en el semen son los *Mycobacterium*, apartado por el semen y separado de órganos reproductivos en toros infectados (Herthnek; 2006).

#### **3.10.3 NO INFECCIOSOS**

##### **FACTORES MEDIO AMBIENTALES**

Uno de los factores más comunes es el estrés calórico, agregando a la humedad, conllevan a que el toro no exprese los mecanismos de termorregulación en equilibrio permitiendo que la calidad seminal se vea afectada. Se ha reportado que la lluvia y la temperatura ambiental están armonizadas positivamente con el número de anomalías espermáticas a una temperatura mayor a 31°C. (Brito; 2002).

También se encuentran diferencias entre se reportan igualmente diferencias entre animales en tanto a la capacidad de tolerancia frente al estrés calórico, algo muy relevante a tener en cuenta diferente a la temperatura del día en que se efectúa la colecta , es el promedio de temperatura de los días anteriores a la colecta. Para llegar a que el testículo tenga una temperatura ideal de 33- 34,5°C, se debe mantener una termorregulación, convirtiéndose la temperatura ideal de 18°C y 22°C. (Fuerst-Waltl; 2006).

##### **RAZA**

Los Bos Taurus disminuyen su fertilidad comparada con un Bos Indicus cuando su medio es en lugares tropicales, esto debido a presentar un alto índice de estrés oxidativo. Esto transcurre a nivel intratesticular dando como resultado una mala calidad del semen en el momento de obtención del eyaculado ya sea por monta directa o por colecta. (Nichi; 2006).

Otros autores registran que los toros Bos Indicus siempre presentan una menor producción espermática y calidad, sin tener en cuenta bajo las condiciones que se encuentren en comparación con los Bos Taurus.(Fields, 1982)

## **EDAD**

Usualmente los machos mayores de 10 años de edad, muestran lesiones fibróticas en los testículos lo cual conlleva a una mala calidad espermática principalmente en altos porcentajes de morfología normal y en disminución de la concentración. Una de las posibles razones de la existencia de la fibrosis en los toros criados en el trópico es la distensión escrotal y testicular como modulo del mecanismo de termorregulación, llevando a la existencia de trauma permanente en la zona del parénquima testicular. (Angarita, 2000).

En distintos casos algunos autores dicen no encontrar dicha relación de los gados de fibrosis testicular con la presencia de la mala calidad seminal, y citan que la presencia de este tipo fibrotico se debe a la aplicación de algunas vacunas utilizadas para el control de enfermedades respiratorias.(Barth, Aliso et al; 2008).

Por lo tanto, cualquier causa de degeneración a nivel testicular inicialmente presenta fibrosis a nivel del parénquima testicular y en caso de que sea creciente, finalizara haciendo parte todo el parénquima testicular desarrollando atrofia en el testículo afectado. (Lozano et al; 2007).

## **NUTRICIÓN**

Uno de los factores más importantes en el inicio de la pubertad y en proceso de la vida reproductiva es la nutrición. Tanto los defectos como los excesos se pueden ver manifestados en la calidad del semen a nivel de los espermatozoides y del plasma seminal. Los animales que consumen dietas balanceadas llevan a presentar más precocidad que animales que se encuentren sobrealimentados o también llamados en exceso de peso. En caso de machos sobrealimentados existe un retraso en la pubertad esto debido a que se disminuye la producción de iGF-, teniendo como resultado el retraso de la producción de LH y testosterona, hormonas de suma importancia en el desarrollo de la madurez sexual de macho. Pastos con altos niveles de energía, y un indicado porcentaje de proteína son de ayuda en el inicio de la pubertad, puesto que esto favorece a un desarrollo testicular más acelerado principalmente en edades de 10 y 15 meses. Por lo contrario la desnutrición lleva a un retraso del inicio de la pubertad, como también ocurre con las dietas con sobre condicionamientos, en muchos casos dando como resultado alteraciones definitivas en los toros, en cuanto a calidad espermática como a nivel físico. Factores indirectos de sobrealimentación como exceso de peso, pezuñas y patas con problemas pueden ser medio que aportan a una menor libido. (Chenoweth, et al; 2000).

## **ESTRÉS**

Se encuentran diferentes tipos de estrés o tensión que pueden perturbar a un toro en su aptitud reproductiva y en específico en la calidad seminal. Existen diversos tipos de estrés como el calórico, social y dietario (ya sea por exceso o defecto). el principal factor por el cual el estrés afecta la calidad seminal ocurre por medio de la actividad realizada por la hormona CRH- factor liberador de la hormona corticotrópica el cual desencadena la cascada del estrés junto con operaciones de tipo inhibitorio como a nivel testicular como central, con la inhibición de la hormona LH.( Dufau et ál; 1993)

Otros factores que también llegan a afectar la calidad espermática son los sistemas de colecta y los métodos utilizados en el proceso de colecta entre otros (Lozano H, 2009)

### 3.11 CIRCUNFERENCIA ESCROTAL

Se ha encontrado que existe una relación entre producción espermática y el peso de los testículos y entre calidad e eyaculado y circunferencia escrotal. La circunferencia escrotal además sirve para determinar la edad de la pubertad y patologías testiculares. Se ha destacado que los descendientes de machos con circunferencia escrotal elevada, alcanzan el pico de la pubertad a edades más tempranas. Esta circunferencia se mide con un escrotómetro (Morillo M; et al. 2012).

