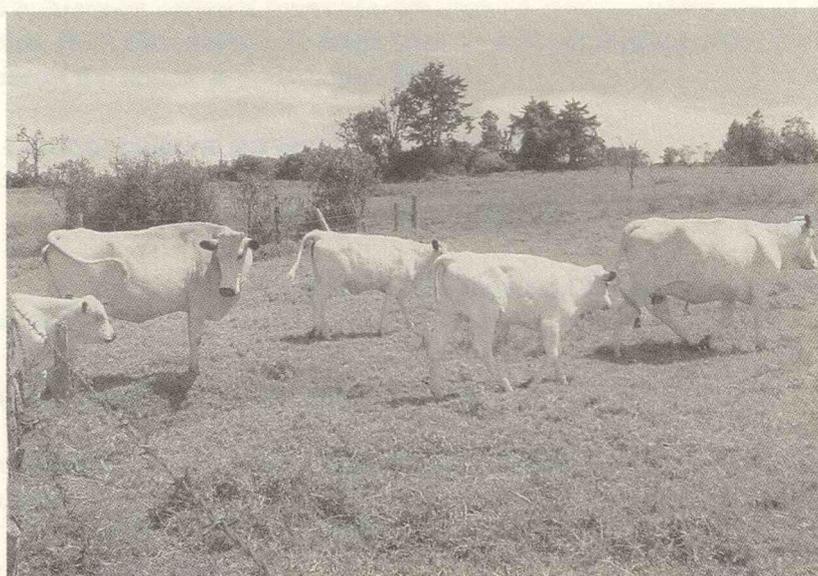
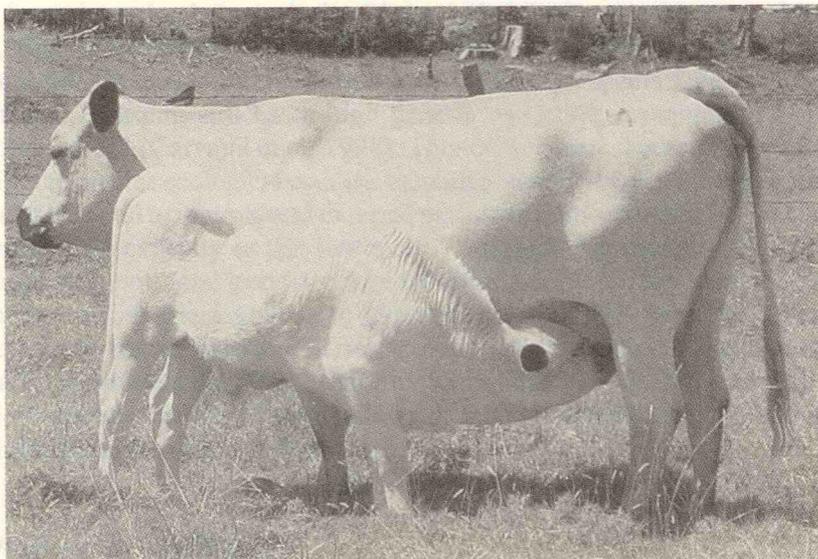


SECCIÓN IV

FISIOLOGÍA Y PRODUCCIÓN



Respuesta superovulatoria de vacas criollas blanco orejinegro (BON) al tratamiento con FSH o PMSG: Informe de tres casos *

Luis Rodríguez, MV¹; Lazaro Valencia, MV²; Zulma Ruíz, MV³;
Juan C. Andrade, MV, Esp²; Jorge Ochoa, Zoot²; M. Giraldo, MV¹;
María Vélez⁴; Juan G. Maldonado, MVZ, MS²

¹Sembrio Ltda, ²Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y ³Grupo de Biotecnología - Biogénesis, Universidad de Antioquia, ⁴Estudiante Joven Investigadora, Universidad de Antioquia

Resumen

Con el objeto de dar inicio a un programa de transferencia de embriones como parte de las estrategias para la propagación y preservación del ganado criollo colombiano, tres vacas del ható BON de la Universidad de Antioquia han sido sometidas a tratamiento para inducción de superovulación (SOV). Dos vacas recibieron el esquema de tratamiento con FSH-sintética y PGF2a; mientras que la tercera vaca recibió el esquema de SOV usando PMSG. Durante el estro inducido por inyección de PGF2a las vacas recibieron dos inseminaciones, con intervalo de 12 horas, con semen de toros BON. A los 8 días después del estro las vacas fueron sometidas al procedimiento de lavado y recuperación de embriones por método no quirúrgico (Sonda de Rush); los embriones se recolectaron en medio PBS-albúmina bovina al 10%, se clasificaron en estereoscopio y se sometieron a congelación por el método de glicerol al 10%. De las dos vacas tratadas con FSH sintética, la vaca 12-4 produjo 40 embriones fértiles de los cuales 28 se clasificaron como clase I y de éstos se congelaron 17; la

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cien Pec. Vol. 11: 1, pág. 37-44 / 1998.

concentración de P fue de 28.53 ng/ml y la de E de 6.33 pg/ml, medidas por RIA y MEIA, respectivamente. La vaca 26-I produjo 8 embriones viables, tres de los cuales fueron de clase I y se sometieron al proceso de congelación; la concentración de P fue de 9.21 ng/ml y la de E de 34.96 pg/ml. Por su parte, la vaca 24-8, tratada con PMSG, produjo 7 embriones de regular calidad que no se sometieron a congelación; las concentraciones de P fueron de 6.86 ng/ml y las de E de 47.05 pg/ml. Los resultados de estos tres casos y en particular la sorprendente respuesta superovulatoria de la vaca 12-4, sugieren una alta variabilidad en la respuesta SOV de vacas BON bajo los protocolos de inducción utilizados; además, representan el primer intento para obtener embriones viables en el hato BON de la Universidad de Antioquia y para establecer el programa de transferencia de embriones en esta raza criolla en peligro de extinción.

Palabras clave: *Ecografía ovárica, Estradiol, Progesterona, Transferencia de embriones.*

Introducción

El ganado Blanco Oreginegro (BON) es una de las ocho razas de ganado criollo colombiano que se encuentra en peligro de extinción (5). Esta raza representa un experimento de natura de más 300 años de evolución (15) que se ha adaptado a las condiciones del trópico manifestando una alta rusticidad, interpretada como resistencia a enfermedades características del trópico como ectoparásitos, endoparásitos y patógenos intracelulares y una alta capacidad para sostenerse en pasturas de baja calidad nutricional (2, 21). Esta raza representó una importante fuente de ingresos para los campesinos de la zona cafetera del país desde finales del siglo XVIII hasta mediados del siglo XX, cuando la importación masiva de ganados *Bos indicus* conllevó un cruzamiento que absorbió la raza hacia el genotipo cebú (5). Como consecuencia de ello, quedan tan solo unos pocos núcleos de ganados puros y de cruces con razas de leche y razas cárnicas, que no garantizan la preservación de la raza para un futuro lejano (17).

La Universidad de Antioquia ha puesto en marcha un proyecto multicéntrico (5, 15, 17), encaminado a caracterizar la rusticidad del ganado BON y a preparar un banco de embriones para garantizar su propagación y preservación. El Hato BON de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia está conformado por 35 vacas adultas, 11 novillas de vientre, 16 novillas de levante y 5 toros (67 animales en condiciones de reproducción). Con el fin de contribuir con los esfuerzos para propagar y preservar la raza, se organizó un curso internacional sobre transferencia de embriones, en el cual

se dio inicio a un programa de transferencia de embriones de las vacas BON de la Universidad de Antioquia. Los resultados del presente informe representan el primer intento de superovulación en el ganado BON de la Hacienda El Progreso, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Hacienda El Progreso, corregimiento de El Hatillo, Municipio de Barbosa (Antioquia) en el marco del “Primer curso internacional sobre transferencia de embriones y técnicas complementarias en bovinos”, organizado por la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia y por Sembrio Ltda, en el mes de mayo de 1997.

Selección de las donadoras. Mediante palpación rectal y evaluación de registros reproductivos se seleccionaron 12 vacas adultas ciclando normalmente, como candidatas potenciales para el protocolo de superovulación; se determinó el estado del ciclo estral y se procedió a aplicar PGF2a a cinco vacas con cuerpo lúteo (Estrumate, gentil donación de Schering Plough; Cali, Colombia). Luego se observó la ocurrencia del estro inducido por la PGF2a, por inspección visual durante los 4 días siguientes a la aplicación del medicamento, o en ocasiones por palpación rectal para aquellas vacas que no presentaron manifestaciones evidentes del estro. Finalmente, las vacas identificadas con los números 12/4 (36 meses de edad y primer parto), 26/1 (68 meses de edad y dos partos, con intervalo entre partos de 807 días), y 24/8 (9 años de edad y seis partos, con intervalo entre partos de 391 días) fueron seleccionadas por las manifestaciones evidentes de calor, como las donadoras para el curso de transferencia de embriones. Se anotó la fecha de aparición del estro, el cual se consideró como inicio del ciclo de referencia para la inducción de superovulación.

Tratamiento de inducción de SOV.

Esquema con FSH. Se utilizó el esquema de dosis constante (32 mg dosis total) iniciando el día 9 del ciclo de referencia (Día 0=estro inducido con PGF2a), cuando se administraron dos dosis de 2ml (2 mg/ml) de pFSH (Folltropin, Vetrepharm, Canadá) cada una con intervalo de 12 horas; este esquema se repitió los días 10, 11 y 12 del ciclo; el día 11 del ciclo se administraron dos dosis de PGF2a (526 mg) con un intervalo de 12 horas y el día 13 del ciclo, día en que amanecieron en calor, se inseminaron en las horas de la tarde aplicándoles al mismo tiempo 2,5 ml (10 mg) de Buserelina por

vía intravenosa; a las 12 horas siguientes se les practicó la segunda inseminación artificial. La vaca 12-4 se inseminó con semen del toro BON «Lucas» empacado en pajilla francesa de 0.5 ml; la vaca 26-1 se inseminó con semen de los toros BON «El King» empacado en pajilla de 0.5 ml y «El Frosti» empacado ampolla de 0.5 ml, pertenecientes a la Universidad de Antioquia.

