

Utilización de la electroeyaculación para la evaluación de la aptitud reproductiva potencial del toro en sistemas extensivos en la comunidad autónoma de Extremadura

Torrado, I.¹; Aranda, M.L.¹; Gómez-Arrones, V.¹; Bravo, J.A.^{1*} y Constantino, J.A.²

¹CENSYRA. Dirección General de Agricultura y Ganadería. Consejería de Medio Ambiente Rural, Políticas Agrarias y Territorio. Junta de Extremadura. Badajoz. España.

²Departamento de Ortopediatria. Hospital Materno Infantil. Complejo Universitario Infanta Cristina. Badajoz. España.

RESUMEN

En este trabajo se ha estudiado la aptitud reproductiva potencial (condición físico/sanitaria, aparato reproductor y calidad espermática) de 98 toros de edades comprendidas entre 1 y 10 años, de raza Charolesa, Limusina y Retinta, distribuidos por toda la geografía extremeña. Se pretende encontrar las variables seminales más útiles a la hora de diferenciar entre reproductores. Los análisis de laboratorio han consistido en un espermiograma clásico (aspecto del eyaculado, volumen, concentración, movilidad subjetiva y formas anormales) complementado con la valoración de la movilidad mediante sistema CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*). En todos los casos se ha medido la circunferencia escrotal. Se han clasificado los toros como potencialmente aptos para la reproducción, cuestionables y potencialmente no aptos, tanto por su condición físico/sanitaria como por la calidad espermática, obteniéndose un 68,36% de animales aptos, lo que supone más de un 30% de reproductores que en el momento de la evaluación tendrían alguna limitación reproductiva. Estos datos sugieren la necesidad de incluir la evaluación de la aptitud reproductiva potencial en el manejo rutinario de las explotaciones de ganado vacuno.

Use of the electroejaculation for evaluation of potential reproductive fitness of the bull in extensive systems in the autonomous community of Extremadura

SUMMARY

This paper has studied the potential reproductive fitness (physical/health condition, reproductive tract and sperm quality) of 98 bulls aged between 1 and 10 years, breed Charolais, Limousine and Retinta, distributed throughout Extremadura. This study intended to find the most useful seminal variables to differentiate breeders. Laboratory analyses have been a classic spermogram (aspect of the ejaculate, volume, concentration, subjective motility and abnormal shapes) complemented by assessment of the mobility through CASA system (*Computer Assisted Semen Analysis*). In all cases the scrotal circumference has been measured. They have been classified as satisfactory, questionable and unsatisfactory potential breeders, considering both their physical/health condition and the sperm quality, obtaining a 68.36% of eligible animals, which represents more than 30% of breeders that would have some reproductive limitation at the time of the evaluation. These data suggest the need to include evaluation of potential reproductive fitness in the ordinary management of bovine cattle farms.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Semen.

CASA.

Circunferencia escrotal.

ADDITIONAL KEYWORDS

Semen.

CASA.

Scrotal circumference.

INFORMACIÓN

Cronología del artículo.

Recibido/received: 03.04.15

Aceptado/Accept: 16.02.16

Online: 15.09.16

Correspondencia a los autores/Contact e-mail:

juanandres.bravo@gobex.es

INTRODUCCIÓN

España sigue siendo deficitaria en terneros de engorde por diversos motivos, entre los que destacan los

bajos índices de fertilidad que presenta la cabaña de vacas nodrizas 64 % (Magrama, 2011), siendo necesario importar en torno a medio millón de terneros al año. La reproducción, por tanto, sigue siendo uno de los princi-

pales factores limitantes de la eficiencia productiva y económica en el vacuno de carne en España (Sanz *et al.*, 2013), pues se estima que los caracteres reproductivos tienen una importancia 10 veces mayor que el crecimiento o la ganancia de peso (Delgado *et al.*, 2000).