Al ser medido el mismo de manera objetiva por circunferencia escrotal es medido indirectamente el tamaño y peso de los testículos. La relación de circunferencia escrotal y producción espermática es muy alta. (Boggio J, 2008) En el momento de la medición hay factores que se deben tener en cuenta como lo son: peso, raza, y edad, crecimiento y nutrición (Boggio J, 2008). En caso de los Bos Indicus la medida mínima es de 27 cm a los 24 meses, debido a la madurez lenta, y en los Bos Taurus se toma la circunferencia escrotal mínima de 31 cm a los 18 meses.

En machos jóvenes es más confiable la medición puesto que tienen menos tejido fibroso en la masa testicular, en contrario de lo que pasa con los machos mayores de 5 años el tejido fibroso aumenta en la masa testicular y disminuye la capacidad espermática. Diariamente un toro produce diez millones por gramo de parénquima de espermatozoides, por ende a mayor circunferencia escrotal mayor será la producción de espermatozoides. (Brinks, 1981)

Aproximadamente 46% de los toros con circunferencia escrotal igual o mayor a 30 cm tienen calidad de semen defectuoso o problema y aproximadamente un 2% tendrían déficit en la calidad seminal, mientras que en machos con CE menores a 30 cm es muy difícil que presenten semen de buena calidad. (Brinks, 1981)

Para obtener una medición testicular satisfactoria lo correcto es con una mano sostener con firmeza el escroto, llevando a descender los testículos, con la otra mano se mide con la cinta métrica teniendo en cuenta que no se debe ajustar demasiado ni se debe dejar muy suelta. (Boggio J, 2008)



Figura 2. Medición de la circunferencia escrotal. (Garcia, 2014)

En la tabla 1 se muestra un resumen de los valores promedio de circunferencia escrotal para toros de acuerdo a la edad (meses).

Tabla 1.

PROMEDIO DE LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL EN TOROS DE ACUERDO A LOS RANGOS DE EDAD	
EDAD (Meses)	CENTIMETROS (cm)
≤15	30
>15<18	31
>18<21	32
>21<24	33
>24	34

Adaptado de Salisbury et al 1982.

### 3.12 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y MANEJO DEL SEMEN

Existen algunos métodos para la recolección de semen entre ellas se encuentran las más usadas: electro eyaculador, masaje transrectal y vagina artificial. (Barth, 2006)

### 3.12.1 Vagina artificial

La vagina artificial es comúnmente empleada para simular la copula natural. De tal modo este implemento proporciona las condiciones adecuadas que simulan la vagina artificial, es un método utilizado frecuentemente y es muy práctico. Consta de un tubo rígido con una manga de goma que se llena con agua tibia (40°) a fin de simular la temperatura corporal de la vagina. El macho debe ser estimulado con una hembra que se encuentre en celo (a la cual no servirá) para estimular la excitación y sucesiva eyaculación. En seguida que el pene se ponga de forma erecta, este se desvía con la mano y se introduce en la vagina artificial y allí ocurre la eyaculación. (Castellanos, 1986)



Figura 3. Vagina artificial. Adaptado de (Morillo M; et al. 2012)

### 3.12.2 Masaje transrectal

Según Paparella (2001), indica que el especialista debe introducir su mano en el recto y luego de la examinación de las glándulas accesorias y los anillos inguinales, se aplica un masaje longitudinal de atrás hacia adelante sobre las ámpulas, la próstata y la uretra. Cuando el musculo de la uretra comience las contracciones, el operador debe tratar de masajear en sincronía con ellas y continuar el masaje hasta producirse la eyaculación.

### 3.12.3 Electro eyaculador

Instrumento electrónico que abastece una apreciación rectal que da como resultado la erección y eyaculación. Este consta de dos partes: el transductor y la fuente. Su trabajo consiste en elevar progresivamente el voltaje desde cero hasta 15-20 voltios, con aumento de 2 voltios en intermedio de 5-10 segundos, finalizando a cero. (Barth, 2006)

Según fuentes consultadas el electro eyaculador facilita extraer semen a todos los toros sin entrenamiento previo, principalmente animales difíciles de domar, con libido escasa o con alteraciones en los miembros posteriores que no permiten que sirvan la hembra de forma correcta. el cual está diseñado para estimular los nervios pélvicos simpáticos y parasimpáticos con impulsos de bajo voltaje y amperaje, de esta forma lograr inducir erección peneana y eyaculación, obteniendo eyaculados similares a los obtenidos con vagina artificial, pero con una mayor volumen de fluido seminal (Rodríguez; et. al, 2012).. La eyaculación se presenta sin el esfuerzo físico que inhiba el apareamiento, que finalmente lleva a la monta eyaculación (Castellanos, 1986).