Esquema con PMSG. El día +10 del calor de referencia de la vaca 14-8 se aplicó una dosis de 3000 UI de PMSG (Folligon, Intervet, Santafé de Bogotá) por vía intramuscular a las 9:00 AM; el día +12 se aplicó una dosis de 25 mg de PGF_{2a} sintética (Dinoprost, Upjohn, Kalamazoo MI) por vía intramuscular, dividida en 15 mg en las horas de la mañana y 10 mg en las horas de la tarde (Con ocho horas de diferencia). A las 48 horas de la última aplicación se observó el calor, el cual no fue muy manifiesto, y en las horas de la tarde se hizo la primera inseminación con semen conservado en pajilla francesa de 0.5 cc; la inseminación se complementó con la aplicación de 5 cc de neutra-PMSG (Intervet, Santafé de Bogotá) por vía venosa. La segunda inseminación se practicó al día siguiente en las horas de la mañana con semen conservado en ampolla de 0.5 ml. El semen utilizado pertenecía a un toro de la raza BON llamado «Chiefking», de propiedad de la Universidad de Antioquia.

Evaluación de los ovarios por ultrasonografía. A los ocho días después de la inseminación de las vacas y previo al procedimiento de lavado para la recuperación de los embriones, las vacas fueron sometidas a un chequeo de los ovarios por ultrasonografía, utilizando un equipo Aloka equipado con una sonda transrectal de 7.5 MHz de rayo lineal ventral. Las vacas se sujetaron en el brete y previa desinfección de la región perineal y aplicación de anestesia epidural baja, se procedió ubicar cada uno de los ovarios para evaluar las estructuras ováricas presentes, haciendo barridos multidireccionales con la sonda; además, se intentó hacer un conteo del número de cuerpos lúteos presentes en cada ovario (8).

Lavado, recolección y clasificación de embriones. La recolección de los embriones se hizo de acuerdo con el protocolo descrito por West y Donaldson (1982) de la siguiente manera: ocho días después de la presentación del celo, las vacas fueron sometidas al procedimiento de lavado y recuperación de embriones por el método de catéter uterino utilizando Sonda de Rush (7). Primero se lavó y desinfectó la región del periné con solución yodada, se introdujo el catéter de Rush hasta el cuerpo del útero y se fijó inflando el balón de la sonda con 2.5-3 cc de PBS; luego se procedió a instilar 100ml de medio de lavado (Vigro Complete Flush Solution, Albúmina 1%; A.B. Technology, Pullman, WA, USA), se hizo masaje continuo durante 5 min. sobre cada cuerno uterino y se procedió a la recolección. Los embriones se recolectaron por sifonaje en un recipiente con filtro para embriones (EMCON, Embryo Concentrator, Immuno System, Spring Valley, USA); luego se recuperaron del filtro, se pusieron en caja de Petry de

5cm² (con cuadrícula en el fondo). De allí se recolectaron y se pasaron a cajas de Petry mas pequeñas (Suspensión Culture Dish) para embeberlos en el medio Holding (Vigro Holding ; A.B. Technology, Pullman, WA, USA) de la siguiente manera :

Holding No. 1 = recolección de todos los embriones

Holding No. 2 = se pasaron los embriones viables

Holding No. 3 = se pasaron los embriones calidad I y II (aptos para transferir o congelar).

La clasificación de los embriones recolectados se hizo en una escala desde I hasta V, de acuerdo con el procedimiento descrito por INRA (Francia, 1982), donde: Clase I, equivale a blastocisto joven o tardío; Clase II, equivale a Mórula tardía; Clase III, equivale a Mórula temprana; Clase IV, equivale a blastocisto degenerado o Mórula con menos de 16 células; y Clase V, embriones muertos, oocitos no fertilizados o embriones eclosionados (7).

Congelación de los embriones. Una vez clasificados los embriones y separados en Holding limpio, se introdujeron en medio de congelación (Vigro Freeze, PBS/Glicerol al 10%; A.B. Technology), durante 10 minutos ; luego se procedió a introducir las pajillas de 0.25cc en el Freeze control (Cryologic Inc, Australia), previamente estabilizado a -7°C ; allí permanecieron durante 7-10 minutos, se realizó la siembra de los embriones y se dejó que el congelador procediera a congelar automáticamente a -0.3°C /min hasta -35°C, cuando se introdujeron en nitrógeno líquido.

Cuantificación de estrógenos y progesterona. El día del lavado de los embriones se tomó una muestra de sangre a cada una de las vacas con el fin de obtener el suero para la cuantificación de 17b-estradiol y progesterona. Las cuantificaciones se hicieron en el Laboratorio Clínico de las Américas (Medellín) usando un estuche comercial para cada hormona (Abbot, USA). La sensibilidad de la prueba fue de 0,2 ng/ml para progesterona y de 25 pg/ml para 17b-estradiol, mediadas por las técnicas de RIA y MEIA, respectivamente.

Resultados

La vaca 26/1, una hembra BON de dos partos con 68 meses de edad y un intervalo entre partos de 807 días, dio 7 embriones en el lavado de los cuales 3 eran de clase I y se destinaron para la congelación. Por su parte, la vaca 12/4 una hembra de primer parto de 36 meses de edad, tuvo una sorprendente alta respuesta al esquema utilizado, gracias a lo cual se le recuperaron 40 embriones de los cuales 28 se consideraron de

clase I; de éstos se decidió congelar 17 embriones para posterior transferencia, en tanto que los restantes embriones se utilizaron para efectos didácticos y académicos. No obstante, la vaca 24/ 8 con 9 años de edad, seis partos y con un intervalo entre partos de 391 días, produjo 7 embriones, ninguno de los cuales fue apto para congelar (tabla 1).

Tabla 1. Datos generales del esquema de superovulación y la respuesta superovulatoria de tres vacas BON al tratamiento con FSH porcina o con PMSG.

Vaca	Calor ref	FSH*	PGF2a	Calor	GnRH	IA	Lavado	Emb	Clase 1	Clase 2	Cong	Toro
26/1	17/4/97	Desde 27/4/97 Hasta 30/5/97 7/AM: PM:	AM: PM	AM: 1/5/97	PM: 1/5/97	PM: 1/5/97 AM: 2/5/97	9/5/97	7	3	0	3	El Frosti/ Rn
12/4	17/4/97 26/4/9 hasta 29/5/97	Desde 28/4/9 7	AM: PM 30/4/97	AM: 30/4/97	PM: 30/4/97 AM: 1/5/97	PM:	8/5/97	40	28	12	17	Lucas
24/8*	17/4/97 24/4/97 (i.m.)	AM: 29/4/9 7	AM: 1/5/97	PM: 1/5/97 (i.v)**	PM: 1/5/97 AM: 2/5/97	PM:	9/5/97	7	0	0	0	Chi ef King

^a Se administró pFSH (Folltropin)

* Se utilizaron 3000 UI de PMSG (i.m.) en dosis Gnica (Folligon)

**Se administraron Scc de Neutra-PMSG (i.v.).

En la ecografía ovárica se encontraron ovarios con un diámetro aproximado de 8 cm que no alcanzaron a ser abarcados en su totalidad por un solo barrido con la sonda. El estroma ovárico se caracterizó porque se percibió en la imagen de una manera muy tenue, ya que era eclipsado por una gran cantidad de estructuras lúteas que se veían como estructuras ovoides de 1.5-2 cm de diámetro. Estas estructuras, de aspecto ecogénico en la imagen, ocuparon todo el campo de la pantalla e imposibilitaron la detección de otras estructuras por debajo de ellas. Para obviar este inconveniente se realizaron varios barridos del ovario en sentido cráneo-caudal y medio-lateral, no obstante al hacer el conteo de cuerpos lúteos la máxima cantidad fue de 8 CL en un mismo ovario, situación que no reflejó los resultados con la recuperación de embriones (40 embriones en la vaca 12/4), que correspondería al número mínimo de ovulaciones y por ende de cuerpos lúteos.

De otro lado, la apariencia ecográfica no fue tan definida como la de los cuerpos lúteos en plena actividad de la mitad del diestro, quizá por haber sido evaluados a los 8 días de edad, cuando todavía se podría considerar como un cuerpo lúteo joven. Aunque la apariencia ecográfica de los cuerpos lúteos y su tamaño no difieren de aquellos de vacas ovuladas en condiciones normales y se detecta de manera muy clara por la ecografía, hay que recalcar que la cantidad de cuerpos lúteos detectados en estas vacas sometidas a superovulación, no permitieron que la ecografía fuera una herramienta fidedigna para el conteo de estructuras luteinizadas.

En los ovarios también se pudo observar abundante cantidad de folículos con un diámetro aproximado de 10 mm, los cuales no se pudieron contar por su ubicación y la cantidad de cuerpos lúteos presentes. Estos folículos quizá representen folículos de una nueva onda folicular desarrollada después del tratamiento para SOV, o bien, folículos que respondieron al tratamiento, pero que por alguna razón no ovularon ni se luteinizaron.

Los resultados del análisis serológico indicaron que la vaca 12/4 presentó los mayores niveles de progesterona y los menores niveles de estradiol séricos, lo que resultó en la mayor relación progesterona:estrógenos (P:E). Por el contrario, las vacas 26/1 y 24/8 presentaron los mayores niveles de estradiol y los menores de progesterona, lo cual resultó en una relación P:E de 0.26 y 0.15, respectivamente (tabla 2).

Finalmente, a las vacas 26-1 y 24/8 se les administró una dosis de 25 mg de PGF2a el día 15 del ciclo, en tanto que la vaca 12/4 no recibió PGF2a. Ninguna de las vacas estaba en gestación a la palpación rectal efectuada a los 2 meses del lavado de los embriones.

Tabla 2. Niveles séricos de 17-b-estradiol y progesterona en tres vacas BON sometidas al protocolo de inducción de superovulación.

Vaca	Día del ciclo (a)	Progesterona (ng/ml)	Estradiol (pg/ml)	Relación P ₄ :E ₂
12/ 4	8	28.53	6.33	4.5
26/ 1	8	9.21	34.96	0.26
24/8	8	6.86	47.05	0.15
Promedio		14.86	29.44	1.6

a: Hace referencia al día del lavado de los embriones.

