

MANEJO Y PRUEBA REPRODUCTIVA EN LOS TOROS ADULTOS

MANAGEMENT AND BREEDING SOUNDNESS OF MATURE BULLS

Colin W. Palmer, DVM, MVSc

Vet Clin Food Anim (2016)

Palabras claves

Prueba reproductiva. Toros. Espermatogénesis. Morfología espermática.

Observaciones claves.

-Los toros maduros deben ser manejados apropiadamente para asegurar temporadas de reproducción efectivas y de corta duración.

-Con el objetivo de establecer jerarquías sociales adecuadas, los toros pertenecientes a un grupo de reproductores deben tener edades similares.

-los toros maduros tienen la capacidad de servir grupos de hembras a razón de 1:40, pero se debe observar la dominancia social del grupo, la libido de cada toro y las posibles lesiones que presenten los reproductores.

INTRODUCCIÓN

El manejo de los toros jóvenes difiere del aplicado a los adultos. Para los productores de toros para cría es importante lo relacionado con la tasa de crecimiento, la pubertad y la conformación de los futuros reproductores. Las fallas congénitas o en el desarrollo se pueden detectar mediante un examen de potencial reproductivo (breeding soundness evaluation BSE); los animales afectados por anomalías importantes deberán ser descartados. La mayoría de los toros maduros mayores de 2 años son comprados por el sector comercial productor de carne. La mayoría de los toros *Bos taurus* a los 2 años de edad habrán alcanzado el tamaño corporal maduro, la máxima circunferencia escrotal (CE) y al menos el 85% del peso corporal correspondiente a la madurez. De hecho los toros son comercializados a partir de los 2 años de edad ya que se considera que los animales de un año no son maduros sexualmente. Los centros de cría, han sido capaces de ofrecer reproductores de un año, a los ganaderos comerciales mediante, selección intensiva, nutrición especial y temporadas de reproducción planificadas. Para ser más exactos estos animales de un año, están en el rango de 12 a 18 meses, prefiriéndose los animales mayores ya que al realizar un BSE ellos tienen mayor probabilidad de ser clasificados como **REPRODUCTORES POTENCIALMENTE SATISFACTORIOS**. Aunque la demanda y la oferta difieren en el mercado de toros y pueda haber dificultad para encontrar toros de 2 años de edad, para los compradores es importante conseguir animales de esta edad ya que las fallas estructurales son más fáciles de detectar y tendrán mayor eficacia en la fecundación. Los toros representan uno de los mayores costos para una empresa ganadera. Usando 4 diferentes precios de compra La Tabla 1 expone una lista de costos.

Precio de compra	\$3000	\$4000	\$5000	\$6000
Valor de recuperación	\$1500	\$1500	\$1500	\$1500
Pastura y concentrado/año	\$1000	\$1000	\$1000	\$1000
Costos veterinarios/año	\$100	\$100	\$100	\$100
Perdida por muerte (10% por 4)	\$1200	\$1600	\$2000	\$2400
Costo total (4)	\$7100	\$8500	\$9900	\$11300
Numero de terneros engendrados (30 terneros/toro/año)	120	120	120	120
Costo del toro/ternero	\$59.17	\$70.83	\$82.50	\$94.17

Los valores fluctúan dependiendo del rebaño y los cambios propios de la industria. Partiendo del supuesto de que un toro engendrara 30 terneros por año y permanecerá 4 años en el rebaño el autor ha asignado un número a cada categoría. Sin consideración alguna por el mérito genético, los cálculos asumen que cada toro engendrara un número de terneros equivalente. Los toros cuyas crías son más pesadas al destete, producen hijas de categoría superior alcanzando tasas de preñez más altas, en consecuencia cuando un toro produce crías más pesadas al destete, presentará un valor adicional frente aquellos que no aportan esta característica. Considerando el costo de producción por ternero, los productores podrán considerar si los toros aportan mejora a su rebaño y encontrar la forma de recuperar la inversión realizada.

MANEJO DEL TORO

Dada la importancia de los toros reproductores para las empresas ganaderas, la literatura científica cuenta con información específica en relación al manejo de los reproductores. Para la mayor parte de los especialistas las mismas prácticas usadas en el rebaño de vacas deberían emplearse en los toros reproductores, sin embargo es importante diferenciar en algunos aspectos particulares como, la dominancia social, el alojamiento y la alimentación.

Dos meses antes de la temporada de monta el manejo debería incluir, el examen de BSE, la aplicación del plan de revacunación anual y finalmente un arreglo de las pezuñas de ser necesario. El cumplimiento de estas prácticas permitirá el remplazo de cualquier toro antes de comenzar la temporada reproductiva.

Nutrición

Para una explotación ganadera, el ingreso de un toro nuevo debería ser practicado observando, el régimen nutricional que el animal está consumiendo. Si los toros destinados a un programa reproductivo han estado pastando, idealmente deberían continuar en potrero, pero de no ser posible se aconseja suministrarles forraje verde de buena calidad. Ya que las leguminosas comportan riesgo de timpanismo, deben ser introducidas en la dieta con sumo cuidado, especialmente cuando el periodo de alimentación es prolongado. Los toros de exposición alimentados con raciones de alta energía, deberían continuar recibiendo una dieta de características similares. Si un toro está recibiendo un tipo de grano, el ganadero deberá comprar el mismo tipo de alimento, aun si el objetivo es cambiar a otro pienso, ya que los cambios nutricionales deben ser realizados de manera regulada. Los cambios repentinos en la dieta pueden causar, enfermedad sistémica, laminitis e inclusive la muerte. En el caso del concentrado se deberá suministrar del 50 a 70% de la dieta inicial, reduciendo gradualmente la cantidad hasta alcanzar los valores deseados para la nueva ración. El restante de la ración debería ser forraje de buena calidad con un contenido de proteína de al menos 12%.

Los toros que trabajan duro normalmente pierden condición corporal durante la temporada reproductiva, pero la pérdida excesiva de peso debe ser evitada. Es común que aquellos toros con una condición corporal de 7.0 a 7.5 (escala de 9 puntos) pierdan 2 cm de circunferencia escrotal al final de la temporada reproductiva ¹. Con el objetivo de manejar adecuadamente los partos y permitir que los reproductores restauren su condición corporal para la siguiente temporada, es importante asegurarse que las temporadas reproductivas duren entre 2 y 3 meses. Un consejo valioso para las explotaciones ganaderas es calificar la condición corporal de los toros reproductores. Al comienzo de la temporada los toros deben tener una condición de 6 a 7. Los toros de raza Charolais, Angus y Herford de tamaño promedio deberán pesar alrededor de 820 a 950 kg, su aspecto se puede comparar con el de un atleta con buen desarrollo muscular, animales más pesados son propensos a sufrir daños en las patas, en cuanto a los muy delgados el problema reside en su incapacidad para mantener buena condición durante la temporada reproductiva. Usualmente los toros consumen del 30 a 50% más alimento que las vacas. En consecuencia ellos tienen riesgo de timpanismo en relación a la calidad y cantidad de los alimentos que les son suministrados, en ese sentido se recomienda la