### 3.12.4 Colecta de semen

Al implementar el electroeyaculador como medio para recolección de semen, la eyaculación se convierte en un proceso bifásico, en primer lugar se da la emisión siguiendo con la pronta erección y la propia eyaculación. Cuando se da la estimulación exitosa, esta viaja tras el nervio pudendo interno hacia los centros lumbosacros de la columna vertebral, desde allí parte la respuesta vía nervios simpáticos lumbares, dando como consecuencia la estimulación de la musculatura lisa la cual recubre la próstata, conductos deferentes, glándulas vesiculares, permitiendo que se exitoso el progreso de la masa espermática hacia la uretra pélvica. Dicha respuesta nerviosa se conduce vía nervio parasimpático esto con el fin de estimular la contracción de la musculatura estriada del tracto uteral, teniendo como finalidad la erección del pene y finalmente la eyaculación (Morillo M; et al. 2012)



Figura 4. Electroeyaculador y materiales necesarios para la Colecta de semen.  
Adaptado de (Morillo M; et al. 2012)

Antes de la implementar el electroeyaculador se prepara al macho, esto se basa en una serie de procedimientos como lo son: Depilación del área relacionada con el orificio prepucial y limpiar el exceso de suciedad si hay presencia de ella haciendo un lavado muy cuidadoso tanto interno como externo con agua y jabón neutro, el cual debe ser eliminado por completo con agua. Luego de tener el área limpia se procede a hacer la limpieza del recto y a estimular mediante un masaje transrectal las glándulas accesorias, lo siguiente es la introducción del electroeyaculador vía rectal (figura 5.) (Morillo M; et al. 2012).



Figura 5. Preparación del macho para la recolección vía electroeyaculador (Lavado y depilación prepucial) (García, 2014)

Luego de introducir el electroeyaculador, se inician los estímulos desde la mínima intensidad hasta llegar a la máxima (0-20 voltios). La persona encargada de la recolección del semen debe tener presente que solo se debe hacer la colecta luego de salida del líquido preseminal de color translúcido, la cual tiene un color blanquecino y en la cual encontramos la mayor concentración espermática. (Morillo M; et al. 2012). (Figura 6)



Figura 6. Lubricación e introducción del electroeyaculador para inicio de impulsos eléctricos. (García, 2014)

Para la colección del eyaculado se debe tener listo el recipiente donde se va a depositar la muestra, para esto se utiliza un aparato el cual consiste en un aro de plástico con mango que sostiene un embudo de latex y un tubo graduado para la recolección del eyaculado, este último debe estar protegido de la luz, ya que un contacto directo con rayos ultra violeta pueden resultar espermicida, del mismo modo se debe ofrecer protección a cambios bruscos de temperatura entre los espermatozoides y el recipiente de colecta, el cual debe estar en una temperatura promedio de 35 °C, puesto que se podría ocasionar un choc térmico que disminuye la calidad seminal (Cita bibliográfica).(Figura 7)



Figura 7. Recolector espermático y tubo graduado para la recolección de semen (Garcia, 2014)

### 3.13 PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE SEMEN

Para elegir un macho como apto reproductivamente, debe cumplir ciertos aspectos que son de importancia y muy básicos: buena libido, buena calidad espermática y buen estado clínico reproductivo. La aplicación de la evaluación del semen es de suma importancia para obtener una certificación garantizada frente a la aptitud reproductiva de un toro. Un macho tendría una buena libido cuando detecta fácilmente la presencia de feromonas en el ambiente dando como resultado el impulso sexual. El macho presenta buena calidad espermática cuando reúne algunos aspectos como lo son: color blanquecino, volumen mayor a 4 ml, la concentración de semen en determinada muestra tiene valores mayores a 500.000 espermatozoides por milímetro cúbico entre otros factores estudiados en la evaluación macroscópica y microscópica. Un macho reproductor tiene buen estado clínico cuando se encuentra exento de cualquier enfermedad o anomalía que pueda afectar el buen desempeño reproductivo. (Madrid N, 1993)

Enseguida de obtener la colecta, se debe llevar el semen al laboratorio, se debe tener listo el baño María a T° (37°C), tener conectada la platina térmica a igual temperatura, colocar los portaobjetos teñidos de eosina nigrosin con la muestra de semen para luego realizar la correspondiente evaluación morfológica. (Salisbury, 1978).

El primer paso a llevar a cabo en la evaluación del semen, es la evaluación macroscópica, que consta de:

**3.13.1 VOLUMEN:** Este se puede observar fácilmente en el momento de tener el semen en el tubo milimétrico teniendo como referencia que un toro mayor de 2 años debe tener un eyaculado de no menos de 4ml. (Barth, 1989). Enseguida se toma la pipeta graduada aspirando toda la muestra y registrando el volumen. Los estudios con electroeyaculador revelan como valores estándar volumen superior a cinco a siete mililitros. En momento de multiplicar el volumen por la concentración espermática da como resultado un valor total de espermatozoides por eyaculado. (Vera, 2001).