Además, un buen resultado de fertilidad en un rebaño no es garantía de que todos los sementales posean una adecuada aptitud reproductiva; ese resultado puede verse enmascarado debido a que los animales no están sometidos a una gran presión. Un toro subfétil, o con problemas físicos/sanitarios no evidentes puede cubrir un pequeño grupo de vacas durante un periodo de tiempo suficientemente largo y obtener un número *normal* de partos (Barth, 2007), o bien, las montas se realizan por un lote de toros donde los fértiles suplen las deficiencias de los menos capaces. En otras circunstancias el reproductor sí deja marca de su ineficacia, ya sea en el descenso del número de vacas paridas o en la excesiva amplitud de la temporada de partos. Los toros son los grandes olvidados, aunque en el caso de la monta natural, se responsabilizan del 50 % del éxito o fracaso de la fertilidad.

Por todo lo expuesto, es recomendable conocer la aptitud reproductiva de los sementales que prestan su servicio en una ganadería, bien cuando son adquiridos, antes de comenzar la temporada de cubrición, o una vez iniciada ésta si se sospecha de algún fallo reproductivo achacable al semental, más si se tiene en cuenta que en una población de toros no seleccionada se ha estimado que al menos uno de cada cinco se podría calificar como subfétil (Kastelic y Thundathil, 2008), incapaz de prestar un servicio aceptable o con pobre calidad seminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo se han utilizado 98 toros no seleccionados repartidos por toda la geografía extremeña, de raza limusina (n= 31), charolesa (n= 53) y retinta (n= 14), de edades comprendidas entre 1 y 10 años (edad en años expresada como media \pm SD para la raza Charolesa 4,151 \pm 1,680, Limusina 2,615 \pm 2,241 y Retinta 3,35 \pm 1,415); siempre en explotaciones extensivas con diferentes condiciones de alimentación, sanidad y manejo.

Una vez realizada la exploración física/sanitaria (consistente en la comprobación de la ausencia de enfermedad, la condición corporal, los aplomos y la visión), incluida la medida de circunferencia escrotal (CE) y el examen del aparato reproductor (tanto interno como externo), se procedió a la obtención de 1 o 2 muestras de esperma mediante el método de electroeyaculación (Electrojac 5[®], Ideal Instruments, Lansing, MI, USA), sometiendo al reproductor a impulsos eléctricos de creciente intensidad que se detuvieron en el momento en que comenzó la eyaculación. A la mayoría de los animales se les recogió un eyaculado en el primer ciclo, pero si la muestra no presentaba una aceptable calidad ma-

croscópica se procedía a la obtención de una segunda trascurridos unos 5 minutos. Los reproductores fueron manejados en mangas de contención donde se les inyectó 0,025 ml/10 kg p.v. de clohidrato de xilacina para evitar el estrés (Palmer, 2005); no obstante, si el toro manifestaba signos evidentes de nerviosismo o de sufrir riesgo físico, se suspendía la sesión momentáneamente o de forma definitiva.

Las muestras llegaban al laboratorio refrigeradas y diluidas en Bioxcell[®] (IMV Technologies, L'Aigle, Francia), 1 parte de esperma por 2 de medio de conservación.

En el laboratorio se realizaron las siguientes determinaciones:

- Volumen seminal (VL), calculado directamente del colector en mililitros.

- Concentración (CC) mediante el espectrofotómetro ACCUCCELL[®] (IMV Technologies, L'Aigle, France), expresado en esp/ μ l.

- Movilidad individual (MI) subjetiva: expresada en porcentaje.

- Calidad de movimiento subjetivo (CM): de 0 a 5.

- Formas anormales: para ello se diluyó 10 o 20 μ L de esperma en 200 del diluyente BL-1 y 2 % glutaraldehído (Pursel y Johnson, 1974) y se realizó un recuento de 200 espermatozoides en un microscopio de contraste de fase a 40x, clasificándose en espermatozoides normales (ENR), espermatozoides con anomalías de la cabeza (EANC) y espermatozoides con anomalías del flagelo (EANF) (Barth y Oko, 1989).

