

EXAMEN ANDROLÓGICO EN TOROS: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL EN CONDICIONES DE CAMPO

Andrea Pinczak

Profesión liberal, Uruguay

La reproducción sexual en todos los mamíferos depende de la fertilización de un óvulo (huevo) por un espermatozoide móvil que tiene que migrar a través de una variedad de ambientes líquidos externos o internos para llegar a su destino. Por lo tanto, la movilidad es la esencia de la función de los espermatozoides. La descripción de los espermatozoides móviles se remonta a los primeros días de la microscopía científica (Ruestow, 1983). La caracterización de la motilidad de los espermatozoides en el eyaculado es considerada como una parte crucial en la evaluación de la fertilidad tanto para humanos como para animales de granja (Jepson et al., 2019).

Barth, (1999) sostiene que un toro para ser altamente fértil debe tener tres atributos básicos: buena condición física, buena libido y capacidad de servicio y buena calidad de semen. Asigna un rol muy importante a la evaluación de la calidad seminal y sostiene que en su país, es la herramienta más empleada para poder llevar a cabo la selección y clasificación de los machos para el servicio natural. Fundamenta su postura en el hecho que un macho se aparee con muchas vacas y en que es de esperar que aquellos toros clasificados como reproductores potencialmente satisfactorios, sean fértiles. Fitzpatrick et al., (2002) realizó un estudio de una gran cantidad de toros evaluados en el norte de Australia y reportó una mayor producción de terneros cuando se usaban toros que tenían eyaculados con > 70% de los espermatozoides (spzs) normales y menor producción en los toros con < 50% de spzs normales, concluyendo que la calidad del semen, especialmente el porcentaje de spzs normales está directamente relacionada a la producción de terneros.

En nuestro país, la evaluación de los reproductores a campo, previo al servicio en la mayoría de los casos incluye un examen físico general y un examen genital. De manera opcional

ya que no es realizado por todos los técnicos se realiza el examen de calidad seminal (espermograma), la prueba de habilidad de monta y raspajes para enfermedades venéreas.

El examen de aptitud reproductiva esta estandarizado en muchos países y debe realizarse por primera vez a los toritos alrededor de los 15 meses de edad. Posteriormente todos los toros del rodeo deben examinarse antes del inicio de cada temporada reproductiva (Peralta, 2004).

Un toro normal y fértil debiera preñar en una temporada de servicio alrededor de 45 a 50 hembras cíclicas, libres de enfermedades. El 60% de ellas, debería preñarse en las primeras 3 semanas de servicio. Un toro de alta fertilidad puede lograr ese resultado o aún mejor, con un número mayor de hembras. (Peralta, 2004).

Barth (2000) considera necesario incluir en la evaluación de los reproductores un análisis de semen. Según su teoría, entre un 15-20 % de los toros que superan los exámenes mencionados, tienen una calidad seminal no satisfactoria, bajo esta denominación incluye reproductores estériles, infértiles y subfértiles.

Dado que un solo macho se aparee con muchas vacas, de su calidad seminal depende que las vacas se preñen y por consiguiente sea óptima la reproducción del rodeo. Este particular detalle hace que sea una necesidad la valoración de la calidad seminal en donde no solo se analiza la concentración espermática, la motilidad, el volumen seminal, aspecto, color, ph sino que además sirve para evaluar la forma de los spzs y establecer el porcentaje de spzs con morfología espermática normal (Barth, 2000).

En Canadá, la valoración de la calidad seminal, es una de las herramientas de análisis más empleada en la clasificación de los ma-

chos para el servicio de monta directa o programas de inseminación artificial, gracias al cual se forma una opinión del potencial de fertilidad del toro de ese momento, ya que la calidad seminal puede cambiar bastante y rápidamente, dependiendo de si un toro está pasando o recuperándose de un proceso que afecte la espermatogénesis (Barth, 2000). Otro aspecto a tener en cuenta es que hoy en día existe una tendencia de utilizar toros más jóvenes en los rodeos para poder bajar los costos y aumentar la vida útil de los mismos. En ese contexto, hay que tener en cuenta que solo la tercera parte de los toros entre los 11 y 13 meses de edad tienen una calidad seminal satisfactoria y que la misma aumenta considerablemente cuatro meses de iniciada la pubertad.