**3.13.2 COLOR:** Se consideran normales los colores que van del blanco al amarillento, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso. (Barth, 1989). El color más característico

en semen de toros es el color blanco y usualmente existe una relación directa entre la densidad de la muestra y la concentración espermática. Las muestras que expresan color cremoso son generalmente las más densas, mientras que las que tienen aspecto más diluido muestran aspecto lechoso en ocasiones llegando a mostrarse claro y transparente. Este factor permite la detección de cambios asociados a la presencia de orina, material purulento y sangre en el eyaculado (cuadro.2)

**Tabla 2. Evaluación de la apariencia del semen**

Cremosa	Muy buena	Mayor a $750 \times 10^6$
Lechosa	Buena	400 a $750 \times 10^6$
Blanquecina lechosa	Regular	250 a $400 \times 10^6$
Traslucida	Mala	Menor a $200 \times 10^6$

Adaptado de: Younquist, 1997

En algunos machos pueden presentarse eyaculados de color amarillento, lo cual corresponde a tener presencia de un pigmento llamado riboflavina producida en las glándulas seminales y que es inocuo. En algunos toros se puede observar eyaculados de color amarillento; en otros casos se observan colores rojizos lo cual es un indicador de presencia de sangre fresca, o en caso de ser color pardo señala presencia de sangre hemolizada. Estos dos tipos de coloración se denominan hemospermia. Los eyaculados que poseen pocos espermatozoides presentan una coloración amarilla- verdosa (Hidalgo, et al. 2005)

**3.13.3 OLOR:** el olor indicado de un semen higiénico de un toro sano y fértil es aromático como similar a yema de huevo. Son razón de descartes las muestras de semen con olor urinoso o pútrido, el cual puede producirse después de la contaminación como puede ser por contaminación de materia fecal. (Hidalgo, et al. 2005)

**3.13.4 ASPECTO:** se define como el semblante del semen a la presentación enseguida de su recolección, puede ser de tipo: grumoso, sucio, homogéneo o limpio. Del número de espermatozoides por milímetro cúbico depende el aspecto. (Hidalgo, et al. 2005)

**3.13.5 CUERPOS EXTRAÑOS:** Se calcula observando el fondo del tubo para detectar la presencia de algún cuerpo extraño, se define como positivo o negativo. (Barth, 1989)

**3.13.6 DENSIDAD:** La densidad del semen varía desde un semen acuoso, lechoso, lechoso-cremoso, hasta un cremoso, estando directamente relacionada con la concentración. (Barth, 1989)

MB = Cremoso, espeso  $750.000 \text{ esp/mm}^3$

B = lechoso,  $400 \text{ a } 750.000 \text{ esp/mm}^3$

R = leche aguachenta,  $250 \text{ a } 400.000 \text{ esp/mm}^3$

P = translucido, menos de  $250.000 \text{ esp/mm}^3$

**3.13.7 DENSIDAD MACROSCÓPICA:** Se establece en un razonamiento fundamentado en intervalos de concentración espermática, esto dependiendo de la opacidad de muestreos que dan como indicador mayor o menor concentración de espermatozoides. En la tabla 3 se muestra la densidad macroscópica basada en el número de espermatozoides por mililitro. (Agüero G, 2012)

Tabla 3.

DENSIDAD MACROSCOPICA CON BASE EN NUMERO DE ESPERMATOZOIDES	
DENSIDAD MACROSCOPICA	No DE ESPERMATOZOIDES
Azoospermico	0 espermatozoide en el eyaculado
Oligospermico	Menor de 200 mill. Esp/ml
Ralo	200- 500 mill. Esp/ml
Semidenso	500- 800 mill. Esp/ml
Denso	800- 1500 mill. Esp/ml
Densísimo	Mayor de 1500 mill. Esp/ml

Adaptado de: Rosemberger, 1981.

**3.13.8 MOTILIDAD MASAL MICROSCÓPICA:** Esta evaluación es un indicador de la capacidad de movimiento de los espermatozoides obtenidos del eyaculado. En un toro, por ser usualmente de alta concentración es fácil la realización de este procedimiento. Para evaluar la motilidad masal se toma una gota de semen con una pipeta luego se pone una gota del semen puro sobre un portaobjetos atemperado a 30-37°C, sobre una platina térmica, y se lo observa a 10X en el microscopio (lupa), evaluando la presencia de ondas omega. El rango que se toma es de 1-5 valorando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente llevando a la formación de remolinos. (Saacke, et.al.1992) o en otros casos se evalúa como se muestra en la tabla 4.

El movimiento en masa depende de factores como: porcentaje de espermatozoides móviles en progresión lineal, concentración espermática y velocidad de progresión de los espermatozoides.



Figura 8. Evaluación de motilidad masal: gota de semen en portaobjetos y visualización microscópica en 100X. (Gracia, 2014)

Tabla 4.