adición de un ionoforo. Dependiendo de aspectos particulares tales como la raza, el individuo y el manejo, la sobre-alimentación y la desnutrición pueden generar problemas. La selección de animales para producción cárnica, resulta en animales maduros con ganancias de peso alcanzadas mediante el uso de recursos limitados, sin embargo los toros de 12 a 18 meses de edad tienen tendencia a acumular grasa a nivel del cuello del escroto, evento que afecta de manera negativa el proceso de espermatogénesis ². Los minerales y las vitaminas son esenciales para una nutrición adecuada. En cuanto a las deficiencias de Zn y de vitaminas E y A se sabe que influyen de forma negativa la fisiología del testículo. Otras deficiencias pueden afectar la secreción de gonadotropinas, hormonas integrales para la regulación de la espermatogénesis ³. En los climas fríos se debe observar rigurosidad en el suministro de raciones en cuanto a calidad y cantidad según los requerimientos. Además el suministro adecuado de agua contribuye a mantener la condición corporal idónea para un reproductor, ya que limitaciones en el consumo de agua, disminuyen el consumo de alimento y generan gastos energéticos adicionales, cuando los toros se ven forzados a desplazarse muy lejos en busca de bebederos. Para evitar la congelación del escroto, en los climas fríos, se debe contar con camas y alojamientos confortables.

Vacunación

La recomendación general es usar el mismo plan de vacunación empleado en el rebaño de vacas. Las regiones con presentación de enfermedad de las pezuñas deberían considerar el uso de vacunación. Los episodios de laminitis aun los de corta duración pueden impedir la monta además de afectar de forma negativa la espermatogénesis. Aunque usualmente no se considera la revacunación bianual con una vacuna multivalente costridial, se debe observar que su uso es una práctica eficiente y económica ya que disminuye las posibles lesiones derivadas de peleas entre los toros maduros.

En algunas zonas geográficas y rebaños es de interés la campylobacteriosis y la tricomoniasis; los toros adultos pueden mantener durante años en los pliegues del prepucio los microorganismos causantes de estas enfermedades. En los toros no se presenta enfermedad debido a *Campylobacter fetus* ni *Trichomonas foetus* pero se reconoce la afectación de las vacas causando pérdidas de preñez. Las vacunas contra *Campylobacter fetus* han demostrado ser exitosas ⁴ cuando se usan en un esquema doble de vacunación, reportándose un alto porcentaje de curación en toros maduros ⁵. En cuanto al control de la tricomoniasis, se acepta que la forma más acertada de control, es realizar pruebas de detección para identificar a los toros afectados por *Trichomonas foetu* y proceder a aislarlos de los rebaños libres del patógeno. La inmunización con antígeno celular completo evita la infección en los toros desafiados ⁶ experimentalmente y es efectiva en la curación de toros infectados con *Trichomonas foetu* ⁷.

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) puede ser transmitido a través del semen por los toros persistentemente infectados (PI) y por aquellos reproductores que padecen una infección aguda ^{8,9}. Los PI adquieren el virus durante la gestación antes de adquirir competencia en sus sistemas inmunes. Contrario a lo que se esperaría los PI crecen normalmente hasta alcanzar la adultez, etapa en la cual vía semen y otros fluidos diseminan el VDVB. La infección después del nacimiento puede presentarse en 3 formas, los toros pueden ser infectados transitoriamente y liberar el virus por un periodo de hasta 28 días, esto puede ocurrir tras la infección en animales de diferente edad y sin síntomas de enfermedad aparente ¹⁰. La infección aguda ha sido asociada con disminución de la concentración espermática, pobre movilidad y aumento de los espermatozoides anormales ¹¹. Generalmente a una infección aguda por el VDVB se sucede una condición de infección testicular persistente, se ha reportado que esta infección puede durar alrededor de 2 años, asociándose esta condición con presencia de virus infectivos en semen durante varios meses, sin embargo este cuadro solo ha sido corroborado en 2 toros lecheros menores de 2 años. Ambos reproductores durante el tiempo de la evaluación no fueron viremicos, pero mantuvieron altos niveles de anticuerpos.

Se cree que la persistencia de infecciones persistentes y prolongadas causadas por VDVB se debe a la incompetencia de las defensas inmunes del testículo durante la infección ¹¹. La recomendación actual es que los toros deben ser vacunados con una vacuna de virus citopático vivo modificado ¹².

Control de parásitos

El control de parásitos externos e internos debe ser consistente con el realizado al resto del rebaño. Al igual que en otro tipo de ganado, las dosis empleadas en los toros se usaran de forma responsable.

Las moscas pueden ser irritantes para todo tipo de ganado. Las moscas de los cuernos tienen gran afinidad por los toros localizándose principalmente en las puntas de los cuernos. Las medidas de control incluyen el uso de sprays que contienen piretrinas, baños y parches. Los sprays son muy populares y su uso no tiene efectos negativos cuando se emplean apropiadamente ¹³.

Jerarquía social

La jerarquía social se define cada vez que un grupo de toros se establece. Para reducir el riesgo de lesiones provocadas por peleas, las explotaciones dedicadas a la producción de sementales implementan el uso de alojamientos individuales; sin embargo ya que un nivel de segregación eficiente no siempre se cumple, cuando existe la necesidad de introducir un grupo nuevo de toros a una instalación, se aconseja que la reunión con los más antiguos sea en un potrero, esta práctica parece reducir la presión de lucha sobre los miembros más nuevos del grupo; lo anterior tiene sentido ya que las luchas jerárquicas aumentan en los nuevos espacios. Entre los toros reproductores pertenecientes a un mismo grupo de monta, la antigüedad y aun pequeñas diferencias en la edad son determinantes para establecer el orden de dominancia social ¹⁴. En la mayoría de circunstancias es contraproducente mezclar en un mismo grupo toros de diferentes edades (toros de 2 años junto a los de 4 años), ya que los toros mayores afectaran la actividad reproductiva de los más jóvenes, situación de particular importancia en temporadas donde es menor la cantidad de hembras que exhiben conducta estral. Los trabajos de diversos especialistas exponen menor interferencia sobre la actividad reproductiva cuando la edad promedio de los reproductores esta alrededor de los 2 años y estos individuos han estado pastando juntos, los resultados muestran mayores tasas de preñez frente a grupos de toros conformados por individuos de diferente edad. El orden social de un grupo tiende a ser más estable si sus miembros tienen edades similares, presentándose en consecuencia menores alteraciones en la actividad reproductiva ¹⁴.

RAZÓN TORO/VACA

Una recomendación común es usar 1 toro por cada 25-30 vacas, cuando el reproductor ha alcanzado los 2 años o es mayor de esta edad, si el macho es menor de 2 años se aconseja emplear 1 toro por cada 15-20 hembras ^{1,15}. Considerando los datos expuestos en la Tabla 1, el aumento del número de vacas por toro debería disminuir el costo de producción por becerro. Probablemente razones tan bajas como 1:60 (toro : vaca) no tendrán efectos negativos sobre las tasas de concepción ^{15,16}, sin embargo esto solamente es aplicable en situaciones específicas. La jerarquía social en los rebaños multi-toro más la libido, se presentan como dos factores que pueden llegar a limitar el potencial reproductivo de un toro en particular. Adicione a lo anterior que el número de hembras elegibles para un toro, puede subir dramáticamente debido al aumento de lesiones sufridas por sus compañeros de grupo. Por ejemplo, si un grupo reproductivo está conformado por 2 toros y 80 vacas y uno de los resulta lesionado durante la primera semana de la temporada de monta y se hace imposible remplazarlo, esto provocaría que el toro sano deberá montar adicionalmente 60 o más vacas. El uso de razones toro/vaca tan bajas exige observar en el rebaño diariamente la actividad reproductiva; en tales circunstancias únicamente deberían ser usados toros con alta libido y buena capacidad de producción espermática.