Barth et al., (2006) afirman que el tamaño testicular tiene una correlación positiva sobre la madurez sexual más temprana de sus hijos (machos y hembras) y con rasgos de buena calidad seminal. El 80% del volumen del testículo está ocupado por los tubos seminíferos, que son los encargados de producir las células espermáticas.

Brinks et al. (1978) describieron por primera vez la asociación genética significativa entre las medidas de circunferencia escrotal (SC) en toros jóvenes y la edad de la pubertad en hembras medio hermanas. Otros estudios han confirmado esta relación (Brinks, 1994; Vargas et al., 1998). También se han demostrado correlaciones positivas entre SC y rasgos seminales cuantitativos y cualitativos (Brinks, 1994). Además, se ha demostrado que la circunferencia escrotal del toro es un predictor preciso de la pubertad del toro, con una notable correlación entre razas en la circunferencia escrotal pube-ral (Lunstra et al., 1978).

Toelle, (1985) en sus estudios también reportó una correlación positiva entre la circunferencia escrotal y edad al primer servicio (-0.77), edad al primer parto (0.66) y porcentajes de preñez (0.66). La pubertad de las hembras se asocia directamente con la eficiencia reproductiva, por tal motivo un indicador de selección como la SC aumentara el potencial reproductivo del rodeo y estudios realizados por Lunstra et al., (1978) demostraron que la SC como indicador de selección ofrece más certeza al

comienzo de la pubertad que medidas como el peso o la edad, sin importar la raza.

Hoy en día ya se encuentran disponibles tecnologías más sofisticadas, como el análisis de semen asistido por computadora o método CASA, la microscopía de contraste de interferencia diferencial (DIC) y la citometría de flujo (FC) (Lorton, 2014). Estas tecnologías son muy confiables si se realiza un buen uso de la técnica, el método CASA describe los movimientos de los espermatozoides a través de parámetros específicos de motilidad de una manera muy detallada, objetiva y rápida. LA FC permite evaluar la viabilidad celular, la integridad acrosómica y la función mitocondrial, así como la estructura y el contenido del ADN y predecir la fertilidad potencial del semen (Cenariu et al, 2018).

Sin embargo, en la mayoría de los países incluido el nuestro debido a su alto costo estas tecnologías si bien están disponibles aún están restringidas a su uso en la investigación o en laboratorios y centrales de congelamiento de semen.

En condiciones de campo para determinar la calidad seminal se realiza un espermiograma que incluye la valoración subjetiva de diferentes aspectos macro y microscópicos. Esta valoración si es realizada por un técnico experimentado tiene alta correlación con la valoración objetiva obtenida con los métodos computarizados (Cenariu et al, 2018).

EXAMEN DE CALIDAD SEMINAL (ESPERMIOGRAMA)

1. Obtención de la muestra a analizar

Primeramente debemos contar con una buena muestra para su análisis, aspecto fundamental y no menor es lograr una buena colecta del eyaculado. Para ello podemos hacerlo mediante vagina artificial (VA) o electroeyaculador (EE). El uso de VA es en general la técnica de elección para coleccionar semen, ya que se obtiene el semen de mayor calidad, es relativamente fácil de utilizar, aunque tiene el inconveniente de requerir del entrenamiento previo de los animales por lo que la VA es comúnmente utilizada solo en centrales de colecta o para animales