ESCALA MOTILIDAD MASAL	
<b>MUY BUENA (MB – 80% al 100%)</b>	Movimiento en ondas vigorosas y en remolinos rápidos
<b>BUENA (B – 60% al 80%)</b>	Remolinos y ondas más lentas
<b>REGULAR (R– 40% al 60%)</b>	Sin remolinos pero con ondas generalizadas
<b>MALA (M– 0 a 40%)</b>	Escasa o nula motilidad

Adaptado de: Derivaux 1976, Morrow 1986 y Hafez 1989

**3.13.9 MOTILIDAD INDIVIDUAL:** se basa en una muestra de semen expresándose como porcentaje (%), de células con movilidad en un espacio microscópico. Cuando nos referimos a un espermatozoide con motilidad progresiva hacemos referencia a aquel que tiene movimiento en línea generalmente casi recta de un punto a otro. Pero así también habrá espermatozoides con movilidad en forma círculos, inversos, debido a malformaciones o anomalías en la cola y algunos en movimientos oscilatorios lo cual es asociado generalmente al envejecimiento. (Vera, 2001).

En el momento de llevar a cabo esta evaluación se hace en el microscopio en un aumento de 40x teniendo en un portaobjetos una gota de la muestra del semen a evaluar. En seguida de esto lo que se hace es una evaluación observando un campo de la muestra y valorándoles subjetivamente los espermatozoides que se mueven en forma rectilínea atravesando el campo en observación. Los espermatozoides que giran en círculos o avanzan oscilatoriamente son considerados anormales. La proporción que se indica es de los espermatozoides con movimientos rectilíneos progresivo del total de aceptados siendo el valor mínimo tolerable del 50%. Tabla 5 (Saacke, et.al.1992).

Tabla 5.

ESCALA MOTILIDAD INDIVIDUAL PROGRESIVA	
<b>EXCELENTE</b>	<b>(80 - 100%)</b> Células móviles
<b>BUENA</b>	<b>(60% – 79%)</b> Células móviles
<b>REGULAR</b>	<b>(40% – 59%)</b> Células móviles
<b>MALA</b>	<b>(&lt; 40%)</b> Células móviles

Adaptado de: Salisbury et al., 1978, Hafez 1989 y Barth 1995.

### 3.13.10 CONCENTRACIÓN

La concentración espermática es expresada como: número de espermatozoides por ml. Para el recuento de células espermáticas se lleva a cabo mediante la cámara de newbauer, la cual consiste en una lámina que tiene dos cámaras de conteo. Esta cámara utilizada para el conteo consta de 0,1 milímetro de profundo y un área en el fondo con graduación, al mismo tiempo la cuadrícula se encuentra dividida en 25 cuadros de menos tamaño. En el momento de tener conocimiento de la profundidad y el área será posible determinar el número de espermatozoides. Para la valoración de concentración se debe tener agua destilada; Se colocan 5 micro litros de semen puro en 1ml. de agua destilada (1/200) y se hace una breve homogenización sin exceder la velocidad para así poder obtener una excelente homogenización invirtiendo el tubo varias veces. Después de tener la homogenización se toman alrededor de 14

microlitros y enseguida es llevado a la cámara de Newbauer por capilaridad, en ambos retículos, teniendo en cuenta de cargar otros 14 micro litros para el segundo retículo. Para poder dar un buen uso de la cámara, se debe humedecer los bordes de esta antes de colocar el cubre cámara y enseguida cerciorarse de que este bien sujeta de la cámara para que al momento de invertir la cámara no se caiga, una vez lista la cámara se lleva al microscopio en aumento 40x para realizar el respectivo conteo, este conteo se hace tomando los cuadros de las puntas y el cuadro central siendo 5 en total los cuadro del conteo.( Figura 8) Al número de espermatozoides que se contaron se multiplican 10.000 y así se consigue la cantidad de espermatozoides por milímetro cubico de semen (la concentración mínima aceptable para toros es de 500.000 espermatozoides por milímetro cúbico) (Salisbury, 1978)

**Tabla 6.**

<b>CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA EN BOVINOS</b>
800 – 2000 x 10 <sup>6</sup> / ml

Adaptado de: Garner y Hafez et al., 2000

### **3.13.11 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS**

La evaluación del pH, usualmente, es utilizado en análisis tradición como una medida indicadora. El pH resulta de la secreciones acidas originadas en la próstata y secreciones alcalinas de las vesículas seminales. En el toro el pH se encuentra en promedio 6,6 y 6,9. En caso dado que el pH supere 7 puede haber probabilidad de algún tipo de infección haciendo que tal vez disminuya la secreción de productos ácidos de la próstata, en algunas ocasiones también se pueden obtener pH anormales cuando ocurre una eyaculación incompleta. Valores >6,5 son encontrados cuando hay existencia de casos inclusión de glándulas vesiculares. Para poder medir el pH de manera indicada se utiliza un papel indicador el cual debe colocarse en el semen recién recolectado y seguida de diluir la muestra y luego es comparado con la escala de color de Ph. (Morillo M; et al. 2012).