En Australia una serie de estudios diseñados para suministrar recomendaciones sobre prácticas de selección y apareamiento, el uso de pruebas de parentesco de ADN, encontró resultados importantes para ganado tipo Brahman.

De un total de 285 toros evaluados, el 58% engendro el 10% de terneros o menos de este porcentaje, mientras que el 6% de los toros no engendraron becerros. En los respectivos grupos de apareamiento, el 40% de los toros engendro más del 30% de los terneros. Además el rendimiento reproductivo se repitió de manera moderada a través de los años en la mayoría de pasturas. Múltiples estudios de regresión mostraron que el rendimiento reproductivo estuvo variablemente influenciado por un numero de factores tales como, la longitud del prepucio (aspecto muy importante para toros Brahman), la circunferencia escrotal, la habilidad sexual durante la prueba de capacidad de servicio, así como la movilidad y morfología espermática, sin embargo los modelos explican únicamente el 35 a 57% de la variación en la producción de terneros ¹⁷. La conducta del ganado *Bos Indicus* en las diferentes pruebas de libido y capacidad de servicio, puede variar de forma importante en comparación con los *Bos taurus*, considerándose al *Bos Indicus* menos eficiente como reproductor. Los trabajos australianos reportaron que en rebaños multi-toro, donde la relación toro/vaca fue de 1:40 y se emplearon toros Brahman adultos consistentes desde un punto de vista reproductivo, la fertilidad del rebaño no se afecto en comparación con explotaciones que manejan razones toro/vaca mayores. Además el grupo de relación toro/vaca de 1:40 fue mantenido en un potrero de 60 km². ¹⁸

Ciertamente hay bastante evidencia para soportar números mayores de hembras por cada toro reproductor, y con la llegada de las pruebas de parentesco mediante ADN y la investigación genómica, nuevos métodos se abren para ser explorados. Los toros deben estar listos para rendir exitosamente en un periodo reproductivo que dure alrededor de 6 a 8 semanas. Dado el conocimiento actual los toros con gran producción de semen y buena libido, podrán ser usados a razón de 1 toro por cada 40 vacas. Es posible implementar razones menores; sin embargo a pesar de los mejores esfuerzos realizados, las tasas por injuria permanecerán altas, y sin remplazo las tasas de concepción se verán afectadas cuando la proporción de toros sea baja durante los periodos de actividad reproductiva intensa.

EVALUACIÓN DE POTENCIAL REPRODUCTIVO

El objetivo principal de un BSE es identificar a los toros sub-fértiles, además de verificar la calidad seminal las pruebas deben evaluar la habilidad de los toros para aparearse con las vacas. La realización de un BSE incluye, un examen físico completo, la revisión del tracto reproductivo y un análisis seminal, no incluir este mínimo de requerimientos afecta la confiabilidad del BSE ¹⁹. Para asegurar la calidad y consistencia de los resultados, es importante usar un formato estándar. Actualmente los formatos usados para le realización de BSE son producidos por al menos 3 organizaciones. Los estándares son similares y difieren únicamente en los puntos relevantes para la jurisdicción donde el formato se espera usar. Los estándares empleados están en constante revisión en sincronía con los avances científicos y tecnológicos.

Los estándares actuales de la Sociedad de Teriogenología (SFT) fueron adoptados en 1993, se usan en Estados Unidos y en otras partes del mundo ^{19,20}. Los estándares seguidos por los veterinarios canadienses fueron definidos en 1993 por la *Western Canadian Association of Bovine Practitioners* (WCABP), difieren respecto a la SFT en el umbral para movilidad individual, siendo el aceptado por la WCABP de 60% frente al 30% observado por la SFT, otro aspecto distinto es la observación de un mínimo de CE en relación a la edad y raza del toro, además estos dos sistemas se diferencian en la clasificación de los toros que no reúnen los

criterios para ser catalogados como satisfactorios. En cuanto los estándares usados en Australia fueron postulados por los veterinarios australianos especialistas en ganado vacuno, la diferencia más sustancial la constituye la inclusión de una prueba de capacidad de servicio ¹⁹. Los sistemas de la SFT y la WCABP no abordan de forma específica la libido del toro ni su habilidad de monta, pero el formato de la WCABP incluye un recuadro donde el propietario puede consignar sus observaciones.

EXAMEN FÍSICO

El propietario del toro debería exponer el motivo para la realización de un BSE. Generalmente solo son presentados para un BSE toros saludables. En ese sentido se garantiza un examen completo. Los toros reproductores necesitan moverse fácilmente, detectar hembras en celo, ser capaces de montar y completar el servicio. Es importante observar el desplazamiento del toro desde el corral hasta el área de evaluación. Esta observación permitirá evidenciar, la condición general, laminitis y movimiento anormal, cualquier alteración puede manifestarse a través del dolor. Una vez el toro este en el área de evaluación, la inmovilización del toro durante el examen evitara los movimientos laterales y hacia adelante. El profesional a cargo del BSE confirmara la edad, la raza y la edad del macho. Se practicara una revisión general y sistemática para determinar, la condición corporal, la normalidad visual y el estado de las extremidades. Es oportuno identificar los defectos congénitos que puedan tener los toros jóvenes. La detección de algunos defectos es difícil, mostrándose evidentes hasta los 3 años, dentro de estas características negativas se encuentran, las uñas en forma de sacacorchos, mala conformación de patas y alteración de las pezuñas en asociación con laminitis.

La inspección del escroto y su contenido es una parte integral de la revisión física, el abordaje se realiza de manera más eficiente desde la parte trasera del animal. Los testículos aceptables son simétricos, de forma ovoide, de textura resilente y de movimiento libre dentro del escroto. Se debe identificar cualquier laceración o engrosamiento del escroto ^{21,22}. En cuanto a los epidídimos aceptables, son simétricos y de fácil palpación, la cola del epidídimo localizada en la base del testículo, normalmente esta estructura es de consistencia firme sin llegar a ser dura, al tacto no se siente inflamada o granulosa. Tanto la epididimitis como la orquitis pueden llegar a causar, dolor, inflamación y pérdida del color en los tejidos afectados. Los traumas físicos y las infecciones bacterianas constituyen, las causas primarias de orquitis e inflamación del epidídimo. Siendo la cola del epidídimo el principal deposito de espermatozoides maduros, la palpación de un ducto demasiado pequeño sugiere alteraciones en la producción espermática o daños en el sistema tubular anterior (aguas arriba) al epidídimo ²³. La oclusión completa de las vías tubulares resulta, en acumulación de espermatozoides, la formación de espermatoceles, la suma de factores puede generar ruptura del epitelio con la subsiguiente salida de espermatozoides hacia el tejido circundante. Una vez fuera del sistema tubular, el sistema inmune reconoce a los espermatozoides como extraños, abriendo la posibilidad de formación de granulomas. Generalmente los granulomas ocurren por la oclusión de uno más ductos eferentes, se localizan en los vértices del testículo ya sea en la cola o la cabeza del epidídimo ²³.