Discusión

Los resultados de las tres vacas estudiadas quizá representan la primera evidencia sobre la respuesta del ganado BON al protocolo de inducción de superovulación. La respuesta al esquema de inducción utilizando FSH porcina resultó ser sorprendentemente alta en la vaca 12/4, lo cual se constituye en un récord para nuestro grupo porque representa no solo el primer informe de respuesta superovulatoria en esta raza, sino también el número más alto de embriones recuperado en un solo lavado durante 10 años de experiencia de Sembrio Ltda. Sin embargo, en la literatura internacional se ha informado de rangos de respuesta entre 0 y 40 ovulaciones (20).

Las diferencias en el número y calidad de los embriones observado en las tres vacas estudiadas sugieren que, al igual que en las demás razas de ganado usadas para la transferencia de embriones (1), el ganado BON presenta una alta variabilidad en la respuesta al tratamiento de inducción de superovulación. No obstante, los resultados del presente informe tan solo representan la respuesta de un escaso número de vacas, durante un solo lavado, por lo cual se debe tener mucha precaución en la interpretación de estos resultados y se recomienda evitar su citación como datos de referencia para el ganado BON; además, no se ha encontrado en la literatura estudios sobre la dinámica folicular en esta raza ni sobre respuesta a esquemas de inducción de superovulación para transferencia de embriones, a pesar de que existen al parecer, esfuerzos de ganaderos particulares que no se han publicado aún. De ahí que estos resultados implican un reto para dar inicio a un programa de transferencia de embriones en el que se incluya la mayor cantidad posible de vacas de la raza BON, en donde se puedan estudiar varios protocolos de inducción de superovulación, tomando como referencia las dosis de hormonas informadas en la literatura para ganados *Bos indicus* y *B. taurus* (1, 4).

Por tratarse de una sola observación, es necesario resaltar que la baja respuesta de la vaca 24/ 8 no se puede atribuir a la PMSG (6); esta vaca recibió una de las inseminaciones con semen conservado en ampolleta que se encontraba congelado durante más de 10 años; la dosis se descongeló rápidamente a una temperatura de 37°C. Por este motivo es posible que el semen haya tenido algún efecto en el bajo número de embriones recolectados. González et al (1994) informan que este tratamiento a la dosis de 3000 UI de PMSG y una dosis neutralizante de anti-PMSG mejoró las tasas de ovulación, el número de oocitos fecundados y de embriones transferibles, pero los resultados de la vaca sometida al tratamiento con PMSG en nuestro estudio, no se pueden comparar con estos resultados obtenidos en 21 animales (9). Por consiguiente, las conclusiones sobre la respuesta del ganado BON a la PMSG sólo se podrán hacer en la medida en que el protocolo se evalúe en una muestra de animales más representativa.

A diferencia de lo observado en la vaca 12/4 y comparada con ésta, la vaca 16/1 presentó una respuesta superovulatoria baja ; sin embargo, 7 embriones de clase I pueden ser una respuesta excelente si se compara con los resultados obtenidos en vacas de otras razas más comerciales de ganado bovino (1).

Otro aspecto que se debe tener en cuenta para evaluar los resultados obtenidos en la respuesta al esquema de inducción de superovulación, es el estado reproductivo previo de las hembras sometidas al tratamiento (11, 12). Las vacas 12/ 4 y 16/1 tenían 3 y 5.7 años de edad, respectivamente, en tanto que la vaca 24/ 8 tenía 9 años de edad al momento de ser sometidas al tratamiento de SOV; lo anterior podría sugerir que la baja respuesta de la vaca 24/8 tiene alguna relación con la edad avanzada de la vaca, pero esta conclusión no se puede sacar con base en una sola observación, no obstante se puede tener en cuenta como criterio importante para evaluar la respuesta SOV de vacas BON en estudios posteriores.

Otros resultados interesantes para resaltar son los hallazgos ecográficos y los niveles séricos de estrógenos y progesterona. En primer lugar, sería de gran interés caracterizar de manera más detallada las estructuras ováricas de las vacas sometidas al tratamiento de SOV, porque esta alternativa nos podría orientar hacia posibles causas de las fallas de los esquemas utilizados, porque permitirían relacionar la tasa de ovulación reflejada en el número de cuerpos lúteos, con los porcentajes de embriones recuperados; esto podría indicar si las fallas ocurrieron en la fertilización, o la recuperación de los embriones. En segundo lugar, sería conveniente establecer los niveles hormonales durante las fases del ciclo estral, así como también el estudio de la dinámica folicular en respuesta al tratamiento de inducción de superovulación. No obstante, es posible que los altos niveles hormonales encontrados sean un reflejo cuantitativo del número de folículos que maduraron y de cuerpos lúteos que se formaron en respuesta al protocolo de superovulación.

También cabe destacar que la relación progesterona/estrógenos fue mayor en la vaca 12/4, lo cual podría estar relacionado con la alta respuesta en la producción de embriones de esta vaca. Las altas concentraciones de estradiol halladas en las dos vacas 16/1 y 24/8, tomadas al día 8 del ciclo, concuerdan con la observación de un número abundante de folículos en la ecografía ovárica realizada el mismo día. Una de las preguntas que queda por resolver es si estos folículos obedecen a una cohorte estimulada por el tratamiento de SOV que no alcanzó a ovular y no se luteinizó, o bien, si representan una cohorte diferente que respondió de manera mas tardía a la fuente exógena de FHS. De otro lado, se podría descartar que hicieran parte de la cohorte de folículos de la primera o segunda oleada del ciclo : en el primer caso, podrían representar folículos en proceso de atresia, mientras que en el segundo caso, representarían folículos en fase activa de crecimiento, a pesar de que esta última posibilidad no

concuera con los informes de la literatura que indican que la cohorte de folículos de la segunda onda del ciclo se hace evidente por ecografía entre los días 9 y 10 del ciclo (11, 12).

Lo anterior abre otra gran posibilidad de investigación para caracterizar la dinámica folicular (13) en el ganado BON, lo cual sería un aporte invaluable para los grupos que están trabajando por la preservación propagación del Ganado BON. El conocimiento de la dinámica folicular podría ser de gran ayuda para los proyectos relacionados con el programa de transferencia de embriones (18), el desarrollo de las técnicas de maduración de oocitos (10) y desarrollo in vitro de embriones (14, 19) y el desarrollo de las técnicas de aspiración folicular guiada por ultrasonido (3, 16, 22), todos los que se podrían utilizar para la preservación del ganado BON. Del mismo modo, serviría para caracterizar el comportamiento de las novillas BON durante la pubertad, así como también la dinámica folicular de las vacas durante el posparto.

Agradecimientos

Los autores quieren expresar sus agradecimientos a la Subdirección de Fomento del ICFES y la Dirección de Relaciones Internacionales de la Universidad de Antioquia por la financiación parcial del curso de transferencia de embriones (Medellín, 1997); a la señora Pilar Vanegas de la Hacienda El Progreso, por su continuo apoyo durante la ejecución práctica del curso; a la Universidad de Antioquia por la financiación de la estudiante María Paulina Vélez R. (Programa Jóvenes Investigadores, Contrato 004-97) al Dr. Daniel Monsalve del Departamento de Haciendas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por el apoyo logístico; y al Dr. Esteban Echavarría del Laboratorio Clínico de las Américas, Medellín.

Summary

With the purpose of contributing to establish an Embryo Transfer Program for the propagation and preservation of Blanco Oreginegro (BON) Colombian Criollo Cattle, three adult cows from the Universidad de Antioquia BON Herd were selected and tested by using two different superovulation protocols (SOV). Two cows were injected with a synthetic FSH source (Porcine-FSH) whereas the third cow was injected with PMSG. At PGF2 α -induced estrus the cows received two Artificial Inseminations (AI) with 12 hours interval, using semen from BON Sires. Eight days after AI Embryos were recovered in PBS-albumin by a non-surgical procedure using Rush catheter, then classified by quality standards and finally frozen using 10%-Glycerol. Estradiol and progesterone were measured at day 8 post IA by RIA and MELA. From the pFSH-treated animals, the 12-4 Cow yield 40 viable Class I and II embryos from which 17

out Class I embryos were frozen ; its P_4 and E_2 levels were 28.53 ng/ml and 6.33 pg/ml, respectively. The 26-1 Cow yield 7 viable with 3 Class I embryos being frozen; its P_4 and E_2 levels were 9.21ng/ml and 4.96 pg/ml, respectively. However, the PMSG-treated 24-8 Cow only yield 7 non viable embryos; its P_4 and E_2 levels were 6.86 ng/ml and 47.05pg/ml, respectively. These three-case report and the surprisingly high SOV response from 14-8 Cow suggest a high variability to SOV-treatment in BON Cattle and represents our pioneer study designed to obtain viable embryos from the BON Colombian Criollo Cattle, with the aim of the Universidad de Antioquia to preserve this endangered Breed.

Key words: Embryo Transfer, Estradiol, Ovarian ultrasound, Progesterone.

Referencias

1. Ake JR, Alfaro ME, Holy L. Respuesta superovulatoria en ganado *Bos indicus* y *B. taurus* bajo condiciones tropicales y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet Mex* 1995; 26:189-193.
2. Arboleda O, Gutiérrez ID. El ganado Blanco Orejinegro - BON -. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :80-83.
3. Broadbent PJ, Dolman DF, Watt RG, Smith AK, Franklin MF. Effect of frequency of follicle aspiration on oocyte yield and subsequent superovulatory response in cattle. *Theriogenol* 1997; 47:1027-1040.
4. Carpenter BB, Forbes TDA, Carpena M, et al. Follicular dynamics, embryo production and hormonal responses in Brahman heifers following sympathetic stimulation. *J Anim Sci* 1994; 72:441-447.
5. Deer JN, Davis SK, Estrada JL, et al. Genetic characterization and conservation of Colombian Criollo Cattle. En : Crawford RD, Lister EE, Buckley JT. *Proceedings of the Third Global Conference on Conservation of Domestic Animal Global Resources. Rare Breeds International; Queens University, Kingston, Ontario, Canada; 1995. pp307-313.*
6. Donaldson LE. Use of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenol* 1984 ; 22 :205-211.
7. Embryo transfer in cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982. Capítulo 7 pág. 66-90.
8. Ginther OJ. Ultrasonographic imaging and animal reproduction: fundamentals. Book 1. 1995.
9. González A, Wang H, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Increased ovulation rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenol* 1994; 41:1631-1642.
10. Hinrichs K. Manipulations of oocyte maturation in vitro. *Arch Tierz Dummerstorf* 1996; 3: 43-50 (Special Issue).