mansos de cabañas y acostumbrados a ella. En caso de evaluaciones a campo en el que se deben evaluar un gran número de animales la VA no es un método práctico por lo que el método de elección es el EE. La electroeyaculación es una metodología de colección de semen que requiere de la aplicación de estímulos eléctricos en el recto del animal. Para ello, se coloca una sonda en el recto, desde la que se descargan pulsos eléctricos de baja intensidad estimulando las vías nerviosas que determinan la erección del pene, la contracción de los músculos pélvicos y la eyaculación (Ball, 1986, citado por Stafford, 1995). Las sondas pueden tener electrodos longitudinales o transversales que se ubican en el interior ventral del recto para estimular los nervios del tracto genital. Las sondas más antiguas presentan electrodos con anillos, por lo que provocan una estimulación innecesaria de los nervios dorsales del recto (Stafford, 1995). La mayor parte de los equipos provocan descargas de hasta 15-20 V. Aunque existen varios protocolos de aplicación de las descargas eléctricas, en general se utilizan descargas de 3 a 5 V con períodos de descanso de 2 a 3 s entre ellos. La mayoría de los equipos utilizados en la actualidad funcionan de manera automática facilitando la homogeneidad de las descargas y logrando muestras aceptables. Sin embargo a pesar de que la EE es muy práctica y efectiva (Palmer, 2005), es una técnica que afecta el bienestar de los animales siendo su uso cuestionado en varios países de la Unión Europea (Falk et al., 2001) por lo que se están estudiando alternativas como el uso de drogas como la oxitocina que faciliten la colección seminal en menor tiempo y con menor estimulación mediante el EE (Palmer et al., 2004).

Una vez obtenida la muestra pasamos a la evaluación propiamente dicha que consiste en una evaluación macroscópica y una más detallada de forma microscópica.

2. Evaluación macroscópica

2.1 Volumen

El volumen solo debe ser tomado en cuenta cuando la colecta se realiza mediante VA ya que en una colecta mediante EE una vez obtenida una muestra suficiente para su estudio

de 1-2 ml se deja de estimular. El volumen tiene una relación muy cercana con la edad del animal, raza, alimentación, tamaño de los testículos y época del año. En los toros un volumen promedio ronda en los 5 o 6 ml dentro de un rango de 4 a 12 ml. Cuando los toros son jóvenes tienden a producir eyaculados menos voluminosos pero esto cambia a partir del segundo año de vida, cuando debe ser mayor a 4 ml. La obtención de un eyaculado con volumen exagerado puede ser indicio de alguna patología (por ejemplo: seminovesiculitis).

2.2. Aspecto

Es la combinación del color y la densidad de un eyaculado que indirectamente nos da una idea de la concentración de espermatozoides. Los eyaculados poseen en general una coloración blanquecina o amarillenta y una apariencia opaca. El color varía con relación con la concentración de espermatozoides (Ruttery Russo, 2006).

La consistencia del semen bovino depende estrechamente de la concentración de espermatozoides que contenga el eyaculado. Un semen de buena calidad tiene una coloración blanquecina o ligeramente amarillenta y su opacidad se halla en función de la concentración espermática (Barth, 2000).

En cuanto a la pureza, el semen de un toro sano, extraído bajo condiciones higiénicas no contiene pus ni cuerpos extraños. En caso de que aparezcan disminuirán notoriamente la calidad del eyaculado (Holy, 1983) e implican alguna patología. Las posibles etiologías de variación en el color del eyaculado se enume-

Tabla 1. Variaciones de color del eyaculado (Pande et al., 2017)

Color del eyaculado	Probable razón
Marrón claro	Presencia de heces
Parduzco	Pigmentos de sangre en orquitis
Rojo oscuro a rosa	Contaminación eritrocitaria (hemorragia de uretra o cuerpos cavernosos)
Amarillo	Pús, grumos o escamas de glándulas accesorias
Verde amarillento	Presencia de <i>Pseudomonas aureginosa</i>
Verde grisáceo	Presencia de pus
Amarillo acuoso	Contaminación con orina

ran a continuación en la Tabla 1 (Pande et al., 2017):

3. Evaluación microscópica

A campo debe realizarse en condiciones lo más protegida posible, evitando la exposición directa al viento y/o luz solar y para evitar las alteraciones técnicas por shock de frío. Al momento de evaluar la muestra microscópicamente, deben mantenerse los porta y cubreobjetos sobre platina térmica sobre los cuales se coloca la muestra a 37 °C (Barth, 2000). Los microscopios (MO) de elección para una buena evaluación son los MO con luz incorporada, de preferencia con contraste de fase y platina térmica incorporada.