La CE es una característica correlacionada positivamente con la producción espermática, es fácilmente medible, altamente heredable y asociada a la fertilidad ²⁴. La CE en relación a el porcentaje de espermatozoides móviles y las reservas espermáticas del epidídimo ha presentado (regresiones lineales positivas), en cuanto a los defectos espermáticos de tipo primario y el origen testicular de los mismos, el comportamiento estadístico presentado fue de (regresiones lineales negativas) ²⁵. Waldner y colaboradores ²⁶ sin dar importancia a la raza de las vacas, encontraron que las hembras expuestas a toros con $CE \leq 34\text{cm}$ tenían menos probabilidad de quedar preñadas. La falta de éxito reproductivo se atribuye a la proporción de anormalidades espermáticas y al descenso en la concentración de los eyaculados. Observando el cálculo de una esfera y conociendo que cada centímetro de CE equivale a 50 gr de tejido ²⁷

testicular, es posible apreciar el valor de los siguientes datos, un toro con CE de 38 cm tendrá tres veces más de peso testicular en comparación con un macho cuya medida de CE sea de 30 cm, en consecuencia el macho con CE mayor manifestara una mayor capacidad de producción espermática. Una mayor producción de espermatozoides garantiza que un número mayor de vacas sean fecundadas en determinado periodo de tiempo.

La medida de CE se obtiene agarrando con los dedos pulgar e índice, el escroto alrededor del cuello. Paso seguido se aprieta con firmeza deslizando la mano hacia abajo, sin aplastarlos los testículos deben ser empujados hasta la base del escroto. La cinta se coloca en el punto más ancho del escroto y se tensiona con una tensión moderada hasta obtener la medida de CE ²¹. La cinta se coloca otra vez para tomar una nueva medida y asegurarse de la corrección del valor de CE que ostenta el toro. Los errores derivados de la tensión aplicada a la cinta, han dirigido al desarrollo de cintas con mecanismos más precisos (*spring-scale mechanisms*). Actualmente en el mercado se consigue la cinta *Reliabull* la cual aplica 5 libras de tensión cuando se usa de acuerdo a las instrucciones ²².

Los genitales internos son examinados vía rectal. En el toro las glándulas sexuales que contribuyen a la formación del semen son: ductos deferentes, ámpulas, vesículas seminales, próstata y bulbo-uretrales ²⁸. La vesiculitis seminal es la anormalidad más común, por ello el tamaño y textura de estas glándulas deben examinarse cuidadosamente ²⁹. Las vesículas seminales se identifican como estructuras lobuladas, divergen lateralmente a partir de la parte anterior de la uretra pélvica. Varían en tamaño, teniendo una longitud de 8 a 15 cm por más o menos la mitad de ancho. Las anormalidades que pueden observarse en las vesículas seminales están constituidas por: asimetría, abscesos, adhesiones, fibrosis y evidencia de dolor. También se debería recalcar en identificar las anormalidades de las ámpulas, estas estructuras envuelven los ductos deferentes y tienen una longitud aproximada de 10 a 15 cm por 5 a 8 mm de diámetro, raramente están afectadas pero son de gran utilidad cuando se realiza colección de semen mediante la técnica del masaje. A menudo los exámenes pasan por alto los anillos inguinales, pero es importante mencionar que pueden palparse, su ubicación esta circunscrita a 15 a 20 cm ventral al borde pélvico y 5 a 15 cm de la línea media. Cuando los anillos se palpan observándose aumento de tamaño y el observador puede introducir 3 o más dedos, el animal tendrá predisposición a presentar hernia inguinal ^{22,30}.

COLECCIÓN DE SEMEN Y EVALUACIÓN

Producción espermática

Todos los veterinarios que realizan BSE necesitan comprender el proceso de espermatogénesis. Cuando los resultados de observación de una muestra de semen son normales, un toro puede ser clasificado como **REPRODUCTOR SATISFACTORIO**; sin embargo cuando la muestra de semen presenta algunas anormalidades, inmediatamente surgen preguntas relacionadas con el pronóstico y mejoramiento. Son componentes integrales de un BSE: la comprensión del origen de las anormalidades, su naturaleza, el pronóstico, así como sus efectos sobre la fertilidad.

Los testículos están envueltos por una capsula compuesta de dos capas a saber, la túnica albugínea y la túnica vaginal visceral. La masa testicular interna o parénquima se compone por numerosos túbulos seminíferos, el parénquima brinda soporte al tejido intersticial el cual consiste de los vasos sanguíneos, conductos linfáticos, nervios, tejido conectivo y células de Leydig productoras de testosterona. Los espermatozoides se producen en el interior de los túbulos seminíferos los cuales hacia la parte central del testículo se conectan a la red testicular. Los túbulos seminíferos contienen una membrana basal íntimamente unida al epitelio tubular, esta unión constituye el epitelio germinal. Las células de Sertoli son las más prominentes del epitelio germinal, cumplen la función de nutrir, soportar y regular la producción de espermatozoides. Las células de Sertoli también secretan los fluidos mediante los cuales los espermatozoides se desplazan por el sistema tubular del testículo. Entre las células de Sertoli se forman uniones fuertes (*tight junctions*) dichas uniones conforman el

compartimento basal. La barrera hemato-testicular está conformada por la unión de las *tight junctions* y las células mioideas que están localizadas afuera de la membrana basal, esta barrera garantiza la protección de las células germinales frente al sistema inmune^{28,31}. Hacia el lumen de los túbulos seminíferos se localizan las células germinales más desarrolladas.

El proceso de espermatogénesis comienza con las espermatogonias tipo A y B, estas células experimentan 2 divisiones mitóticas, dando origen a los espermatoцитos primarios localizados en el compartimento basal, desde allí los espermatoцитos primarios se mueven hacia el compartimento adluminal donde se transforman, para formar espermatoцитos secundarios y espermátides. Los procesos de cambio a través de los cuales se alcanza el estado de espermátide incluyen condensar el núcleo, formar el acrósome y elongar la cola. Las espermátides elongadas antes de ser liberadas, como espermatozoides hacia el lumen tubular, están rodeadas por el citoplasma de las células de Sertoli, en estas cavidades las espermátides completan el proceso de maduración final y se convierten en espermatozoides. Una vez liberados a la luz de los túbulos seminíferos, los espermatozoides fluyen hasta la red testicular (*rete tubules*) a continuación de esta estructura los conductos eferentes se fusionan y forman la cabeza del epidídimo (localizada en el polo superior del testículo) a partir de la cual los espermatozoides fluyen por un solo conducto, los espermatozoides recorren la totalidad del epidídimo pasando de la cabeza al cuerpo y finalmente llegan a la cola de este conducto. El tránsito por el epidídimo permite que los espermatozoides maduren y alcancen la capacidad de fertilidad, las competencias adquiridas incluyen, adquisición de movilidad progresiva, condensación del núcleo y modificaciones en el acrósome. Por otra parte en los túbulos seminíferos, se reabsorbe líquido generándose el establecimiento de un medio ambiente limitado, donde los espermatozoides preservan sus reservas energéticas. En el toro la longitud del epidídimo es de 40 m de longitud, los espermatozoides atraviesan este conducto en un tiempo de 8 a 11 días, la rapidez del tránsito depende en gran medida de la velocidad a la cual son vaciadas las reservas espermáticas. Los espermatozoides son almacenados en la cola del epidídimo, esta parte del conducto comprende el tercio distal y es la única parte que suministra durante la eyaculación espermatozoides a los conductos deferentes y hacia la uretra. El semen almacenado no es móvil, sin embargo adquiere la movilidad cuando se le adiciona un buffer especial. La producción espermática es un proceso continuo, el almacenamiento de espermatozoides se realiza en las estructuras tubulares del sistema genitales, incluyéndose en este sistema a los conductos deferentes y al ámpula. La eyaculación tiene como efecto la disminución de las reservas. Sin embargo cuando no hay eyaculación excesiva, los espermatozoides envejecidos son eliminados a través de la orina. Los espermatozoides pueden ser almacenados durante varias semanas en el sistema tubular^{28,31}.