11. Kastelic JP. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Vet Med* 1994; January. 60-70.
12. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70 :3615-3626.
13. Maldonado JG, Agudelo B, Vásquez NA. Dinámica folicular en novillas y en vacas *Bos taurus* y *Bos indicus*. *Rev Col Ciencias Pec* 1997; 10: 67-75.
14. Massip A Mermillod P Dinnyes A. Morphology and biochemistry of in-vitro produced bovine embryos: implications for their preservation. *Hum Reprod* 1995; 10:3004-3011.
15. Moreno F, Ruíz A. El concepto de genética de poblaciones y proyecto de genoma bovino. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :77-80.
16. Ooe M, Rahamahendran R, Boediono A, Suzuki T. Ultrasound-guided follicle aspiration and IVF in Dairy-cows treated with FSH after removal of the estrous-cycle. *J Vet Med Sci* 1997; 59:371-376.
17. Ossa JE. Caracterización genética y conservación del ganado criollo colombiano. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :85.
18. Risinger T, West J. Practical applications and business aspects of embryo transfer. En: *Embryo transfer in Cattle*. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Capítulo 3.
19. Romero-Arredondo A; Seidel Jr. GE. Effects of follicular fluid during in vitro maturation of bovine oocytes on in vitro fertilization and early embryonic development. *Biol Reprod* 1996; 55:1012-1016.
20. Rouillier P Guibault LA, Lussier JG, Matton P. Changes in morphological appearance and functional capacity of recruited follicles in Cows treated with FHS in the presence or absence of a dominant follicle. *Theriogenol* 1996; 46:1053- 1061.
21. Tobón CJ, Franco CE, Mejía A. Evaluación de caracteres de crecimiento y reproductivos de la raza blanco Orejinegro (BON), cebú y sus cruces en zona de ladera. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :84-85.
22. Wenigerkind H, Modl J, Palma GA, Zakhartchenko V, Brem G. Ultrasound-guided follicle aspiration and embryo production in nonlactating elite cows. *Reprod Domestic Anim* 1997; 32:107-117.
23. West GM Donaldson LE. Non-surgical Embryo Transfer. En: *Embryo transfer in Cattle*. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Capítulo 8.

Análisis y caracterización de la mortalidad en lactancia en ganado Cebú comercial y BON x Cebú en la hacienda La Candelaria (Caucasia, Antioquia) *

O. Madrigal, Lazaro Valencia, M. Vásquez, Juan G. Maldonado

Resumen

Para caracterizar las causas de mortalidad durante la lactancia en la Hacienda La Candelaria de la Universidad de Antioquia y comparar el comportamiento entre ganado BON x Cebú (BxC) y Cebú comercial (CCO), se realizó un estudio retrospectivo con base en el análisis de los registros desde 1990 hasta 1997. De un total de 475 nacimientos la mortalidad ponderada fue significativamente menor ($p < 0.05$) en becerros BxC (5,4 %) que en becerros CCO (19,6 %), con un promedio de 240 días de lactancia. Las causas y edad promedio de mortalidad detectadas incluyeron: debilidad de la cría, 25,4 % (8,9 días); accidente, 15,5 % (27,8 días); mortinatos, 15,5 % (0,5 días); desnutrición, 11,3 % (16,9 días); infecciones, 9,9% (15,3 días); y causa desconocida, 17% (18,1 días). No se encontró efecto del sexo en la mortalidad ($P > 0,05$). Los resultados sugieren que un alto porcentaje de las causas de muerte podrían asociarse con fallas en el manejo de la cría durante el periparto; causas de mortalidad clasificadas en los grupos de infecciones, debilidad, desconocidas y desnutrición, podrían tener alguna relación con eventos de onfalitis. Los resultados demuestran además una notoria reducción de la mortalidad en lactancia en el cruce BxC y se podrían interpretar como un indicador de la rusticidad y adaptación del

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cien Pec. Vol 11: 2, pág 72-80 / 1998.

ganado BON. Estudios adicionales enfocados a caracterizar la respuesta inmune de las vacas y sus crías servirían para someter a prueba esta posibilidad.

Palabras clave: mortalidad, predeste, *Bos indicus*, Bovinos.

Introducción

La productividad en la industria de cría de ganado para carne depende del número y el peso de los terneros destetados, tomados en función de la eficiencia reproductiva del hato, la mortalidad y la morbilidad (7). Las pérdidas por muerte y descarte de terneros se constituyen en factores que limitan la productividad de las explotaciones, trayendo como consecuencia pérdidas económicas importantes y eliminación de animales con un valioso potencial genético (6). La muerte perinatal de los terneros también se traduce en grandes pérdidas económicas en la industria del ganado de carne. El departamento de agricultura de los Estados Unidos, demostró que los 2,786,300 terneros muertos en 1991, equivalentes a una mortalidad del 8 % desde el diagnóstico de la preñez hasta el destete, representaban pérdidas por \$ 976 millones de dólares (18).

En Canadá, estudios realizados en ganaderías de carne han demostrado un riesgo de mortalidad en las crías de aproximadamente el 14 % desde el nacimiento hasta el destete. Según los criadores de ganado de carne, las causas de cerca de 1/3 de las muertes en los terneros fueron diarrea y enfermedades respiratorias y un 89 % de las muertes registradas ocurrió en el primer mes de vida (7).

Estudios realizados en Venezuela revelan altas tasas de mortalidad entre los 30 y 60 días de edad, donde los accidentes, la coccidiosis y la muerte repentina no diagnosticada fueron las causas más frecuentes de mortalidad (6).

Para Colombia la literatura informa datos de mortalidad aceptable del 8 % para ganado de carne, durante el período comprendido entre el nacimiento y el destete y del 4 % en adultos (1); valores muy similares a los informados para la depresión momposina, del 8.5 % para las crías, el 2.2 % para los adultos y el 3.3 % en general (12).

En la Hacienda La Candelaria de la Universidad de Antioquia, el porcentaje de mortalidad durante el período de lactancia se ha considerado siempre demasiado elevado, razón por la cual se decidió realizar este estudio retrospectivo para analizar las causas de muerte durante los últimos años y correlacionar las diferentes causas con la edad, la raza y el sexo del ternero. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) evaluar las causas de mortalidad durante el período de lactancia; 2) definir los períodos críticos de mortalidad; y 3) proponer un plan de prevención y control de la mortalidad.

Materiales y métodos

Los datos del presente trabajo fueron obtenidos en la Hacienda “La Candelaria”, propiedad de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, de la Universidad de Antioquia, localizada en el municipio de Caucasia (Antioquia) a 19 Km. desde la cabecera municipal, por la vía que conduce a Nechí.

La región pertenece al Bajo Cauca Antioqueño; presenta una temperatura promedio de 26 °C, una altura de 50 m.s.n.m., una precipitación promedio de 2400 mm³, una humedad relativa del 75 % y pertenece a la zona de vida de bosque húmedo tropical (bh-T), según la clasificación de Holdridge. La hacienda presenta una topografía entre onduiada y pendiente, en mayor proporción y plana, en una menor proporción; tiene un área total de 264,65 Ha y un área efectiva de 181,66 Ha. Cuenta con praderas mejoradas con *Brachiaria humidicola*, *B. decumbens*, *B. dictioneura*, *Carimagüa* (*Andropogon gayanus*) y *Uribe* (*Hyphasrhenia rufa*), establecidas en su mayoría, en los últimos 4 años.

La raza predominante en la explotación es el cebú comercial (91.29%) y en la actualidad se están manejando cruces BON x cebú (8.71%). El hato es un hato en expansión en el cual, hasta el año 1997 ingresaron animales provenientes de otras explotaciones; tan solo desde el segundo semestre de 1998 se puede asegurar que el 100% de los nacimientos son becerros concebidos en la finca.

A las causas de muerte consignadas en los registros se les hizo la siguiente clasificación:

1. Debilidad, se incluyen todos aquellos casos en los que el animal presentaba debilidad extrema y postración y todas aquellas causas descritas como debilidad en los registros de la finca, donde aparentemente el animal no mostró ningún signo clínico.
2. Desnutrición, se catalogaron las muertes donde los empleados de la finca reportaron que el becerro no se alimentó, que presentaba muy bajo peso en el momento de la muerte, o ambos.
3. Natimortos, se consideran aquellas crías que se encontraron muertas justo después del momento del parto. A ninguna se le realizó necropsia.
2. Accidentes, incluye los ofídicos, las caídas, los golpes por otros animales y la muerte en alambre de púas.
3. Infecciones, se consideraron la diarrea, la septicemia, la poliartrosis, la bronconeumonía y el tétano.
4. Causas misceláneas, incluyen malformaciones y desaparecidos.

Para este trabajo se analizaron los datos de la mortalidad en el período de lactancia, registrados desde enero de 1990 hasta diciembre de 1997, teniendo en cuenta la edad de la muerte, la causa, la raza y el sexo. El análisis estadístico usado para las causas de morbilidad y mortalidad fue la prueba exacta de Fisher y para la mortalidad el ANOVA de una sola vía.

Resultados

En el periodo de estudio ocurrieron un total de 475 nacimientos para un promedio de 58 nacimientos por año; del total de nacimientos 85 fueron de la raza BON x Cebú (17,9%) y 390 de la raza Cebú comercial (82,1 %).

Morbilidad en lactancia. Las principales afecciones que demandaron la aplicación de tratamientos durante el período de lactancia fueron las infecciones del tipo onfalitis, los abscesos en ombligos, la diarrea y la otitis media; los casos de debilidad fueron reportados como síndrome de debilidad-desnutrición; el accidente corresponde a un accidente ofídico y otros casos aislados como rigidez de cuello y fotosensibilización (tabla 1). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los becerros BxC y CCo ($P>0.05$), para la presentación de morbilidad.

Mortalidad en lactancia. Los resultados de mortalidad en lactancia se tomaron de los registros de la finca para un periodo de lactancia promedio de 240 días; las causas más comunes de mortalidad y la edad promedio de su ocurrencia se indican en la tabla 2. El año de mayor mortalidad fue 1995 con un 20% y el de menor mortalidad fue 1990 donde se presentó una mortalidad de 6,1% (Figura 1).