La movilidad CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*) se analizó entre porta y cubre a 10x, en contraste de fase negativo mediante el programa ISAS[®] de Proiser, diluyendo la muestra hasta alcanzar una concentración final de 50 \cdot 10⁶ esp/mL en Bioxcell[®] al igual que para MI.

La configuración del sistema CASA suministrada por el fabricante permitió obtener distintas categorías:

- Espermatozoides móviles lentos (con velocidad curvilínea -VCL- \geq 20 μ m/s y <45 μ m/s), medios (VCL entre 45 y 75 μ m/s) y rápidos (VCL >75 μ m/s), siendo VCL la trayectoria real por unidad de tiempo.

- Índice de rectitud, igual o superior al 75 %, siendo éste el valor utilizado para definir los espermatozoides que son considerados progresivos (STR calculado como (VSL/VAL) \times 100, siendo VSL la velocidad rectilínea, el tiempo que tarda espermatozoide entre el primer y último punto del recorrido en línea recta; VAP la velocidad media, obtenida extrapolando los puntos de la trayectoria seguida por el espermatozoide).

- Índice de linealidad (LIN = (VSL/VCL) \times 100).

- Índice de oscilación (WOB = (VAP/VCL) \times 100).

- Desplazamiento lateral de la cabeza (ALH - μ m-).

- Frecuencia de batida de la misma (BCF -Hz-).

Estas categorías descriptivas proporcionan diferentes grupos: espermatozoides estáticos (EST), lentos (LEN), de velocidad media (MED), rápidos (RAP) y progresivos (PRO) expresados en porcentaje sobre el total.

Con referencia al espermiograma, un reproductor se clasificará como potencialmente apto cuando la movilidad alcance el 60 % (MI) y los espermatozoides normales el 70 % (ENR), cuestionable cuando la movilidad iguale o supere el 30 % y la morfología el 50 %, y potencialmente no apto cuando no alcance estos valores mínimos (Barth y Oko, 1989; Alexander, 2008; Fordyce *et al.*, 2003) y la CE sea menor de 30 cm (García, 2013).

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS 20 (SPSS, Chicago, IL, USA). En primer lugar se aplicaron las pruebas de normalidad de Kolmorov-Smirnov y Shapiro Wilk sobre las distintas variables objeto del estudio, obteniéndose un resultado no estadísticamente significativo en todas ellas, por lo que se utilizaron pruebas paramétricas, como análisis de varianza, test de Student y regresión lineal. También se estudió la correlación entre las variables de movimiento y morfología, dentro y entre los dos grupos y la CE, mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson y el test de correlación. Los valores de probabilidad menores de 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo, atendiendo a las características físico/sanitarias del conjunto de los 98 toros, habría que eliminar de la categoría de aptos, 2 animales por problemas testiculares, otros 2 por problemas de aplomos y 1 por una baja condición corporal; en algunos casos esto coincidía con una mala calidad seminal.

Los resultados obtenidos presentan una marcada variabilidad entre las muestras, lo que va a permitir clasificar a los toros de la siguiente manera: toros potencialmente aptos 68,36 %, cuestionables 16,32 % y no aptos 15,30 %. Estas últimas cifras son algo más elevadas que las encontradas en la bibliografía consultada (Barth y Waldner, 2002; Menon *et al.*, 2011), debido probablemente a que no se han seleccionado las ganaderías y que en

algunas de ellas ya existían toros con problemas reproductivos.