Una célula tipo espermatogonia necesita de 62 días, para ser liberada en el lumen de un túbulo seminífero como un espermatozoide. A estos 62 días se suman de 8 a 10 días de maduración en el epidídimo, de tal manera que la producción de espermatozoides competentes dura más de 70 días.

Colección de semen

El semen puede ser obtenido mediante el masaje trans-rectal del ámpula, la uretra pélvica y la próstata; además mediante la recolección del semen depositado en la vagina de una vaca después del apareamiento. También se obtiene con el uso de una vagina artificial (VA) y a través de la técnica de electroeyaculación. La recolección de semen usando una VA requiere de toros manejables, instalaciones adecuadas, personal adicional, animales de monta, pero tal vez el requerimiento que más tiempo consume, es la necesidad de entrenar y manipular pacientemente a casi todos los reproductores sometidos a este método. Con la excepción de los toros colectados mediante VA en centros de reproducción, el método más popular en los Estados Unidos es la técnica de electroeyaculación. La principal ventaja de la técnica de electroeyaculación es la velocidad y eficiencia en la obtención de muestras representativas con alta calidad seminal. El único inconveniente es la presentación de leves molestias atribuibles al

dolor causado por el procedimiento. Sin embargo el uso de una buena técnica disminuye la presentación de reacciones adversas ³².

La estimulación eléctrica es aportada por una unidad de electro-eyaculador y transmitida a una sonda ubicada en el recto; para actuar sobre las glándulas sexuales accesorias y la uretra pélvica, este dispositivo cuenta con unos electrodos dirigidos ventralmente. Después de examinar los genitales internos, se puede realizar un masaje para relajar el esfínter anal y permitir la introducción de la sonda. El masaje dirigido al ámpula, las vesículas seminales y a la uretra pélvica, tiene el efecto de estimular sexualmente al toro y también causa disminución del tiempo requerido para obtener la muestra de semen ³². Dependiendo del tamaño de los toros, las sondas existentes también varían. Para asegurar un buen contacto de los electrodos de la sonda con los tejidos adyacentes, es preferible escoger la sonda más grande que pueda colocarse de forma confortable en el recto del toro.

Durante el proceso de electroeyaculación el operador debe esforzarse por que el toro alcance la protrusión del pene, si esto no ocurre un asistente puede empujar la flexura sigmoidea justo atrás del escroto, mientras el operador intenta agarrar el glande para exponer el pene fuera del prepucio, una herramienta segura y efectiva para alcanzar este objetivo puede ser una gasa quirúrgica. Las verrugas, abrasiones y desviaciones de pene, son evidentes cuando ocurre la protrusión del pene. Durante la electroeyaculación las desviaciones de pene en forma de sacacorchos no se atribuyen a causas patológicas, pero las de otro tipo se consideran anormales. Las cicatrices en el prepucio, las adhesiones y estenosis son comunes después de las laceraciones del prepucio y pueden conducir a la dificultad para alcanzar una erección completa del pene. A nivel del prepucio si se palpan masas firmes puede ser indicativo de lesión.

La colección de semen es facilitada por el uso de asas de recolección comerciales, en las cuales se puede colocar un embudo plástico desechable unido a un tubo plástico. Los tubos de recolección deberían estar tibios al momento de la colecta del semen. El fluido pre-seminal no se colecta ya que diluye la muestra, por otra parte el enfriamiento afecta negativamente la movilidad si la recolección tarda demasiado. Cuando el fluido eyaculado se vuelve turbio y blanco el tubo de colección se coloca sobre el pene para obtener la muestra. La mayoría de los toros se colectan con una modesta estimulación eléctrica. Unos pocos casos son desafiantes y requerirán variaciones en la técnica. Una dificultad común en toros adultos es el uso de sondas demasiado pequeñas, en ese caso se aconseja emplear la sonda de 90 mm (*Lane Manufacturing, Inc, Denver CO*). No es posible coleccionar a todos los toros mediante la técnica de electroeyaculación, en algunos toros el uso de esta técnica presenta dificultades de manera reiterativa.

Evaluación de semen

La concentración, la movilidad y la morfología son características espermáticas consideradas como determinantes importantes de la fertilidad: ^{33,38}. Aunque la concentración o densidad del eyaculado se registra de forma rutinaria, su único valor real es como indicador de la capacidad del toro para producir eyaculados de buena calidad, los valores de concentración obtenidos permiten inferir la confiabilidad del método de recolección. El volumen y la densidad de una muestra seminal pueden variar en virtud del método de recolección empleado, se acepta que la electroeyaculación no es apropiada para evaluar la capacidad de producción espermática, en ese sentido la productividad espermática puede medirse indirectamente a través de la CE. Los toros adultos saludables tendrían que producir eyaculados de aspecto cremoso y lechoso; las muestras más concentradas son de apariencia granulosa y contienen 1 billón de espermatozoides o más por mililitro ³⁹. Es normal la presentación de muestras concentradas de coloración dorada o de margarina amarilla, su ocurrencia se debe a la presencia de riboflavina. La contaminación urinaria puede diluir las muestras de semen y teñirlas de amarillo. Las muestras contaminadas se pueden identificar mediante el olfato o usando una tira para prueba de nitrógeno sanguíneo. En cuanto a la contaminación sanguínea la muestra toma

coloraciones que van del rosa al rojo sangre. Tanto la contaminación sanguínea como la urinaria afectan negativamente la viabilidad espermática⁴⁰.

La movilidad de los espermatozoides se evalúa mediante dos enfoques. De forma fácil y rápida se examina la movilidad en masa, se coloca sobre un portaobjetos tibio una gota grande de semen, paso seguido usando microscopia de campo brillante se realiza la observación a 40x o 125x. Para evaluar la movilidad en masa es suficiente observar 1 o 2 campos, la interpretación se hace en base al significado del movimiento, el cual no representa únicamente movilidad sino concentración espermática, movilidad progresiva y velocidad; de hecho una muestra diluida puede tener una alta proporción de espermatozoides móviles, pero carecer de los remolinos oscuros típicos de una buena movilidad en masa. Otro evento común es el enfriamiento de las muestras, en ese caso pueden observarse concentración y movilidad en masa adecuadas pero la tasa de movilidad individual se aprecia disminuida. En la Tabla 2 se observan las clasificaciones para la movilidad en masa.