Tabla 1. Morbilidad en lactancia. Hacienda La Candelaria 1990 - 1998

Causa	Observaciones		
	CCo	BxC	Total
Debilidad	2	0	2
Accidente	1	0	1
Infección	37	2	39
Otras	4	2	6
Total	44	4	48

$P>0.05$

Las causas generales detectadas fueron debilidad, causas desconocidas, natimortos, accidentes, desnutrición, infecciosas y otras (Figura 2); los resultados obtenidos se describen a continuación.

Mortinatos. Los mortinatos ocurrieron en promedio a los $0,5 \pm 6,5$ días de edad y representaron un 13,6% de las causas de mortalidad en lactancia (Tabla 2). El año de mayor incidencia de mortinatos fue 1997 y los de menor incidencia fueron 1993, 1995 y 1996, cuando no se reportó ningún caso (Figura 3).

Causas misceláneas. Las causas misceláneas de muerte se dieron en promedio a los 4,3 f 10,7 días de edad y representaron un 5,6% de las causas de mortalidad en el período de lactancia (Tabla 2). El año de mayor incidencia fue 1995 y los de menor incidencia fueron 1990, 1991, 1994 y 1996 (Figura 3). Las malformaciones equivalen al 75% de estos casos y las desapariciones al 25%.

Debilidad. La muerte por debilidad del becerro ocurrió en promedio a los 8,9 f 5,0 días de edad y representó el mayor porcentaje de las causas de mortalidad en lactancia (25,4%), como se presenta en la tabla 2. El mayor porcentaje de mortalidad por debilidad se presentó en 1992 y 1993; mientras que el menor fue en 1990 (Figura 3).

Figura 1. Mortalidad en el período de lactancia. Hacienda La Candelaria. 1990 – 1997

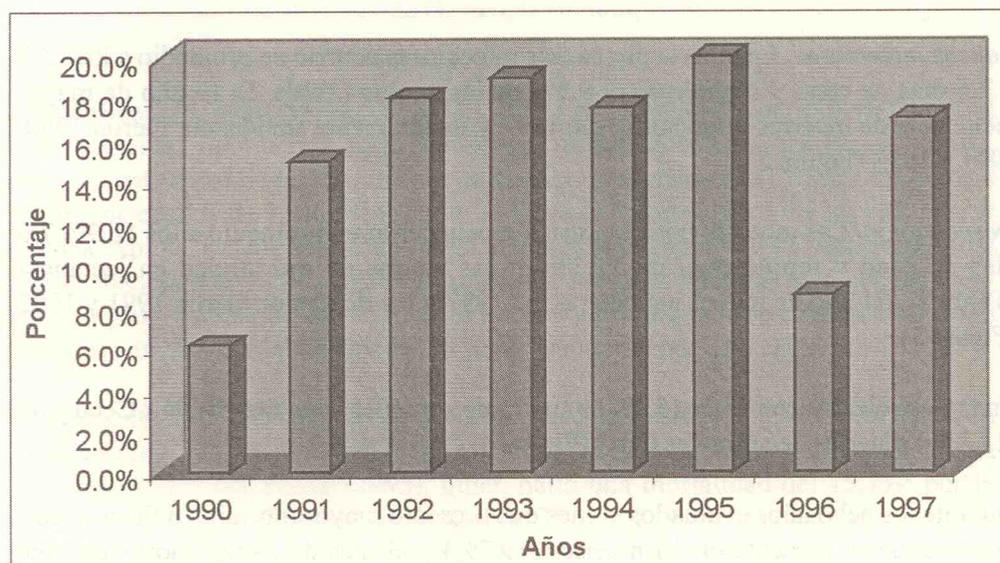
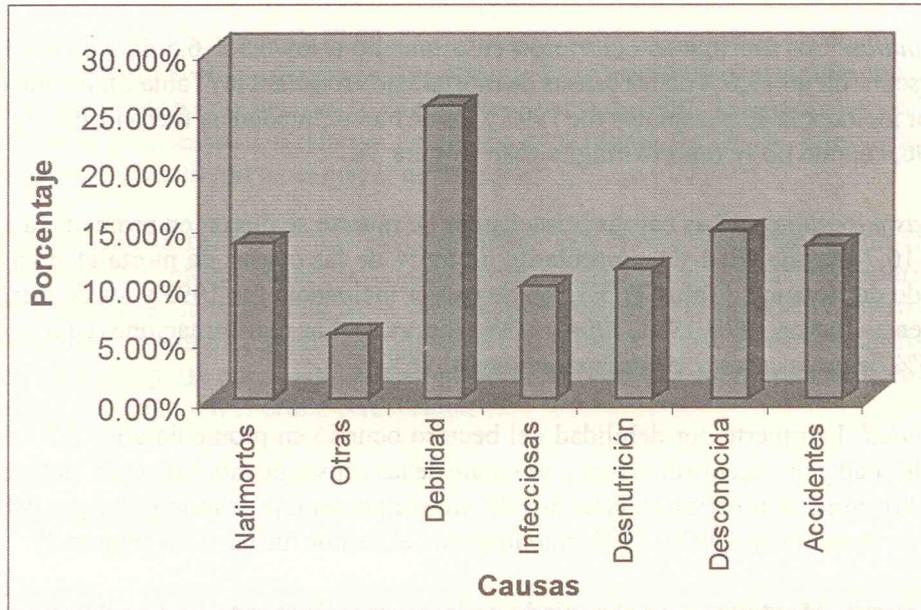


Figura 2. Porcentaje de mortalidad según la causa. Hacienda La Candelaria. 1990 – 1997



Causas infecciosas. La muerte por causas infecciosas ocurrió en promedio a los 15,3 ± 7,6 días de edad y representó el 9,9% de las causas (Tabla 2). El año de mayor incidencia de muertes infecciosas fue 1997 y los de menor incidencia fueron 1990, 1991 y 1993 (Figura 3).

Desnutrición. Las muertes por desnutrición ocurrieron en promedio a los 16,9 ± 7,6 días de edad y representan un 11,3% de las causas de mortalidad en lactancia (Tabla 2). El año de mayor incidencia fue 1997 y los de menor fueron 1991 y 1992 (Figura 3).

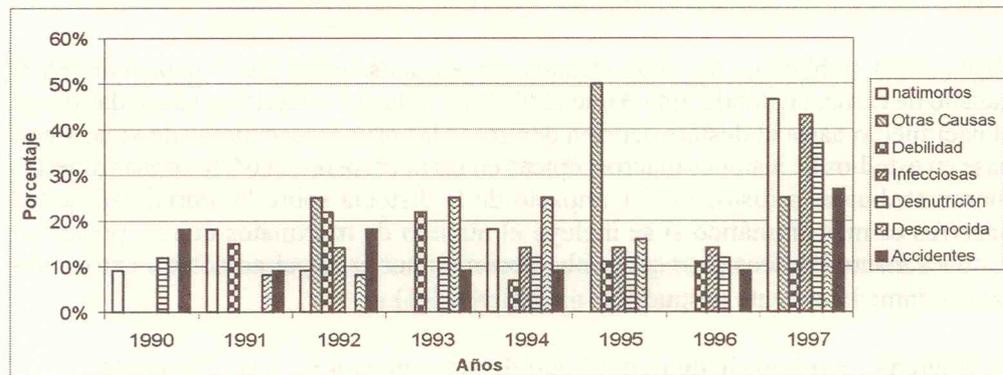
En total se observaron cinco (5,4%) muertes de animales de la raza BON x Cebú y 66 (17,1%) muertes de animales CCO (Figura 4).

Durante los ocho años evaluados el mes que presentó mayor mortalidad fue noviembre, cuando se presentaron 14 muertes (19,7%) y el mes de menor mortalidad fue Julio, cuando no se presentó ninguna muerte (Figura 5). Durante los meses de mayor pluviosidad se observó la menor incidencia de mortalidad (Figura 6).

Tabla 2. Causas de mortalidad según la edad en días. Hacienda La Candelaria. 1990 - 1997.

Observaciones					
Causa	CCO	BxC	Total	Porcentaje	Edad (días)
Natimortos	11	0	11	15,5%	0,5 ± 6,5
Otras	4	0	4	5,6%	4,3 ± 10,8
Debilidad	17	1	18	25,4%	8,9 ± 5,1
Infecciosas	5	2	7	9,9%	15,3 ± 7,6
Desnutrición	7	1	8	11,3%	16,9 ± 7,6
Desconocida	12	0	12	17%	18,1 ± 5,8
Accidentes	10	1	11	15,5%	27,8 ± 6
Total	66	5	71	100%	13,1

Figura 3. Porcentaje de presentación de las causas de mortalidad, según el año. Hacienda La Candelaria. 1990 - 1997



Discusión

Las tasas de mortalidad para el período de lactancia halladas en la Hacienda La Candelaria (14,8%) durante los últimos ocho años (Figura 1), se encuentran por encima de los promedios generales de mortalidad para el periodo de lactancia, los cuales son del 7,13%. Este valor se encuentra dentro del rango informado por varios autores, el cual es entre el 4 y el 15,7%. En el trabajo publicado por Plasse et al (1994) realizado en Venezuela en una zona intermedia entre el bosque seco y el bosque húmedo tropical, se registró una mortalidad predestete del 6,6% (10). En Colombia se reportan datos de mortalidad aceptables del 8% desde el nacimiento hasta el destete (1). En la

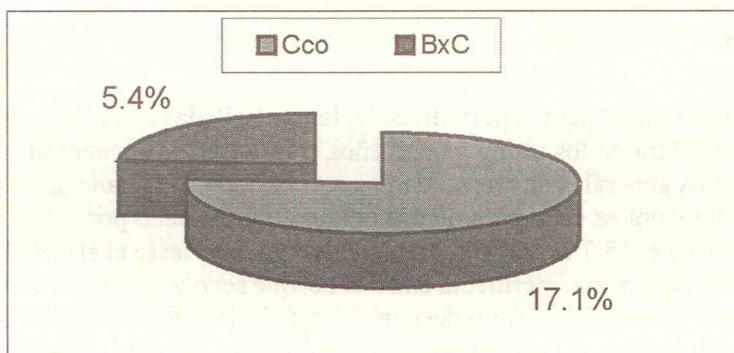
región Momposina se han encontrado datos del 8,5% para la misma etapa de producción (9); y en algunas explotaciones del Bajo Cauca Antioqueño se reportan porcentajes de mortalidad durante el periodo de lactancia de un 5% anual. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son muy semejantes a los descritos por Ganaba en Canadá (5).