En líneas generales, la calidad seminal obtenida mediante electroeyaculación muestra valores medios óptimos de movilidad y morfología espermática, por encima del 74 y 72% respectivamente (**tabla I**); además la VCL y el índice STR aportan resultados muy aceptables (VCL $125,9 \pm 25,6$; VSL $71,8 \pm 17,7$; VAP $95,6 \pm 20,6$; LIN $57,4 \pm 10,5$; STR $75,8 \pm 6,4$; WOB $74,6 \pm 10,3$; ALH $3,7 \pm 0,7$; BCF $11,1 \pm 6,8$), lo que demuestra la existencia de una gran población de espermatozoides rápidos y progresivos en cada eyaculado. También hay que señalar la elevada correlación entre la movilidad y la morfología del espermatozoide (**tabla II**); en el caso de MI, PRO y RAP de manera positiva con ENR y negativa con EANC indicando, que a mayor proporción de espermatozoides morfológicamente normales mayor es el número de espermatozoides móviles; además también son más rápidos y progresivos por la relación positiva entre ENR, VCL, VSL y LIN evidenciando eyaculados de mejor calidad. Hay que destacar la relación del volumen eyaculado con el resto de las variables; volúmenes de muestra más elevados se asocian a peor calidad seminal, así eyaculados con mayor cantidad de espermatozoides lentos, estáticos o con mayor proporción de formas anormales de cabeza presentan un volumen más elevado, y al contrario, cuanto mayor es el porcentaje de espermatozoides móviles, rápidos, progresivos y normales menor es el volumen obtenido. Este hecho es relevante porque pudiera sugerir la existencia de problemas patológicos en las glándulas anejas que se reflejan en el espermiograma. La CC es la única variable que no se asocia a otras estudiadas, no pudiendo interpretar este hecho debido a las limitaciones de la técnica de electroeyaculación.

Como era de esperar, debido a los criterios utilizados para clasificar a los toros, la calidad seminal es inferior en el grupo de animales no aptos y en menor medida en los cuestionables, siendo estas diferencias muy pequeñas o inexistentes en los parámetros que miden el tipo de movimiento LIN, STR, WOB, BCF, ALH y CM (**tabla III**) por lo que se podrían no tener en cuenta a la hora de realizar o interpretar el espermiograma. Que la concentración espermática tampoco presente diferencias entre las tres categorías no se puede achacar a efectos biológi-

Tabla I. Principales estadísticos de las muestras analizadas para las variables de movilidad, morfología y circunferencia escrotal (Main statistics of the sample analyzed for mobility, morphology and scrotal circumference variables).

	EST	LEN	MED	RAP	PRO	MI	CM	CE	ENR	EANC	EANF
Media	13,62	3,70	7,19	75,82	57,26	74,80	3,36	37,36	72,55	9,05	18,42
SD	16,56	4,68	7,41	20,61	16,03	16,17	3,31	3,82	20,28	13,04	14,20

EST: espermatozoides estáticos (%); LEN: lentos (%), MED: medios (%); RAP: rápidos (%); PRO: progresivos (%); MI: movilidad progresiva subjetiva (%); CM: calidad de movimiento subjetiva (de 0 a 5); CE: circunferencia escrotal (cm); ENR: espermatozoides normales (%); EANC: espermatozoides con anomalía en la cabeza (%); EANF: espermatozoides con anomalía en el flagelo (%).

Tabla II. Correlaciones estadísticas entre las variables de movilidad y morfología del esperma de bovino obtenido mediante electroeyaculación (Statistical correlations among the variables of mobility and morphology of bovine semen obtained by electroejaculation).