Movilidad	Abreviatura	Descripción
Muy buena	MB	Remolinos oscuros y rápidos
Buena	B	Remolinos y espirales lentos
Regular	R	Ondas apenas perceptibles
Pobre	P	No hay ondas

Si la movilidad en masa se clasifica como buena o muy buena, de manera general se acepta que la movilidad espermática no presenta problemas y no se hace necesario realizar pruebas adicionales. Sin embargo si la muestra es clara o tiene pobre movilidad en masa, se hace indispensable evaluar la movilidad individual para explicar las razones de estos resultados. La movilidad individual se expresa como el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos, la Tabla 3 expone los valores para la movilidad individual, la cual se determina depositando sobre un portaobjetos limpio y tibio una gota pequeña de semen, la observación se realiza con microscopio de luz brillante usando un aumento de 200x a 400x, sin embargo es importante señalar que la movilidad individual se puede observar más fácilmente con un microscopio de contraste de fases, en ese sentido la inversión en un microscopio de este tipo debería ser hecha por los veterinarios que realizan BSE³⁹. La movilidad individual se determina comparando la proporción de espermatozoides móviles *versus* aquellos con escaso movimiento o realmente inmóviles. La estimación más confiable se alcanza observando varios campos y promediando los resultados registrados³⁷. La movilidad espermática puede afectarse por el calor, el frío, la contaminación por orina u otros fluidos (sustancias con presencia de jabón). Cuando se registra una clasificación de movilidad muy pobre, estos valores deben corroborarse mediante la inclusión de pruebas para evaluación de la morfología y la vitalidad (proporción de espermatozoides vivos), la movilidad espermática pobre, puede ser causada por espermatozoides con flagelos doblados en la pieza media distal o por un porcentaje alto de espermatozoides muertos. Los espermatozoides con la pieza media doblada no se consideran anormales morfológicamente, esta alteración se adjudica a variables como la contaminación o el frío capaces de afectar la integridad de la membrana espermática. Si un hallazgo de movilidad pobre no puede ser corroborado, es importante realizar la evaluación de una segunda muestra. El porcentaje mínimo de movilidad individual aceptado por la SFT es de 30% mientras que el sistema de la WCABP exige un 60%.

La evaluación de la morfología espermática inicia con la realización de un extendido bien preparado. La tinción de eosina-nigrosina tiene una gran disponibilidad siendo la más popular para evaluar espermatozoides de toro. El colorante eosina penetra las membranas de las células dañadas tiñendo de rosa a los espermatozoides muertos o no viables, gracias a su mecanismo de acción, esta técnica se denomina como una tinción vital. La nigrosina suministra

un contraste púrpura oscuro, aumentando la nitidez tanto de los espermatozoides no viables como la de los vivos. Los espermatozoides vivos no absorben la eosina apareciendo como células de color blanco, sin embargo algunos espermatozoides están teñidos hasta la mitad, en estas células gracias al acrósona la eosina no penetra en el extremo anterior, pero en su región ecuatorial el colorante ingresa, los espermatozoides teñidos hasta la mitad son células no viables, su presentación es evidente cuando los extendidos no se preparan en condiciones ideales. Cuando las muestras de semen son manipuladas adecuadamente y no hay defectos espermáticos que afecten la movilidad, la proporción de espermatozoides vivos (células coloreadas) se correlaciona positivamente con el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos²².

Para preparar un extendido de semen, coloque en el extremo de un portaobjetos una gota pequeña de colorante. En primer lugar se deposita el colorante, seguir este orden limita la exposición de los espermatozoides a los efectos dañinos causados por el enfriamiento y el desecamiento; realizar un extendido sobre la totalidad de la placa, suministra una vez el portaobjetos está seco, un área ideal para contar de 10 a 20 campos. Los extendidos deben secarse de manera rápida, de esta forma se evita la formación de colas dobladas, un tipo de artefactos generados por las propiedades hipotónicas del colorante eosina-nigrosina; las placas pueden secarse rápido usando un calentador o soplando enérgicamente sobre ellas. Los conteos diferenciales para evaluación de la morfología espermática son hechos usando aceite de inmersión; el uso conjunto de un aumento de 1000x mas contadores celulares, resulta en el fácil conteo de las anomalías. Un conteo de al menos 100 células es suficiente, si la cantidad de anomalías espermáticas no es importante. Sin embargo cuando se encuentran demasiadas anomalías se deben contar al menos 300 células para garantizar la confiabilidad de los resultados²². Cuando se usan contadores de células, se pueden oprimir dos teclas para señalar las células con más de un defecto, pero únicamente se cuenta una célula en el conteo total, por lo tanto la proporción de defectos es registrada como los defectos existentes por cada 100 células *versus* el número de defectos espermáticos contados en 100 células.

Aproximadamente existen 25 diferentes clases de defectos espermáticos²² consignados en textos, manuales y hojas informativas. La evaluación consistente de la morfología espermática, requiere un microscopio de buena calidad, la preparación correcta de los extendidos y el estudio sistemático de cada una de las formas adoptadas por los espermatozoides. Los observadores sin experiencia pueden fallar en la clasificación de algunas anomalías, dicha deficiencia puede manifestarse al observar algunas flexiones de la pieza media, cabezas estrechas y vacuolas con forma de diadema. Para mejorar las habilidades propias algunos veterinarios envían a colegas más experimentados aquellos extendidos donde han observado anomalías difíciles de clasificar. Es de suma importancia entender la patogénesis de la morfología espermática anormal, ya que este conocimiento permite que los técnicos establezcan diagnósticos y pronósticos de forma precisa.

PATOGÉNESIS DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

Para ser clasificado como un **REPRODUCTOR SATISFACTORIO** un toro debe tener más del 70% de espermatozoides normales. Mientras la mayoría de extendidos presentan una variedad de defectos espermáticos, ocasionalmente hay extendidos en los cuales destaca la presentación de un defecto en particular, en estos casos es aconsejable ser cauteloso, ya que la preponderancia de un solo defecto indicaría un problema serio el cual puede empeorar. No se deben considerar como satisfactorios los espermiogramas con más del 20% de defectos de cabeza, 20% de gota proximal, 25% de anomalías en el acrósona o en la cola³⁹.

Durante la evaluación seminal, la presentación de pocos defectos espermáticos no tiene efectos sobre la fertilidad. Proporciones mayores de espermatozoides anormales, sugieren la presentación generalizada de problemas que afectan, áreas grandes dentro de los túbulos seminíferos. Estos eventos se refieren a menudo, como perturbaciones de la

espermatogénesis. Ya sea solos o en combinación la espermatogénesis puede afectarse por factores de tipo genético, tóxico, nutricional, infeccioso, sin embargo en toros de todas las edades destaca el papel perjudicial desempeñado por el estrés y el calor ⁴¹.