El año de mayor mortalidad en la Hacienda La Candelaria fue 1995 en el cual se alcanzó un 20% en el período comprendido desde el nacimiento hasta el destete y el año con menor mortalidad 1990 (6,1%) que se encuentra dentro de los valores normales para la región y la etapa de producción.

El porcentaje de mortinatos (15,5%) encontrado en la Hacienda La Candelaria, es muy superior al reportado por Busato y colaboradores (2,5%) quienes dicen que el 44 % de todas las muertes ocurrieron en el período perinatal, durante las primeras 48 h de vida (2). Toombs et al (1994), afirman que la mayoría de las muertes en becerros ocurre en el período perinatal (primeras 24 horas de vida) y presenta datos de trabajos realizados en Canadá donde los mortinatos fueron el 1,7%; además, afirma que la distocia es la causa más común (50 % de los casos) de la mortalidad perinatal y que ésta incrementa el riesgo de los becerros para desarrollar enfermedades infecciosas (13).

Rice (1994), publicó un estudio extensivo de pérdidas perinatales y neonatales en el ganado de carne, en donde indicó que el 69 % de todas las muertes presentadas desde el nacimiento hasta el destete ocurren dentro de las primeras 96 horas de vida; y con base en estudios de lesiones macroscópicas en las necropsias, el 64 % de esas muertes fueron atribuidas a distocias. El impacto de la distocia sobre la mortalidad de los becerros es más dramático si se incluye el número de mortinatos que no presentan lesiones macroscópicas pero que probablemente murieron por acidosis y anoxia durante o inmediatamente después del nacimiento (11).

Figura 4. Porcentaje de mortalidad de acuerdo con la raza. Hacienda La Candelaria. 1990 1997



De otro lado, existe la posibilidad en las vacas de la Hacienda La Candelaria, de ocurrencia de algunas distocias leves que hayan tenido buen desenlace, pero donde el becerro pudo sufrir anoxia o hipoxia durante el nacimiento y no recibió ayuda a tiempo. En la distocia se pueden presentar severos desbalances ácido - básicos como resultado de una intensa y prolongada labor de contracción, la inhabilidad para respirar y el trauma durante la extracción forzada. La hipoxia prolongada es una causa importante de la muerte fetal durante la distocia y si no es fatal, puede ser un factor determinante para la supervivencia (11).

Figura 5. Mortalidad por meses. Hacienda La Candelaria. 1990 – 1997

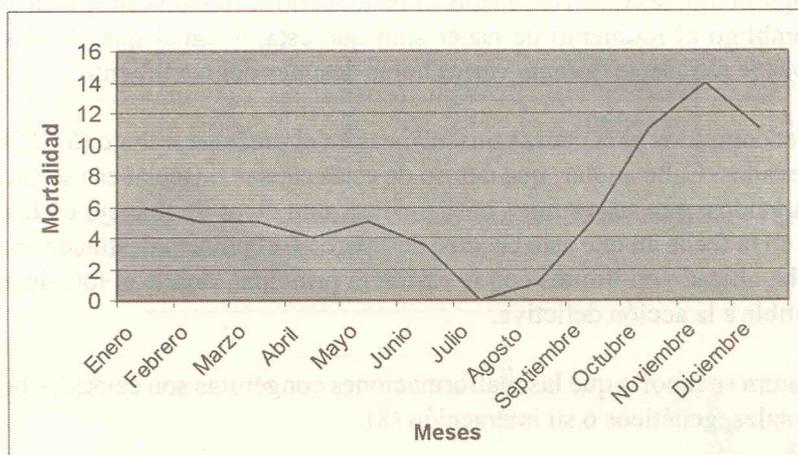
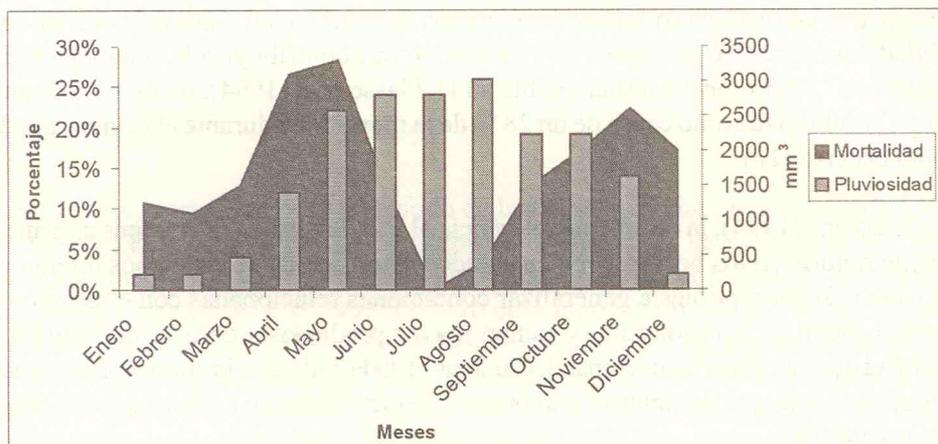


Figura 6. Relación entre la mortalidad y la pluviosidad Hacienda La Candelaria. 1990 – 1997



Al analizar que en La Candelaria 1997 fue el año en el que se presentó el mayor número de mortinatos, es importante tener en cuenta que durante 1996 y 1997 entró un gran número de animales preñados a la explotación proveniente de otras haciendas, en las cuales recibían un manejo distinto y una alimentación diferente. Además en la explotación no se realiza una atención permanente de las hembras próximas a parir, las que quedan sin observación hasta por más de 12 horas, principalmente en las horas de la tarde y nocturnas (este factor puede influir en la falta de registros sobre presentación de distocias), razón por la cual algunos de los becerros registrados como mortinatos pueden haber presentado muerte perinatal temprana, diagnóstico al cual no se llegó debido a la falta de instrucción sobre la técnica de la flotación del pulmón para distinguir entre las dos. Asimismo, el neonato no recibe una adecuada desinfección del ombligo al momento de nacer sino que ésta, al igual que el consumo de calostro, puede retrasarse durante varias horas después del nacimiento.

Los datos encontrados para causas misceláneas en el presente trabajo (5,6 %) se consideran elevados. Cabe anotar, que dentro de estas causas misceláneas se encuentran los desaparecidos, que se resumen básicamente a un error de manejo en la explotación, pues en la fecha en que este becerro desapareció el potrero destinado a la maternidad estaba ubicado en límites con la carretera principal, donde el lote de animales era susceptible a la acción delictiva.

En la literatura se reporta que las malformaciones congénitas son causadas por factores ambientales, genéticos o su interacción (8).

El porcentaje de mortalidad causada por debilidad (25,4%), fue el más alto dentro de todas las causas y ocurrió en los primeros 9 días de vida del becerro, datos que están dentro de lo dicho por Kasari (1994), quien reporta que la mayoría de las pérdidas en terneros ocurre entre el nacimiento y los primeros siete días de edad (6). Rice (1994), estableció que las distocias originan disminución de la actividad física del becerro, con debilidad o incapacidad para pararse y mamar, lo que contribuye a la alta mortalidad perinatal o al "Síndrome del ternero débil" (11). Plasse et al (1994), reportan la desnutrición y la debilidad como causa de un 28 % de la mortalidad durante el primer mes de vida del becerro (10).

Según Carstens (1994), la deficiente tolerancia al frío del ganado *B. indicus* es principalmente notoria en los becerros recién nacidos, que además de ser menos tolerantes al frío son más susceptibles a generalizar condiciones relacionadas con el Síndrome de ternero débil, a la hipotermia y tienen mayor predisposición a la morbilidad y mortalidad durante el período neonatal. Carstens (1994) halló que los becerros Brahman débiles al nacimiento presentaron mayores concentraciones de cortisol que los becerros normales (3).

Sin embargo, en los datos obtenidos en la Hacienda La Candelaria se observó una disminución de la mortalidad en la medida en que aumentó la pluviosidad, lo que puede estar relacionado con la calidad y disposición de alimento y agua que se presenta en el período de lluvias y con la ubicación geográfica de la Hacienda, donde por la altura sobre el nivel del mar, la temperatura promedio y la clasificación de la zona de vida, las temperaturas no son muy bajas durante el período de lluvias y los becerros no alcanzan a desarrollar hipotermia; mientras que en el período seco la baja calidad nutricional de los pastos y la deficiencia de agua pueden ser factores que aumenten la mortalidad.

La mortalidad por causas infecciosas (9,9%) se observó a los 15,3 días de edad, en promedio. Ganaba (1995), estableció que la mortalidad por diarrea y neumonía se presentó principalmente antes de las dos semanas de edad (5). Busato (1997), afirma que en el 50% de los análisis post mortem, los problemas respiratorios fueron la causa de la muerte; que el 22 % de todos los terneros recibieron tratamiento médico veterinario, al menos una vez, y el 36% de todos esos tratamientos fueron por causa de diarrea, 26 % por enfermedad de tipo respiratorio y 15 % por problemas de ombligo (2). Kasari (1993), afirma que las infecciones postnatales son más importantes después de la primera semana de vida, cuando se presentan las diarreas, neumonías, onfalitis o septicemias (7).

En general, todos los autores están de acuerdo en afirmar que las principales causas de infección que originan mortalidad en el período comprendido entre el nacimiento y el destete, son la diarrea viral bovina (DVB), la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y la brucelosis (12).

La mortalidad por desnutrición (11,3%), ocurrió en promedio a los 16,9 días de edad de los becerros, valores que están por debajo de los reportados por Plasse (1994), quien presenta datos de mortalidad por desnutrición predestete del 20,9%, entre los 4 y 30 días de edad; y de 9,9% desde el día 31 hasta el destete (10). Vale la pena aclarar que en la explotación los empleados prestan una especial atención a aquellos becerros que son abandonados por sus madres, utilizando hembras nodrizas para que los amamenten y proporcionando lactoreemplazadores; aunque algunos de estos becerros son renuentes a ingerir cualquier tipo de alimento y mueren por esta causa.