### **3.13.12 FROTIS**

Para finalizar la evaluación se deben efectuar algunos frotis como lo son:

**COLORACIÓN VITAL:** Se lleva a cabo extrayendo una gota de 10 microlitros de semen puro para luego ponerlos sobre el portaobjetos limpio a temperatura de 30-35°C sobre la platina térmica. Luego sobre esta gota de semen se coloca una gota de 30 microlitros de eosina nigrosin, que debe estar a la misma temperatura del semen, luego se hace una pequeña mezcla por aproximadamente 20 segundos. Luego se alista otro portaobjetos, que se encuentre también en la misma temperatura para con este mismo distribuir extendidamente la muestra en el otro portaobjetos. La función del colorante es penetrar la membrana de los espermatozoides muertos, dejando los vivos sin teñir al momento de la tinción. Para sacar el porcentaje equivalente a espermatozoides vivos se observa la muestra a 40x, contando solo los vivos indicando los espermatozoides sin teñir, como mínimo se deben contra 100 espermatozoides y así sacar el porcentaje (Se considera como valor mínimo aceptable, el 70 % de espermatozoides vivos.) (Barth, 1989).

### **MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA**

Para un contacto normal del espermatozoide con el ambiente del tracto genital femenino junto con las envolturas del ovocito así mismo de tener motilidad progresiva, los espermatozoides deben ser morfológicamente normales. En caso de tener presente alguna anomalía que altere la

naturalidad del espermatozoide puede dificultar el recorrido en el tracto genital de la hembra, dificultando la unión con el ovocito. (Rodríguez-Martínez, 1999). Cuando hay aumento de la proporción de anomalías en los espermatozoides en el eyaculado, disminuye la capacidad de fecundidad del mismo (Howard y Pace, 1998).

Para la evaluación de este factor se debe utilizar el microscopio de contraste, teniendo la muestra de semen en la laminilla se realizando un aumento a 100x con aceite de inmersión, así mismo se realiza el conteo de 100 o 200 espermatozoides observando las anomalías que pueda tener cada uno.

Las anomalías primarias no deben exceder el 18- 20% ya que la fertilidad puede verse afectada. (Camp, 1992)

**Tabla 7.**

<b>MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA</b>		
	<b>MORFOLOGÍA MÍNIMA RECOMENDADA: 70 % células normales</b>	
	<b>ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS</b>	<b>ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS</b>
<b>MUY BUENO</b>	No mayor al 10%	No mayor al 25%
<b>BUENO</b>	Del 10 a 19%	Entre el 26-39%
<b>REGULAR</b>	Del 20 al 29%	Entre el 40-59%
<b>MALO</b>	Mayor al 29 %	Mayor al 59 %

Adaptado de: Camp, 1992

## **ALTERACIONES MORFOLÓGICAS**

Existen diversas clasificaciones sobre las anomalías espermáticas, teniendo en cuenta diferentes criterios dependiendo su origen: anomalías mayores (originadas en el testículo), anomalías menores (tras la eyaculación). (Bloom, 1977; Barth y Oko, 1989), otras como las primarias y secundarias.

1) Las Primarias por definición, son aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y malformaciones Secundarias son aquellas que se originan dentro del epidídimo (Barth, 1989). O las anomalías de la cabeza o pieza principal (región espermática implicada). Cualquier anomalía ya sea primaria o secundaria, si llegase a afectar un gran número de espermatozoides, llegaría a comprometer de alguna manera la fertilidad del semen. Ejemplo, si una muestra de semen posee una motilidad espermática entorno al 50% y un 30% espermatozoides con gotas citoplasmáticas proximales, el elevado suceso de esta morfoanomalía resultada negativamente en la fertilidad de la muestra aunque en el eyaculado tenga buena motilidad. Es muy normal que los machos jóvenes presenten este defecto y generalmente su incidencia va reduciendo a medida que la edad del macho aumenta y hay maduración de los órganos sexuales. También se puede presentar la anomalía de espermatozoides con cabeza piriforme aunque es poco frecuente. (Amann et al., 2000).

Se ha determinado que el defecto de la cabeza del espermatozoide puede ir de 15-20%, y en defectos del acrosoma y defectos de la cola pueden ir hasta un 25%. Existen diversos métodos para estimar la morfología espermática, las cuales se pueden obtener con tinciones como eosina-nigrosina de fácil realización en el momento de realizar la evaluación de un semen. (Amann et al., 2000).



Figura 9. Alteraciones Morfológicas de la cabeza espermática.  
Adaptado de (Prosegan, 2015)

## 2) Mayores y Menores

Esta clasificación la propuso Bloom en 1977 y llamó malformaciones Mayores a aquellas que estaban asociadas con infertilidad y malformaciones Menores a aquellas que al momento de crear el método de clasificación, no se encontraban relacionadas con la fertilidad en forma directa.