Dada su ubicación dentro del escroto, los testículos se mantienen a una temperatura de 4°C más fríos con respecto al resto del cuerpo, sin embargo a parte de la ubicación anatómica de los testículos, la temperatura se regula por otros medios, alcanzándose enfriamiento de la sangre arterial mediante, el mecanismo de intercambio calórico a contracorriente, conformado por el plexo pampiniforme localizado en el vértice del testículo ⁴². Se han observado alteraciones en la termorregulación testicular debidas a dermatitis, orquitis y enfermedad sistémica o traumática; sin embargo la causa más frecuente para una termorregulación anormal, ocurre en los toros obesos por acumulación de tejido graso a nivel del cuello del escroto ⁴³. No todos los toros obesos acumulan grasa en el cuello del escroto, además los toros pertenecientes a una raza en particular, presentan diferencias en la acumulación de tejido a graso; sin embargo independientemente de la raza, los toros obesos tienen mayor probabilidad en presentar baja calidad seminal. En cuanto los toros de 2 años o mayores, son una categoría que presenta riesgos, ya que en las exposiciones y ferias de venta, estos animales por razones comerciales suelen presentarse gordos ⁴². En los toros jóvenes el crecimiento rápido, disminuye la probabilidad de acumular grasa en el cuello escrotal. Los testículos funcionan cerca de la hipoxia, de tal forma que los incrementos en la temperatura ambiental, tienen el efecto de aumentar el metabolismo celular, en consecuencia una temperatura aumentada conduce a la hipoxia ⁴⁴; bajo estas circunstancias la espermatogénesis puede verse afectada, encontrándose porcentajes de espermatozoides morfológicamente anormales comprendidos entre 20% a 50%, valores reconocidos como indicativos de degeneración testicular. El término degeneración testicular describe la pérdida de CE, el ablandamiento de los testículos y el incremento en el porcentaje de espermatozoides anormales a menudo mayor del 80%. Estos cambios se originan por pérdidas considerables en las capas germinales de los túbulos seminíferos. Si las células de Sertoli y las espermatogonias permanecen intactas, el proceso de espermatogénesis tiene posibilidades favorables para retornar a la normalidad, sin embargo esta resolución puede requerir varias semanas e incluso meses. Lamentablemente cambios degenerativos más severos o duraderos, pueden desembocar en condiciones de afectación permanente ⁴³.

A través de la liberación de cortisol el estrés afecta la función testicular, las causas más comunes son: enfermedad, injuria, dolor, hambre o cambios de temperatura. El cortisol suprime la secreción de LH y FSH generándose descenso en la concentración de la testosterona producida por las células de Leydig. La función de las células de Sertoli está bajo control hormonal, por lo tanto cualquier cambio en la producción hormonal afecta la espermatogénesis. Los toros de feria sometidos a periodos largos de exposición, presentan cojeras o estrés conjuntamente con morfología espermática afectada. Para tener un efecto negativo el estrés debe durar de 3 a 4 días, esta premisa se acepta como regla. Alrededor de los últimos 18 días de la espermatogénesis (periodo nombrado como espermiogénesis), las espermátides redondeadas experimentan la elongación, entonces finalmente los espermatozoides están listos para ser liberados al lumen de los túbulos. Las espermátides son el tipo de células germinales más sensibles a las situaciones adversas; por lo tanto los cambios morfológicos pueden ocurrir con mayor frecuencia durante esta etapa. Las células en meiosis también son muy sensibles pero tienden a degenerar, dejando espacios en el epitelio germinal, presentándose en consecuencia menos producción espermática ³¹. Es de resaltar que el estrés originado por el calor no tiene un efecto notable sobre el tipo de anomalía espermática y la secuencia de aparición. Tanto el aislamiento térmico de los testículos (scrotal insulation) durante 4 días como la administración diaria de 20 mg de dexametasona por 7 días, son ensayos con fines experimentales, para mimetizar situaciones de estrés; ambas pruebas afectan el porcentaje de espermatozoides normales, presentándose a las 3 semanas después del tratamiento, el punto más bajo de normalidad espermática, sin embargo los porcentajes

para la morfología espermática, regresan a los valores pre-tratamiento 6 semanas después de iniciado el experimento ⁴⁵.

Las anomalías espermáticas se han clasificado según su origen u observando el efecto que puedan tener sobre la fertilidad. En el pasado tales sistemas fueron confiables, pero en la actualidad son confusos y poco prácticos ²²; los esfuerzos deberían focalizarse para entender la causa y el significado de los defectos más prevalentes. Para determinar el impacto potencial sobre la fertilidad, se debería practicar un conteo diferencial de los defectos espermáticos. Un paso importante es determinar si el defecto puede ser compensado aumentando la dosis espermática, o si por el contrario el tipo de defecto no puede ser compensado aumentando el número de espermatozoides normales. Por ejemplo las anomalías que comprometen la movilidad son compensables (cabezas desprendidas, flexión de la pieza media y enrollamiento de la pieza principal), estos espermatozoides son removidos antes de alcanzar el oviducto o no pueden ser transportados a través del cérvix, en cuanto a los espermatozoides con defectos de acrosoma alcanzan de manera normal el ovulo pero son incapaces de penetrar la zona pelúcida; en consecuencia podemos asegurar que los espermatozoides normales pueden compensar la capacidad de fertilización de una muestra de semen ^{22,46}. Los espermatozoides con vacuolas nucleares, tendrán la capacidad de penetrar la zona pelúcida si su cabeza no tiene malformaciones importantes e impedirán el acceso a otros espermatozoides; en casos como este incrementar el número de espermatozoides, no eleva la probabilidad de fertilización del ovulo por parte de los espermatozoides normales ^{22, 46,47}. La investigación continua permitirá aumentar el conocimiento, sobre los efectos de los defectos espermáticos en la fertilidad. Un hallazgo importante fue descubrir, la falla de los espermatozoides con gota citoplasmática proximal, para unirse al ovulo en condiciones *in vitro*, observándose que los espermatozoides normales pertenecientes al mismo eyaculado, también evidencian una habilidad reducida de unión al ovulo ²².

RESUMEN

Independientemente del sistema usado (WCABP o SFT) para que un toro sea clasificado como **REPRODUCTOR SATISFACTORIO**; debe estar en buena condición física, alcanzar un mínimo de CE, tener un porcentaje de normalidad espermática de 70%, alcanzar un porcentaje estándar de movilidad progresiva siendo del 60% para la WCABP y de 30% para la SFT. Además el sistema de la WCABP incluye las categorías de **CUESTIONABLE, DIFERIDO e INSATISFACTORIO**, mientras que el sistema SFT tiene las categorías de **DIFERIDO e INSATISFACTORIO**, pero cada organización establece los criterios para realizar la clasificación en estas categorías.

Los toros deben ser manejados apropiadamente asegurando su preparación para temporadas de reproducción cortas e intensas. El agrupamiento de los toros en estabulados o potreros, debe ser realizado atendiendo a su jerarquía social. Los toros maduros pueden ser asignados a grupos de hembras a razón de 1:40 (toro:vaca), pero siempre deberá observarse la dominancia social, la libido y los problemas relacionados con las lesiones.

REFERENCIAS

1. King EH. Management of breeding bull batteries. In: Hopper RM, editor. Bovine reproduction. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 92–6.
2. Brito LFC. Bull development: sexual development and puberty in bulls. In: Hopper RM, editor. Bovine reproduction. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 41–57.
3. Setchell BP. Spermatogenesis and spermatozoa. In: Austin C, Short R, editors. Reproduction in mammals, 1: germ cells and fertilization. 2nd edition. Cambridge (United Kingdom): Cambridge University Press; 1994. p. 1363.
4. Cobo E, Cipolla A, Morsella C, et al. Effect of two commercial vaccines to campylobacter fetus subspecies on heifers naturally challenged. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2003;50:75–80.