En el presente estudio las muertes por causas desconocidas (17%), que ocurrieron en promedio a los 18,1 días de edad, ocuparon un segundo lugar. Estos datos se asemejan a los presentados por Ferrer (1995), quien halló una mortalidad del 15,7%; por la misma causa, durante el período de lactancia, 75,3% de las cuales ocurrieron durante los primeros 30 días de vida; las muertes no diagnosticadas se presentaron alrededor de los 90 días de vida, con una incidencia del 4,2% (4). Mientras que Plasse reporta muertes por causa desconocida del 26,4% entre los días 4 y 30 de vida (10).

Las muertes por accidentes ocurrieron a los 27,8 días de edad y representan el 15,5%. El año de mayor incidencia fue 1997 y el de menor incidencia fue 1995. Para el trabajo realizado por Ferrer y colaboradores (1995), los accidentes se presentan como la causa más frecuente de mortalidad en el período comprendido desde el nacimiento hasta los 30 días de vida (4). El 54,6% de los accidentes ocurridos, se asociaron con la presencia de matorrales dentro de los potreros. Es importante recalcar que en La Candelaria las mejoras de potreros se empezaron a partir de 1995. Los accidentes ofídicos (27,3%), se presentan con relativa frecuencia en la región. El 18,2% de los accidentes en general, sucedieron en el corral de manejo.

Respecto de la raza el cruce BxC presentó una mortalidad ponderada (5,4%) significativamente menor ($P < 0,01$) que la raza CCo (17,1%). Estos datos podrían ser un indicador de la rusticidad de la raza BON que se manifiesta con la heterosis del cruce BxC y pueden originar estudios sobre este tema, teniendo en cuenta las distintas proporciones que se pueden lograr en los cruces. Algo similar ocurrió con la morbilidad, la cual fue menor en el cruce BxC (Tabla 1).

Conclusiones

Teniendo en cuenta las observaciones y los hallazgos obtenidos en la Hacienda La Candelaria sobre mortalidad en el período de lactancia durante los últimos 8 años, se deduce que las principales causas son debidas al manejo de la vaca en el periodo periparto y a la atención deficiente que recibe el becerro recién nacido. Durante las épocas de verano es importante tener en cuenta la cantidad y calidad de los pastos y agua disponibles para que las vacas reciban una adecuada nutrición y llenen los requerimientos necesarios para amamantar y levantar a los becerros en los períodos secos.

Recomendaciones

- Mejorar la atención de la vaca en el período periparto, observando en ella el instinto materno y la capacidad de producción láctea.
- Prestar la ayuda necesaria en caso de ser un parto distócico y realizar las pruebas necesarias para determinar si se ha presentado un aborto, natimorto o muerte perinatal temprana. Atender al recién nacido en el momento del parto, realizando una curación de ombligo eficiente, teniendo en cuenta las recomendaciones sobre la distancia de corte del ombligo y la forma de uso del yodo, que por las observaciones realizadas se sugiere sea en una concentración al 3 %, para evitar las onfalitis por quemadura de tipo químico.

- Comprobar que el ternero recién nacido tenga la capacidad física necesaria para ponerse de pie y realizar la primera ingestión de calostro durante el tiempo preestablecido en la literatura (2 - 6 primeras horas postnacimiento).
- Atender y corregir la posición de la cabeza y el cuello al suministrar leche o lactoreemplazador usando la botella, teniendo en cuenta que la posición correcta es la que adquiere el ternero en el momento de mamar naturalmente.
- Siempre que muera un animal se sugiere colocar las observaciones realizadas al animal antes de la muerte, intentando mantener en el libro de mortalidad los diagnósticos exactos.
- Llevar correctamente el programa Hato, registrando en él los nacimientos, los tratamientos, las muertes y salida de animales, al igual que la información reproductiva. Es importante tener en cuenta, que para poder hacer esto, se realice una capacitación a la persona administradora o encargada en la Hacienda.

Agradecimientos

Al Doctor José Daniel Monsalve, del Departamento de Haciendas, de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia y al personal de la Hacienda La Candelaria.

Summary

In order to characterize the causes of calving to weaning mortality and to compare BON x Zebú (BxC) and Commercial Zebú (CCO) performance during the lactation period in the Hacienda La Candelaria of the University of Antioquia, a 1990 to 1997 record-based retrospective study was performed. From a total number of 475 calving pondered mortality was significantly reduced ($p < 0.05$) in BxC (5,4%) than CCO (19,6%) calves, on a 240 days average of lactation. Causes and average age of detected mortality included: calfweakness, 25,4% (8,9 days); accident, 15,5% (27,8 days); stillbirths, 15,5% (0,5 days); undernourishment, 11,3 % (16,9 days); infections, 9,9% (15,3 days); and unknown causes, 17% (18,1 days). No association was found between sex and mortality ($P > 0,05$). These results suggest that a high percentage of mortality could be related to an inadequate management during the neonatal period. Causes of mortality classified as infections, weakness, undernourishment and unknown could be associated to omphalitis. In addition the results show a reduced mortality of BxC crossbred during lactation and could be argued as a reflection of the rusticity and fitness of BON cattle. Further studies, focused on the characterization of the immune response of cows and calves, should serve to evaluate this possibility.

Key words: *Prewaning mortality, Bos indicus, Bovine.*

Referencias

1. Alvarez OR. Bases filosóficas sobre el desarrollo del sistema doble propósito en el trópico bajo colombiano. En: Memorias Seminario Sistemas Ganaderos de Doble Propósito en el Trópico Colombiano. Medellín. 1997.
2. Busato A, Steiner L, Tontis A, Gaillard C. Hufigkeiten und Ursachen von Kälberverlusten und Kälberkrankheiten in Mutterkuhbetrieben. I. Methoden der Datenerhebung, Kälbermortalität, Kälbermorbidity. Dtsch Tierräztl Wschr 1997; 4: 131-135
3. Carstens GE. Cold thermoregulation in the newborn calf. Vet Clin North Am 1994; 10: 69-106.
4. Ferrer JM, Barboza M, Luzardo JL, et al. Morbilidad y mortalidad en becerros mestizos Holstein. Rev Cient 1995; 5: 33-40.
5. Ganaba R, Bigras-Poulin M, Belanger D, Couture Y. Description of cow-calf productivity in Northwestern Quebec and path models for calf mortality and growth. Prev Vet Med 1995; 24: 31-42.
6. Kasari TR. Weakness in the newborn calf. Vet Clin North Am 1994; 10: 167-180
7. Kasari TR. Omphalitis and its sequelae in ruminants. Current Veterinary Therapy 3. Food Animal Practice. 1993; 101:103.
8. Leipold HW, Dennis SM. Congenital Defects of cattle and sheep. Current Veterinary Therapy 3. Food Animal Practice. 1993; 89-97.
9. Moreno R. Aspectos sobre alimentación bovina en el bosque seco tropical de la costa Caribe colombiana. En: Memorias Seminario Sistemas Ganaderos de Doble Propósito en el Trópico Colombiano. Medellín. 1997.
10. Plasse D, Beltran J, Verde O, et al. Tendencias anuales de producción e influencias genéticas y ambientales en un rebaño brahman genéticamente cerrado. 1. Pesos y mortalidad en becerros. Arch Latinoam Prod Anim 1994; 2: 85-102.
11. Rice LE. Dystocia - Related risk factors. Vet Clin North Am 1994; 10: 53-68.
12. Taylor LF, Janzen ED, Van Donkersgoed J. Losses over a 2-year period associated with fetal infection with the bovine viral diarrhea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan. Can Vet J 1997; 38: 23-28.
13. Toombs RE, Wikse SE, Kasari TR. The incidence, causes and financial impact of perinatal mortality in North American beef herds. Vet Clin North Am 1994; 10: 137-146.
14. Wittum TE, Perino LJ. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. Am J Vet Res 1995; 56: 1149-1154.

Comportamiento durante el calor y dinámica folicular interestral en vacas BON (Blanco Orejinegro)

Damary Henao, Lina M. Carrillo, Martha Olivera-Angel

*Fisiología y Biotecnología de la Reproducción-BIOGÉNESIS
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*

Resumen

*Para la propagación del ganado criollo BON, que ha sido categorizado como “vulnerable”, se ha recomendado la aplicación de procedimientos biotecnológicos, lo que requiere, para empezar, conocer la fisiología reproductiva de esta raza. El objetivo del presente trabajo es contribuir a dicha meta mediante la caracterización del comportamiento folicular ovárico durante el ciclo estral. A siete vacas horras, ciclando regularmente, con condición corporal entre 3 y 3,5, y con 2 a 7 partos, pastoreando Estrella (*Cynodon nlemfuensis*), *Brachiaria decumbens* y gramas nativas del género *paspalum*, se les practicó seguimiento ultrasonográfico diariamente durante dos ciclos estrales. La detección de calores se realizó mediante tres observaciones diarias, cada una de 30 minutos (7 AM, 2 PM y 5 PM). Se detectaron cohortes de foliculos a partir de 3 mm, con tasas de crecimiento (TC) de 0,04 mm/día hasta la divergencia; a partir de ese momento la TC de los foliculos subordinados fue de 1,1 y la del dominante de 2,1 mm/día; el diámetro de éste último foliculo osciló entre 10 y 23 mm y el del foliculo ovulatorio varió entre 13,5 mm y 17,6 mm. El intervalo entre ovulaciones fue de 23 a 25 días con tres a cuatro ondas foliculares y dominancias de 3-6 días.*

Palabras Clave: *Biotecnología, Calor, Estro, Ondas foliculares,*

* Artículo publicado originalmente en: *Rev Col Cienc Pec, Vol. 16: 2 / 2003.*

Summary

Clinical behavior during heat and characterization of the interestral follicular dynamics in BON (Blanco Orejinegro) cows.