## 3) Compensables y No Compensables

En 1994 Saacke y col. propusieron clasificar los defectos como Compensables a aquellos en los que el espermatozoide no llega a la vecindad del ovocito y no evita que otro espermatozoide realice la fertilización; por lo tanto si se aumenta la concentración de la dosis seminal, se podría llegar a compensar este tipo de malformación. Un defecto No Compensable es aquel en el cual el espermatozoide está perfectamente capacitado para llegar hasta el ovocito, realiza el bloqueo de la polispermia pero es incapaz de continuar el proceso de fertilización. Dicho defecto no se puede compensar aumentando la concentración de la dosis inseminante. Un conjunto importante de anomalías son las que de algún modo llegan a afectar el cromosoma del espermatozoide entre las más comunes están con acrosoma nudoso, y la membrana acrosomal aplanada (Barth y Oko, 1989). Los espermatozoides encontrados en el eyaculado que tienen acrosoma nudoso pueden presentar otras anomalías espermáticas lo que lleva a disminuir más la probabilidad de fertilidad del macho seminal (Gran y Dott, 1976). Este defecto se clasifica en un defecto no compensable, refiriéndose a que los espermatozoides normales presentes en el semen igualmente tienen menor capacidad fecundante. Otras anomalías también vistas en semen bovino, son las colas enrolladas de los espermatozoides, cuando son de bastante presencia en el eyaculado llegan a comprometer la fertilidad del toro esto debido a que estos espermatozoides no desarrollan la motilidad normal requerida para alcanzar el ovocito. (Nothling y Arndt, 1995). Cada vez que aparezcan anomalías en un eyaculado la parte fértil del macho se verá comprometida, aunque en específico no se ha descubierto cual sería el número máximo de morfoanomalías espermáticas, que podría ser factible con una fertilidad normal. Lo que se ha demostrado es que hay una correlación entre la cantidad de malformaciones o anomalías espermáticas y la fertilidad del macho (Januskauskas y Žilinskas 2002).



Figura 9. Adaptado de (Prosegan, 2015)

**VITALIDAD ESPERMÁTICA:** este estudio se basa en un análisis de la membrana plasmática de los espermatozoides, donde se evalúa la integridad. Existen diferentes colorantes utilizados en esta identificación como lo es la eosina-nigrosina, el cual tiñe los espermatozoides muertos de color rojo o rosa, y los espermatozoides quedan sin teñir. Este estudio se hace mediante dos fluorocromos combinados, la primera atraviesa las membranas plasmáticas degeneradas permitiendo fácilmente la identificación de las células muertas o en transcurso de degeneración, la segunda atraviesa las membranas sanas permitiendo la identificación de las células viables, (Garner et al, 1997). Así permitiendo la medición de espermatozoides vivos, y es expresado como porcentaje de células muertas

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 LOCALIZACIÓN

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.

### 4.2 MATERIALES

Se evaluaron 3 toros reproductores de la raza Blanco Orejinegro (BON) de los cuales 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.

### 4.3 METODOS

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.

**Colecta del semen:** enseguida de tener los materiales requeridos para la colecta seminal, a los machos seleccionados para ser estudiados se les realiza un corte de los pelos excedentes en la zona prepucial, para evitar que la muestra sea contaminada por agente extraños, enseguida se hace un lavado prepucial con agua destilada para extraer cualquier residuo de orina o sustancias ajenas en el eyaculado. Después de haber realizado la limpieza prepucial se estimulan los órganos genitales internos mediante un masaje transrectal, para enseguida introducir el electroeyaculador vía anal. Finalmente se inician los impulsos eléctricos con el electroeyaculador permitiendo que el macho tenga una propia erección y poder coleccionar el semen. Luego de la realización de la colecta seminal, el semen, fue trasladado inmediatamente al laboratorio de reproducción animal de la Universidad de Cundinamarca, donde se deja en baño maría a 37°C.

Enseguida de la colecta seminal, se verificó que el baño maría y la platina calentadora estuvieran a 37°C esto debido a que el semen es muy sensible a cambios de temperatura. En el baño maría se puso el tubo de ensayo que contenía la muestra seminal correspondiente a cada toro (3). Este procedimiento se realizó en 3 fechas diferentes puesto de cada toro se extrajeron 3 muestras.

## CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS:

**Motilidad masal:** en la evaluación de este parámetro, se extrajo una gota de semen sin diluir, colocando la gota sobre un portaobjeto que había sido calentado a 37°C mediante la platina calentadora, y luego fue observado en el microscopio, en aumento 10X sin utilizar un cubreobjetos. Evaluando de manera subjetiva el movimiento conjunto de las células espermáticas. Para la evolución de la motilidad masal se utilizaron los siguientes parámetros.

**Motilidad individual:** expresada en porcentaje, definida como células con movimiento evaluados por medio de un microscopio óptico (10x) a temperatura 37°C. La muestra de semen no diluida tiene una concentración muy alto por tanto es necesario diluir la muestra con solución de NaCl al 10% para así poder observar el comportamiento individual de los espermatozoides.

**Vitalidad:** para observar las células espermáticas se utilizó la coloración eosina-nigrosina, esta tinción permitió observar los espermatozoides muertos de color rojo o rosa, y los vivos quedan sin color ósea sin teñirse. Para la evolución de este parámetro se hizo un frotis para luego llevarlo al microscopio y ser observado en aumento 40X. Allí se evaluaron 5 puntos, donde se hizo el conteo de espermatozoides muertos presentes, luego de obtener la cantidad de los cinco puntos se hizo una sumatoria estimando la cantidad total de células muertas. Se enuncia en porcentaje (%) de células espermáticas vivas.