	EST	LEN	RAP	PRO	VCL	VSL	ENR	EANC	STR	MI	VL
EST	1	0,242*	-0,850**	-0,710**	-0,313**	-0,368**	-0,639**	0,801**	-0,140	-0,920**	0,235*
LEN	0,242	1	0,583	0,217	0,279	0,247	0,313	0,106	0,055	0,301	0,315**
RAP	-0,850**	-0,583**	1	0,694**	0,522**	0,532**	0,605**	-0,644**	0,037	0,848**	-0,259**
PRO	-0,710**	-0,217*	0,694**	1	0,021	0,471**	0,510**	-0,546**	0,670**	0,718**	-0,200*
VCL	-0,313**	-0,279**	0,522**	0,021	1	0,526**	0,313**	-0,248*	-0,310**	0,357**	-0,071
VSL	-0,368**	-0,247*	0,532**	0,471**	0,526**	1	0,420**	-0,355**	0,352**	0,463**	-0,107
ENR	-0,639**	-0,313**	0,605**	0,510**	0,313**	0,420**	1	-0,703**	0,144	0,677**	-0,258*
EANC	0,801**	0,106	-0,644**	-0,546**	-0,248*	-0,355**	-0,703**	1	-0,155	-0,696**	0,266**
STR	-0,140	0,055	0,037	0,670**	-0,310**	0,352**	0,144	-0,155	1	0,183	-0,119
MI	-0,920**	-0,301**	0,848**	0,718**	0,357**	0,463**	0,677**	-0,696**	0,183	1	-0,264**
VL	0,235*	0,315**	-0,259**	-0,200*	-0,071	-0,107	-0,258*	0,266**	-0,119	-0,264**	1

**p<0,01; *p<0,05. Los valores indican el coeficiente de correlación de Pearson. EST: espermatozoides estáticos (%); LEN: lentos (%); MED: medios (%); RAP: rápidos (%); PRO: progresivos (%); VCL: velocidad curvilínea (µm/s); VSL: velocidad lineal (µm/s); ENR: espermatozoides normales (%); EANC: espermatozoides con anomalía en la cabeza (%); STR: índice de rectitud (%); MI: movilidad progresiva subjetiva (%); VL: volumen seminal (ml).

cos, pues el método de obtención de la muestra impide conocer su valor real con total garantía. Un dato a destacar es el mayor VL (**tabla III**) en el grupo de toros potencialmente no aptos, hecho que podría tener relevancia clínica, pero como en el caso de CC, el método de recogida y el protocolo seguido impiden confirmar esa afirmación en este trabajo. La técnica de recogida seminal me-

dante electroeyaculación no es una técnica fisiológica, tiene la ventaja de obtener muestras de toros no entrenados pero su resultado depende del modelo de electroeyaculador, del tipo de sonda, del propio animal y de la pericia del técnico (Barth, 2007), que puede recoger mayor o menor proporción de plasma seminal, con lo que se modificarían los valores de VL y CC.

Tabla III. Distribución de parámetros más relevantes entre los grupos de toros potencialmente no aptos, cuestionables y aptos. Datos expresados en medias y SD) (Distribution of the most relevant parameters among groups of unsatisfactory, questionable and satisfactory potential breeders. Data are expressed as mean and SD).

	ED	CE	EST	VL	LIN	STR	WOB	BCF	ALH	MI	CM	ENR
NA (n=15)	3,12	35,96	36,43 ^a	6,14 ^a	51,50 ^a	74,46	68,04 ^a	11,01	3,30 ^a	50,00 ^a	2,26 ^a	35,43 ^a
SD	2,57	4,82	30,86	2,86	3,91	7,57	13,74	2,46	0,86	26,85	0,56	24,12
CT (n=16)	3,69	37,65	14,66 ^b	3,92	57,84	75,70	76,16	10,40 ^a	3,82	71,92 ^b	2,84	64,15 ^b
SD	1,70	3,88	9,43	1,13	7,74	5,66	5,22	0,95	0,37	11,46	0,55	6,30
AP (n=67)	3,65	37,61	8,46 ^c	4,55	58,55	76,02	75,85	11,33	3,88	81,08 ^c	3,69	82,20 ^c
SD	1,79	3,46	5,79	1,93	9,38	6,24	9,47	8,12	0,75	4,52	3,86	6,48