3.1. Motilidad masal

La motilidad masal (MM) es el resultado de la concentración espermática, del porcentaje de células con movimiento progresivo y de la velocidad de movimiento de los espermatozoides (Barth, 2000). Cuando cualquiera de estos factores está afectado, las olas que observamos al microscopio, producidas por el semen, se verán disminuidas o eliminadas. Debemos de tener en cuenta que muestras de semen con una concentración baja puede tener un 80% de motilidad progresiva y velocidad pero no mostrar oleadas, mientras que un semen muy concentrado puede tener un 50% de motilidad progresiva y aun así mostrar poca actividad en la motilidad masal.

El efecto shock térmico en cualquier punto de la colecta o a posteriori, o un tiempo prolongado entre la colecta y la evaluación pueden bajar la actividad masal del semen (Barth, 2000).

3.2. Motilidad individual progresiva

La motilidad individual progresiva es el resultado de la evaluación del movimiento progresivo de los espermatozoides y de los cambios en su motilidad (Barth, 2008).

Esta valoración se realiza sobre una pequeña gota de semen puesta entre un cubre y portaobjetos debidamente limpios y atemperados (Barth et al., 2000). Se expresa como el por-

centaje de células que se mueven en el campo del microscopio de un punto al otro describiendo una línea más o menos recta. Muchos espermatozoides podrán describir otros tipos de motilidad, incluyendo movimientos circulares, así como inversos, debido a anomalías en la cola y a un movimiento de vibración o de oscilación, asociado a menudo al envejecimiento.

Muchas veces el semen de toro es demasiado espeso por lo que a veces es necesario prediluirlo con el fin de llegar a una determinación lo más exacta posible. Es de elección la solución isotónica para la dilución del semen para poder observar individualmente a los espermatozoides.

Según Barth, (1999) la motilidad progresiva también puede ser valorada según la velocidad del movimiento o vigor y el grado de éste, se clasifica según los parámetros presentados en la Tabla 2.

3.3. Concentración

La concentración es el número de espermatozoides contenidos en un mm³ de un eyaculado. Para determinarla se utilizan diferentes métodos como la cámara de Neubauer, la densimetría o la espectrofotometría (Barth et al., 2000). Estos métodos son usados cuando necesitamos saber exactamente la cantidad de espermatozoides como es el caso de calcular dosis cuando se está realizando congelación de semen. Para una evaluación a campo es posible usar una determinación de concentración subjetiva o densidad según la siguiente escala:

D: Poco denso: la distancia entre los espermatozoides es mayor que la cabeza de los espermatozoides, el eyaculado contiene menos

Tabla 2. Escala basada en la velocidad de movimiento de las células móviles según Barth (1999).

Valor	Velocidad del movimiento
0	Sin movimiento
1	Leve movimiento de cola sin desplazamiento progresivo
2	Lento de movimiento con algo de movimiento progresivo
3	Movimiento progresivo a velocidad lenta
4	Movimiento progresivo rápido
5	Movimiento progresivo rápido donde es difícil seguir la célula determinada.

de 500 millones de spzs/ml

DD: Medio: la distancia entre los espermatozoides es aproximadamente la misma que el tamaño de una cabeza de espermatozoides, el eyaculado contine entre 500-1000 millones de spzs/ml

DDD: Muy denso: la distancia entre los espermatozoides es menor que la cabeza de los espermatozoides, se puede evaluar subjetivamente que el eyaculado contine mas de mas 1000 millones de spzs/ml

3.4. Morfología











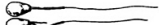



Es en esta etapa en la cual se valora la proporción de espermatozoides normales y anormales que aparecen en un eyaculado, discriminado en los diferentes tipos de anomalías que se aprecian y se determina su relación con la fertilidad in vivo de los toros. Se utiliza para eliminar toros con pobre calidad seminal y refleja la funcionalidad de los testículos, epidídimos y las glándulas accesorias.