**Morfología:** Este frotis se observó mediante el microscopio en aumento 40X, visualizando 5 campos en los cuales se hizo el conteo de 100 por muestra, contando el número de anomalías espermáticas presentes en la muestra con el fin de dar un valor en (%) de espermatozoides normales, para esta evaluación se tuvo en cuenta la categorización de malformaciones espermáticas, clasificadas en primarias y secundarias.

**Concentración espermática:** para determinar este parámetro se utilizó la cámara de newbawer, para esta evaluación se diluyo el semen 1:200 debido a que este valor es el correspondiente en bovinos. Lo mismo que 0.05 ml de semen en 10 ml d agua luego se realizó un agitado suave con el fin de evitar la sedimentación. Una vez el semen tiene la dilución y los espermatozoides están inmóviles se toma una gota de la muestra para luego llenar las celdas de la cámara de newbawer y enseguida hacer el conteo celular. La concentración espermática se calculó utilizando la siguiente formula:

**Concentración espermática (espermatozoides/mm<sup>3</sup>)= a x b x c x d**

**DONDE:**

a= número de espermatozoides contados en 5 cuadrados.

b= 5, estima el total de cuadrantes de la cámara (n= 25 cuadros).

c= 200, ya que la dilución para el semen bovino es 1:200.

d= 10, representa la profundidad de la cámara, la cual es 0,1mm.

Al obtener el valor se multiplico por 1000 para enunciar el valor de la concentración espermática en número de espermatozoides/ml.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

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.

## 5. 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
<b>CIRCUNFERENCIA ESCROTAL</b>	40 cm	38 cm	38 cm
<b>VOL. EYACULADO</b>	11 ml	12 ml	13 ml
<b>MOTILIDAD MASAL</b>	65 %	70 %	70 %
<b>MOT. IND. PROGRESIVA</b>	69 %	73 %	72 %
<b>CONCENTRACIÓN</b>	824 x 10 <sup>6</sup> / ml	946 x 10 <sup>6</sup> / ml	912 x 10 <sup>6</sup> / ml
<b>MORFOLOGÍA (Normales)</b>	67 %	75 %	74 %
<b>CIRCUNFERENCIA ESCROTAL</b>	35 cm	36 cm	36 cm
<b>VOL. EYACULADO</b>	15 ml	16 ml	18 ml
<b>MOTILIDAD MASAL</b>	64 %	68 %	63 %
<b>MOT. IND. PROGRESIVA</b>	60 %	71 %	68 %
<b>CONCENTRACIÓN</b>	756 x 10 <sup>6</sup> / ml	792 x 10 <sup>6</sup> / ml	785 x 10 <sup>6</sup> / ml
<b>MORFOLOGÍA (Normales)</b>	65 %	72 %	69 %
<b>CIRCUNFERENCIA ESCROTAL</b>	37 cm	35 cm	35 cm
<b>VOL. EYACULADO</b>	13 ml	14 ml	15 ml
<b>MOTILIDAD MASAL</b>	64 %	69 %	67 %
<b>MOT. IND. PROGRESIVA</b>	65 %	72 %	70 %
<b>CONCENTRACIÓN</b>	790 x 10 <sup>6</sup> / ml	869 x 10 <sup>6</sup> / ml	848 x 10 <sup>6</sup> / ml
<b>MORFOLOGÍA (Normales)</b>	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±1,73 cm, el volumen del eyaculado fue de 14,11± 2,15 ml, la motilidad masal fue de 66,67±2,74 %, la motilidad individual progresiva 68,89±4,14 %, la concentración espermática 835,7±635x 10<sup>6</sup> espermatozoides /ml y el promedio de la morfología 70,44±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± 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 ± 1,4 y 3,5 ± 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  $2000 \times 10^6$  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**

	<b>C.ES cm</b>	<b>VL cm</b>	<b>M.M %</b>	<b>M.I.P.%</b>	<b>C.E. (x 10<sup>6</sup>)</b>	<b>M % (normales)</b>
<b>MEDIA</b>	36,67	14,11	66,67	68,89	835,7	70,44
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	1,73	2,15	2,74	4,14	635	3,40
<b>MÍNIMO</b>	35	11	63	60	756,0	65
<b>MÁXIMO</b>	40	18	70	73	946,0	75
<b>CUENTA</b>	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% anormalidades) 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 anormalidades espermáticas inferiores al 10% en toros Criollo limonero, Aguirre y col. hallaron un porcentaje de anormalidades espermáticas en toros criollo Encerado ( $12,4 \pm 2\%$ ), mientras que Palmieri y col referencian valores levemente superiores de anormalidades 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 optimas 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 272 sexual development of Brahman versus angus bulls in Florida. *Theriogenology*; 18: 17-31.
31. Garner, D.L.; Hafez, E.S (2000). Espermatozoides y plasmaseminal. 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: ministério 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. Prosegan, (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 pecuária 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