5. Vasquez LA, Ball L, Bennet BW, et al. Bovine genital campylobacteriosis (vibriosis): vaccination of experimentally infected bulls. *Am J Vet Res* 1983;44:1553–7.
6. Cobo ER, Corbeil LB, Gershwin LJ, et al. Preputial cellular and antibody responses of bulls vaccinated and/or challenged with *trichomonas foetus*. *Vaccine* 2010;28:361–70.
7. Cobo ER, Corbeil LB, BonDurant RH. Immunity to infections in the lower genital tract of bulls. *J Reprod Immunol* 2011;89:55–61.
8. Kirkland PD, McGowan MR, Mackintosh SG. The outcome of widespread use of semen from a bull persistently infected with pestivirus. *Vet Rec* 1994;135:527–9.
9. Kirkland PD, McGowan MR, Mackintosh SG, et al. Insemination of cattle with semen from a bull transiently infected with pestivirus. *Vet Rec* 1997;140:124–7.
10. Newcomer BW, Toohey-Kurth K, Zhang Y, et al. Laboratory diagnosis and transmissibility of bovine viral diarrhoea virus from a bull with a persistent testicular infection. *Vet Microbiol* 2014;170:246–7.
11. Paton DJ, Goodey R, Brockman S, et al. Evaluation of the quality and virological status of semen from bulls acutely infected with BVDV. *Vet Rec* 1989;124:63.
12. Givens M. Assessment of available vaccines for bulls to prevent transmission of reproductive pathogens. *Clinical Theriogenology* 2012;4:308–13.
13. Stewart JL, Shipley CF, Ireland FA, et al. Long-term effects of clinical applications of pyrethrin and cyfluthrin, a synthetic pyrethroid, on bull reproductive parameters. *Clinical Theriogenology* 2015;7:309.
14. Blockey MAdeB. Observations on group mating of bulls at pasture. *Appl Anim Ethol* 1979;5:15–34.
15. Rupp GP, Ball L, Shoop MC, et al. Reproductive efficiency of bulls in natural service: effects of male to female ratio and single- vs multiple-sire breeding groups. *J Am Vet Med Assoc* 1977;171:639–42.
16. Petherick JC. A review of some factors affecting the expression of libido in beef cattle, and individual bull and herd fertility. *Appl Anim Behav Sci* 2005;90: 185–205.
17. Holroyd RG, Doogan VJ, De Faveri J, et al. Bull selection and use in northern Australia 4. Calf output and predictors of fertility in multiple-sire herds. *Anim Reprod Sci* 2002;71:67–79.
18. Fordyce G, Fitzpatrick LA, Cooper NJ, et al. Bull selection and use in northern Australia 5. Social behaviour and management. *Anim Reprod Sci* 2002;71:81–9.
19. Hopper RM. Breeding soundness in the bull: concepts and historical perspective. In: Hopper RM, editor. *Bovine reproduction*. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 58–67.
20. Alexander JH. Bull breeding soundness evaluation: a practitioner's perspective. *Theriogenology* 2008;70:469–72.
21. Monke DR. Examination of the bovine scrotum, testicles, and epididymides—part I. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1987;9:F252–5.
22. Barth AD. Bull breeding soundness. 3rd edition. Saskatoon (SK): Western Canadian Association of Bovine Practitioners; 2013. p. 14–49.
23. Monke DR. Examination of the bovine scrotum, testicles and epididymides—part II. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1987;9:F277–83.
24. Steffen D. Genetic causes of bull infertility. *Vet Clin North Am* 1997;13:243–53.
25. Kastelic JP, Cook RB, Pierson RA, et al. Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production and seminal quality in 129 beef bulls. *Can J Vet Res* 2001;65:111–5.
26. Waldner CL, Kennedy RI, Palmer CW. A description of the findings from bull breeding soundness evaluations and their association with pregnancy outcomes in a study of western Canadian beef herds. *Theriogenology* 2010;74:871–83.
27. Coulter GH, Keller DG. Scrotal circumference of young beef bulls: relationship to paired-testes weight, effect of breed and predictability. *Can J Anim Sci* 1982;62: 133–9.

28. Senger PL. The organization and function of the male reproductive system. In: Senger PL, editor. *Pathways to pregnancy and parturition*. 2nd edition. Pullman (WA): Current Conceptions, Inc; 2003. p. 44–79.
29. Alexander J. Evaluation of breeding soundness: the physical examination. In: Hopper RM, editor. *Bovine reproduction*. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 64–7.
30. Cates WF. Examination of the bull for breeding soundness. *Vet Clin North Am* 1983;5:157–67.
31. Barth AD, Oko RJ. Normal bovine spermatogenesis and sperm maturation. In: Barth AD, Oko RJ, editors. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Ames (IA): Iowa State University Press; 1989. p. 19–88.
32. Palmer CW. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls. *Theriogenology* 2005;64:469–79.
33. Larsen RE, Littell R, Rooks E, et al. Bull influences on conception percentage and calving date in angus, Hereford, Brahman and Senepol single-sire herds. *Theriogenology* 1990;34:549–68.
34. Peet RL, Kluck P, McCarth M. Infertility in 2 Murray grey bulls associated with abaxial and swollen midpiece sperm defects. *Aust Vet J* 1998;65:359–60.
35. Barth AD, Oko RJ. Introduction. In: Barth AD, Oko RJ, editors. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Ames (IA): Iowa State University Press; 1989. p. 3–7.
36. Soderquist L, Janson L, Larsson K, et al. Sperm morphology and fertility in AI bulls. *Zentralbl Veterinarmed A* 1991;38:534–43.
37. Foote RH. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim Reprod Sci* 2003;75:119–39.
38. Clarke RH, O'Neill GH, Hewetson RW, et al. The predictability of fertility from semen scores. *Aust Vet J* 1973;49:498.
39. Barth AD. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. In: Youngquist RS, editor. *Current therapy in large animal theriogenology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1997. p. 222–36.
40. Hopper RM, King EH. Evaluation of breeding soundness: basic examination of the semen. In: Hopper RM, editor. *Bovine reproduction*. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 68–78.
41. Johnson WH. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. *Vet Clin North Am* 1997;13:255–82.
42. Barth AD, Cates WF, Harland RJ. The effect of amount of body fat and loss of fat on breeding soundness classification of beef bulls. *Can Vet J* 1995;36:758–64.
43. Barth A. Testicular degeneration. In: Hopper RM, editor. *Bovine reproduction*. Ames (IA): Wiley Blackwell; 2015. p. 103–8.
44. Waites GMH, Setchell BP. Effects of local heating on blood flow and metabolism in the testis of the conscious ram. *J Reprod Fertil* 1964;8:339.
45. Barth AD, Bowman PA. The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexamethasone treatment in bulls. *Can Vet J* 1994;34: 93–102.
46. Kastelic JP, Thundathil JC. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. *Reprod Domest Anim* 2008;43(Suppl 2):368–73.
47. Saake R, Nadir S, Nebel R. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants. *Theriogenology* 1994;41:45.