A campo es muy difícil realizar al evaluación por lo que se recomienda la obtención de una muestra fijada en formol citrato y luego su evaluación en el laboratorio.

Un aumento en el porcentaje de anomalías espermáticas es indicativo de degeneración, hipoplasia de testículos y /o epidídimo (McGowan et al., 1995). En general es difícil determinar por la proporción de anomalías seminales si se trata de un cuadro permanente o transitorio de disfunción testicular o del epidídimo. Hay que tener en cuenta que la espermatogénesis dura aproximadamente 61 días y 11 días más de pasaje del espermatozoide por el epidídimo (McGowan et al., 1995).

Existen varias formas de clasificar las alteraciones de la morfología de los espermatozoides, una es la clasificación según su ubicación en el espermatozoide clasificandose en defectos de cabeza, pieza media y cola. Otra clasificación es en anomalías primarias y secundarias. Los defectos primarios son los que ocurren en los testículos durante la espermatogénesis y los secundarios son aquellos ocurridos dentro del epidídimo.

En el siguiente cuadro se presenta una de la clasificación de las anomalías espermáticas de toros mas usada actualmente:

Anomalías mayores	Anomalías menores
0: Gotas proximales 	8: Gotas distales 
1: Cabezas piriformes replegadas, crestas nucleares o estrechos en la base 	9: Cabezas sueltas 
2: Colas fuertemente dobladas en base o alrededor cabezas 	10: Colas dobladas simples 
3: Anomalías de la pieza media 	11: Cabezas pequeñas, estrechas o gigantes 
4: Formas inmaduras y Formas dobles 	12: Abaxiales 
5: Vacuolas/cráteres en diadema 	13: Acrosomas desprendidos 
6: Acrosoma en botón 	14: Ruptura parcial de la cola 

Clasificación de Blom (1973) y Ott (1986), modificada por Dumont (1992)

La fertilidad de un toro depende de la proporción de células espermáticas normales y anormales. Sin embargo, la disminución de la fertilidad no se refleja siempre por espermatozoides morfológicamente anormales. El tipo de patología y la proporción en la que se encuentra cada una nos ayuda a diagnosticar disturbios o disfunciones y su grado de severidad.

Cabe destacar que los hallazgos en la morfología seminal no se deben tomar como hechos aislados sino que deben venir acompañados de la historia clínica del animal y de lo encontrado durante las otras etapas del examen andrológico. La presencia de otro tipo de células en el eyaculado (leucocitos, células del epitelio germinal), son indicativos de un proceso patológico en los testículos y/o glándulas sexuales anexas.

Una vez terminada la evaluación podemos clasificar a los reproductores en 3 grupos:

APTO o SATISFACTORIO: Se considera un toro que cumple con los requisitos mínimos en todos los aspectos. El toro proporcionará buenas tasas de concepción siempre y cuando sea utilizado correctamente.

CUESTIONABLE: Son aquellos toros que no pueden ser clasificados como aptos, pero es probable que se recuperen con un tratamiento adecuado. Al momento del examen resultan no satisfactorios pero se recomienda una nueva evaluación en unas semanas dependiendo del motivo por el cual se clasificó como cuestionable.

NO APTOS o INSATISFACTORIOS: Se trata de toros que no logran alcanzar los criterios de satisfactorios en uno o más parámetros cuya alteración es improbable que pueda ser corregida.

BIBLIOGRAFIA

Barth, A.D., 1999. La filosofía de la evaluación de toros: ¿es importante tomar una muestra de semen? III Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. 1-7.

Barth, A.D., 2000. Bull Breeding Soundness Evaluation 2a.ed. Alberta, Western Canadian Association of Bovine Practitioners 75p.

Barth, A. D., Bó.G., Tribulo, H., 2000. Curso de evaluación de toros y control de la calidad seminal Córdoba. Universidad Católica de Córdoba. 55p.

Barth, A.D., Thundahill, J., Mapletoft, R., 2003. Importancia de la calidad seminal y uso de FIV para el estudio de efectos espermáticos. Simposio Internacional de Reproducción Animal. INRA, Buenos Aires, Argentina. p 205-221.