NA: toros potencialmente no aptos; CT: toros potencialmente cuestionables; AP: toros potencialmente aptos; n: número de casos; ED: edad en años; CE: circunferencia escrotal (cm); EST: espermatozoides estáticos (%); VL: volumen seminal (mL); LIN: índice de linealidad (%); STR: índice de rectitud (%); WOB: índice de oscilación (%); BCF: frecuencia de batida de la cabeza (Hz); ALH: desplazamiento lateral de la cabeza (µm); MI: movilidad progresiva subjetiva (%); CM: calidad de movimiento subjetiva (de 0 a 5); ENR: espermatozoides normales (%). ^{a,b}Diferentes superíndices en la misma columna muestran diferencias significativas p<0,05.

Tampoco hay diferencias significativas entre cada categoría de animales cuando se estudia la CE y la edad de los toros (**tabla III**), ni existe correlación entre CE, MI y ENT. Esto coincide con lo afirmado en otro trabajo donde no se encuentra asociación entre espermatozoides anormales, edad y CE (Menon *et al.*, 2011) ni con el porcentaje de espermatozoides móviles, aunque sí con el porcentaje de espermatozoides normales (Ellis *et al.*, 2005). No obstante hay investigadores que sí relacionan ambos tipos de parámetros, pues toros que no llegan al mínimo recomendado o están por debajo de la media de la población investigada tienen una calidad seminal inferior (Barth y Waldner, 2002). Esto último es lo que sugieren nuestros resultados, pues los toros no aptos poseen una CE inferior a la media.

Con relación a la raza se puede decir que hay diferencias significativas en la edad, CE, VCL y STR. Al utilizar una población de reproductores no seleccionada no se pudo confeccionar lotes homogéneos por edad y raza. Los animales de mayor edad fueron los de raza charolesa (4,151±1,680) y los más jóvenes los limusines (2,615± 2,241). Las diferencias en la CE se pueden explicar tanto por la edad como por la raza, ya que a igual edad los animales de raza limusina presentan una CE menor que la charolesa (34,76±3,54 vs 38,68±3,27) y en una misma raza, los animales jóvenes tienen una CE menor que los adultos (Menon *et al.* 2011). En el caso de los toros retintos tanto edad como CE arrojaron valores intermedios (3,35±1,415 años y 37,10±3,44 cm). Para las diferencias entre razas de VCL y STR no hay una explicación evidente, se debería aumentar el número de animales participantes y plantear otro diseño experimental.

Se ha realizado un modelo de regresión lineal con todas las variables para valorar cuál de ellas puede ser más útil a la hora de discriminar o elegir entre los toros. Dicho modelo de predicción tiene un coeficiente r de 0,89 siendo su fórmula, $\text{aptitud} = -2,001 + 0,026\text{ENR} - 0,021\text{LEN} + 0,026\text{MI} + 0,028\text{CE} + 0,017\text{EST} - 0,008\text{LIN}$, y las variables ENR y MI las de mayor capacidad de discriminación, con el coeficiente β estandarizado más elevado en términos absolutos. Esta ecuación puede ser útil a la hora de clasificar un toro, ya que resultados alrededor de 1, 2 o 3 lo designarían como reproductor potencialmente no apto, cuestionable o apto respectivamente.

De este estudio se desprende que hay parámetros seminales que no aportan nada o si lo hacen son poco relevantes a la hora de discriminar entre animales, sin embargo hay otros como el porcentaje de espermatozoides móviles (MI) y el de espermatozoides de morfología normal (ENR) que sí lo permiten (Alexander, 2008). Además hay autores que sugieren la relación de estas variables con la fertilidad (Barth y Waldner, 2002; Menon *et al.*, 2011). En el caso de la CE no podemos sacar conclusiones claras, pero por su sencillez es recomendable

tomar esta medida, al menos en animales jóvenes, pues ha sido propuesto como predictor de las características seminales, de la libido de los machos y de la edad a la que alcanzan la pubertad sus descendientes (Delgado *et al.*, 2000).