Barth, A.D., 2008. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. Current therapy in large animals Theriogenology, 2a ed. Philadelphia. Saunders. p 222.

Brinks, J.S., McInerney, M.J., Chenoweth, P.J., 1978. Relationship of age at puberty in heifers to reproductive traits in young bulls. Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci. (pp. 29:28).

Brinks, J.S., 1994. Relationships of scrotal circumference to puberty and subsequent reproductive performance in male and female offspring. In: Fields, M.M.J., Sand, R.S. (Eds.), Factors Affecting Calf Crop. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 363–370.

Cenariu, M., Pall, E., Borzan, M., Bogdan, L., 2018. Advanced Techniques of Bovine Semen Analysis. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 75(1).

Falk, A. J., Waldner, C. L., Cotter, B. S., Gud-

mundson, J., & Barth, A. D., 2001. Effects of epidural lidocaine anesthesia on bulls during electro-ejaculation. *Canadian Veterinary Journal*, 42, 116–120.

Fitzpatrick, LA. Fordyce, G., McGowan, MR., Bertram, JD., Doogan, VJ., DeFaveri, J., Miller, RG., Holroyd, RG., 2002. Bull selection and use in northern Australia: Part 2 Semen traits. *Anim Rprod. Sci.*, 71, pp.39-49.

Galloway, D., 1998. Reproduction and the veterinarian. The male, the beef Herd and the dairy Herd. Curso de actualización en reproducción. Facultad de veterinaria. Experimental Mario A. Cassinoni. Paysandú. Uruguay. p 48-49.

Holy, L., 1983. Bases biológicas de la reproducción bovina. México. Diana 464 p.

Jepson, A, Arlt, J., Statham, J., Spilman, M., Burton, K., Wood, T., Poon, W., Martinez, V., 2019. High-throughput characterization of bull semen motility using differential dynamic microscopy. *PLoS ONE* 14(4).

McGowan, M., Galloway, D., Taylor, E., Entwistle, K, Johnston, P., 1995. The Veterinary Australian Association of Cattle Veterinarians. 81p.

Lorton, S.P., 2014. Evaluation of semen in the andrology laboratory. In: Chenoweth, P.J., Lorton, S.P. (Eds.), *Animal Andrology; Theory and Applications*. CABI International, Wallingford, UK, pp. 100–135.

Lunstra, D.D., Ford, J.J., Echterkamp, S.E., 1978. Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. *J. Anim. Sci.* 46, 1054–1062.

Pande, M., Srivastava, N., Arya, S., 2017. Protocols in Semen Biology. Chapter 4:27-42.

Palmer, C.W., 2005. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls. *Theriogenology* 64:469–79.

Peralta, R., 2004. Etapas del examen clíni-

co-andrológico del toro. Examen de la aptitud reproductiva de los toros. Memorias de las Segundas Jornadas Taurus de reproducción bovina: 29-35.

Ruestow, E.G., 1983. Images and ideas: Leeuwenhoek's perception of the spermatozoa. *J Hist Biol.* 16(2):185–224.

Rutter, B., Russo, A., 2006. Bases para la Evaluación de la Aptitud Reproductiva del toro 2a ed. Buenos Aires. *Agro Vet.* 270p.

Stafford, K.J., Spoorenberg, J., West, D.M., Vermunt, J.J., Petrie, N., Lawoko, C.R. 1995. The effect of electro-ejaculation on aversive behavior and plasma cortisol concentration in

rams. *N Z Vet J* 44:95–8

Toelle VD, Robison OW. 1985. Estimates of genetic correlations between testicular measurements and female reproductive traits in cattle. *J Anim Sci* 60 89-100.

Vargas, C.A., Elzo, M.A., Chase Jr., C.C., Chenoweth, P.J., Olson, T.A., 1998. Estimation of genetic parameters for scrotal circumference, age at puberty in heifers, and hip height in Brahman cattle. *J. Anim. Sci.* 76, 2536–2541.