En suma, con esta metodología de recogida seminal se trata de identificar, como mínimo, a los toros con serios problemas reproductivos, y tomar en consideración a los clasificados como cuestionables, pues no se sabe con exactitud cuál va a ser su efecto sobre la fertilidad en el rebaño (Barth, 2007).

CONCLUSIÓN

Se puede decir, que una vez evaluada la condición físico/sanitaria y de capacidad para la monta, la obtención de una muestra de esperma mediante electroeyaculación es un método adecuado, por su relativa sencillez de ejecución y rapidez, para la evaluación de la aptitud reproductiva potencial. El parámetro de referencia en el espermiograma sería la morfología del espermatozoide vista su correlación con la movilidad, por eso se deberían reflejar como mínimo los parámetros ENR y MI. El examen de la capacidad reproductiva potencial de los toros debería incluirse en las rutinas de manejo de las ganaderías, dado que más del 20% de los sementales, en el momento de la evaluación, tienen alguna limitación que afecta a su rendimiento reproductivo y por extensión al económico. Además, la clasificación en no aptos, cuestionables y aptos ayuda a determinar el destino de los animales, los no aptos sería eliminados como reproductores, temporal o definitivamente, y los cuestionables podrían ser utilizados en ganaderías con una presión reproductiva baja.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexander, J.H. 2008. Bull breeding soundness evaluation: a practitioner's perspective. *Theriogenology*, 70: 469-472.
- Barth, A.D. 2007. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. In: R.S. Youngquist and W.R. Threlfall. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd edition. Saunders Elsevier. pp. 228-243.
- Barth, A.D. and R.J. Oko. 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa, pp: 31-43. Ed. Iowa State University Press. Ames.
- Barth, A.D., and C.L. Waldner. 2002. Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine. *Can Vet J*, 43: 274-284.
- Delgado, J.V.; Varela, M.; Molina, A.; Jiménez, J.M. y Rodero A. 2000. Circunferencia escrotal como predictor de la capacidad reproductiva en razas de vacuno de carne autóctono: curvas de crecimiento en el vacuno retinto. *Arch Zootec*, 49: 229-240.
- Ellis, R.W.; Rupp, G.P.; Chenoeth, P.J.; Cundiff, L.V. and Lunstra, D.D. 2005. Fertility of yearling beef during mating. *Theriogenology*, 64: 657-678.
- Fordyce, G.; Entwistle, K.; Norman, S.; Perry, V.; Gardiner, B. and Foprdyce, P. 2006. Standardising bull breeding soundness evaluation and reporting in Australia. *Theriogenology*, 66: 1140-1148.

- García, J.A. 2013. Valoración de la aptitud reproductiva de toros de monta natural. *Tecnología Agroalimentaria. Boletín informativo SERIDA*, 11: 33-38.
- Kastelic, J.P. and Thundathil, J.C. 2008. breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. *Reprod Domest Anim*, 40 (Suppl. 2): 368-373.
- MAGRAMA. 2011. Estudio del sector español de vacas nodrizas. Datos SITRAN. Subdirección General de Productos Ganaderos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. www.morucha.com/documentos/nodrizas2011.pdf (12/01/2015).
- Menon, A.G.; Barkema, H.W.; Wilde, R.; Kastelic, J.P. and Thundathil, J.C. 2011. Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bull. *Can J Vet Res*, 75: 241-247.
- Palmer, C.W. 2005. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bull. *Theriogenology*, 64: 469-479.
- Pursel, V. and Johnson, L. 1974. Glutaraldehyde fixation of boar spermatozoa for acrosome evaluation. *Theriogenology*, 1: 63-66.
- Sanz, A.; Revilla, R.; Álvarez-Rodríguez, J.; Rodríguez-Sánchez, J.A. e Casasús I. 2013. La fertilidad de las vacas nodrizas de nuevo a examen. *Mundo Ganadero*, 251: 38-44.