*For propagation of BON criollo cattle which has been declared as vulnerable, the application of biotechnology has been proposed and this requires, necessarily the characterization of the reproductive physiology of this breed. The objective of this work is to contribute to this goal through the characterization of the follicular dynamics during the estral cycle. Seven non-lactating regularly cycling cows, with corporal condition 3 and 3.5, with a history of 2-7 parturitions and feeding on *Cynodon nlemfuensis*, *Brachiaria decumbens* and native grasses, under traditional management, were daily followed by ultrasonography and through three 30-minute observations (7am, 2 pm and 5pm) during two consecutive estral cycles. Cohorts of follicles were detected starting at 3 mm, with growth rates of 0,04 mm/day up to the moment of divergence. After this moment the growth rate of the subordinate follicles was 1,1 and that of the ovulatory follicle changed from 13.5 to 17.6 mm. The interval between ovulations was 23-25 days and the number of follicular waves was 3 or 4 with a dominance of 3-6 days.*

Key words: *Biotechnology, heat, follicular waves, oestrus cycle.*

Introducción

El Ganado Blanco Orejinegro BON, es una de las ocho razas de ganado criollo colombiano que se encuentran en peligro de extinción, después de sobrevivir durante 500 años en las variadas condiciones del trópico colombiano (López y col. 2001) (5). Sus características de adaptación, tales como la rusticidad, que incluye la capacidad para sostenerse en pasturas de baja calidad nutricional y la resistencia a enfermedades infecciosas, la convierten en una alternativa de producción importante en nuestro medio (5,6,7). Actualmente los pocos núcleos de este ganado, con un total de 2886 animales, están distribuidos en 42 fincas, principalmente en los departamentos de Risaralda, Antioquia, Cundinamarca y Caldas. Algunas entidades como el ICA, Corpoica, la Universidad Nacional sede Medellín y la Universidad de Antioquia, realizan esfuerzos para preservar y propagar esta raza, mediante la ejecución de proyectos de caracterización genética molecular, productiva y reproductiva; además de posibles aplicaciones biotecnológicas relacionadas con transferencia de embriones y determinación de genes de resistencia a diferentes enfermedades (6,10,12,13).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar el comportamiento de la vaca BON, durante el calor y la dinámica folicular interestral; esto es, el número de ondas foliculares, el diámetro de los folículos dominantes y subordinados, la asociación entre el intervalo interovulatorio y el número de ondas foliculares. Esta información será de gran ayuda para el propósito de propagación que necesariamente deberá incluir procedimientos biotecnológicos tales como inseminación artificial, fertilización in vitro, y transferencia de embriones.

Dinámica Folicular

Durante el ciclo estral del bovino se presentan cambios característicos en la morfología ovárica. Cerca al momento del estro el folículo ovulatorio alcanza un gran tamaño y produce cantidades importantes de estradiol, hasta inducir el pico preovulatorio de LH. En este momento un grupo de folículos pequeños comienza a crecer lo que se llama onda folicular. De este grupo de folículos, uno solo folículo se selecciona y continúa creciendo, mientras los otros se atresian. Como hay presencia de cuerpo lúteo, por la ovulación precedente, este folículo pierde la dominancia y emerge otra onda folicular (Revisado por Wiltbank y col. 2001) (19). El número de ondas foliculares determina la longitud del ciclo estral, y se reporta que en ganado de leche el ciclo es de 18 días promedio en vacas que presentan dos ondas, 21 días cuando se presentan tres y 10 días cuando se presenta sólo una onda (Ginther y col. 2001) (2).

Comportamiento Estral

El reconocimiento del comportamiento de la vaca durante el estro permite el diseño de programas biotecnológicos como la inseminación artificial, el transplante de embriones y la monta controlada. El clima, la raza, el sistema de manejo, el grado de interacción social del hato influyen sobre la conducta, lo que ayuda o dificulta la determinación del ciclo (Mai y col. 2002) (8).

Materiales y Métodos

Lugar del estudio. El estudio se realizó en la Hacienda experimental de la Universidad de Antioquia, ubicada geográficamente entre latitud 6° ,37' ,30'' norte, 75° ,11' ,29'' oeste, altura promedio de 1000 msnm y temperatura promedio de 28°C.

Animales. Se seleccionaron siete vacas BON adultas, vacías, ciclando normalmente, con condición corporal de 3 a 3,5 (escala de 1-5), con una condición de paridad de 2

a 7 partos, pastoreando pasto *Estrella (cynodon)*, *Brachiaria decumbens* y gramas nativas del género *Paspalum*.

Las vacas fueron examinadas diariamente mediante ultrasonografía transrectal, durante dos ciclos consecutivos, utilizando un ecógrafo de tiempo real y modo B (Aloka 500), dotado de una sonda transrectal de 7,5 MHz. Durante cada examen, los ovarios fueron observados cuidadosamente, en al menos dos planos diferentes y las lecturas se grabaron en video para su posterior interpretación con la técnica descrita por Savio y col. 1988 (16) Este examen fue realizado siempre por la misma persona.

La tasa de crecimiento folicular se calculó tomando el diámetro máximo alcanzado por el folículo, menos el diámetro el día de su primera detección, dividido por el número de días de vida del folículo. La determinación del perfil de dinámica folicular para cada animal (número de ondas interestrales) se basó en el análisis retrospectivo de los datos obtenidos en la ultrasonografía de cada folículo detectado a partir de 4 Mm. La observación la realizó un profesional, durante 30 minutos, tres veces al día (7AM, 2 PM y 5PM); con la ayuda de un toro vasectomizado portando un chin ball que estuvo permanentemente con las vacas.

Análisis Estadístico

Se aplicaron pruebas de estadística descriptiva paramétrica a las diferentes variables: diámetro del folículo dominante (FD) y folículos subordinados (FS), intervalo interovulatorio, tasa de crecimiento para el FD y FS y pruebas de rangos para expresar los intervalos.

Resultados y Discusión

En total se observaron catorce ciclos estrales, de los cuales cuatro presentaron un patrón de 4 ondas de crecimiento folicular (29%) y los otros 10 (71%) 3 ondas (véase grafica 4). El promedio de longitud del ciclo, en vacas con patrón folicular de 3 ondas fue de 21.75 días y de 4 ondas 25.5 días. Esta presentación en mayor proporción de tres ondas foliculares y en algunos casos cuatro, difiere a lo encontrado en ganado especializado, en donde la mayor frecuencia es de 2 a 3 ondas foliculares con un 80% de presentación del primer patrón (Taylor y Rajamahendran 1991; Townson y col. 2002) (17,18).

La caracterización de las ondas foliculares y la longitud del ciclo estral se resumen en la tabla 1. Los folículos fueron detectados a partir de los 4 Mm. y su tasa de crecimiento

osciló entre 0,06 a 0,88 Mm./día. A partir de la divergencia el folículo dominante creció a tasas entre 1,0 y 1,1 Mm./día, y el folículo ovulatorio a una velocidad de 2.14 Mm./día. Hay diferencia entre la tasa de crecimiento del folículo ovulatorio encontrado por Towson y col 2002 de 1.2 Mm./día, con la del BON en la que prácticamente se duplica este valor (2.14 Mm./día). (18)

Tabla 1: Tasa de crecimiento folicular, longitud del ciclo estral de acuerdo al número de ondas

Tasa de crecimiento Mm./día			Rango del diámetro Mm.		Longitud del ciclo estral	Promedio en días
FS	FD	FO	FO	FD	21.75	25.5
0.06-0.88	1.0-1.1	2.14	11-19.5	10-23	tres ondas	cuatro ondas

FS: Folículo subordinado, FD: Folículo dominante, FO: Folículo ovulatorio

La longitud del ciclo estral de las vacas que presentaron 3 ondas (21.75 días) concuerda con lo reportado por Ginther y col. 2001 y Kastelic 1994, pero no con lo reportado con Taylor y Rajamahendran en 1990 y Towson y col 2002 quienes encuentran 29.7 días de duración del ciclo, en vacas con tres ondas (2,4,17,18). Se ha propuesto que hay predisposición genética en la frecuencia de presentación del número de ondas foliculares, pero en estudios realizados en ganado Brahman esta presentación o patrón varió y fue asociada con factores ambientales y nutricionales (Rhodes, 1995; Ruiz y Olivera, 1999) (14, 15).

Para comparar el tamaño y duración en días del folículo dominante, se determinó el promedio del diámetro máximo alcanzado en siete de los catorce ciclos (véase tabla 2). La duración de la dominancia folicular para los animales que presentaron tres y cuatro ondas fue similar. El promedio del diámetro del folículo ovulatorio en vacas con tres ondas es similar al promedio del folículo ovulatorio reportado por Wiltbank y col. 2001 (19) en vacas lecheras lactantes Holstein y por Murphy y col. 1990 (11) en vacas de carne con patrón de dos ondas. Esto contradice los hallazgos de Ginther y col. 2001 (2) quienes encuentran que en novillas Holstein con tres ondas foliculares, el tamaño del folículo ovulatorio es de 13.9 Mm. El folículo ovulatorio de la cuarta onda mantiene el tamaño de las ondas anteriores y no es posible hacer comparaciones con otros datos de la literatura, ya que no existen reportes de cuatro ondas foliculares

Tabla 2: Duración en días del folículo dominante en cada onda y promedio del diámetro máximo del mismo

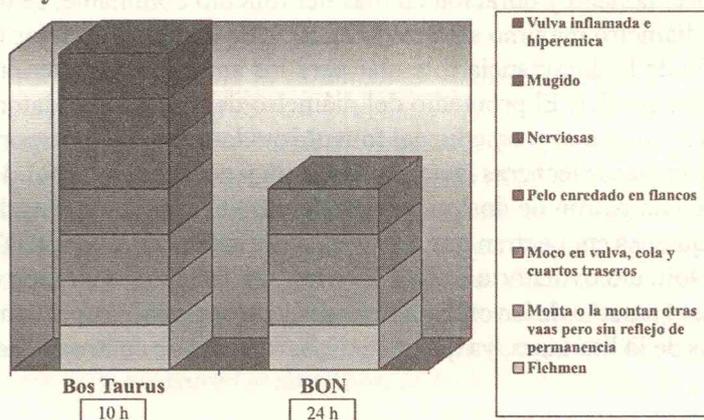
	Onda 1 (F1)	Onda 2 (F2)	Onda 3 (F3)	Onda 4 (F4)
Diámetro del folículo dominante	15.7±3	16.5± 3	17.5± 2.4	16.7±1.2
Duración días	6.6±2.4	6.0± 1.5	8.1±2.8	7±1.4

El diámetro promedio del primer folículo dominante (F1) fue menor en nuestro estudio, con relación al reportado por Ginther y col. 1989 (3), cuyo promedio fue de 17.1±0.5 para vacas con patrón de dos ondas y 16±0.4 para vacas de tres ondas foliculares. No ocurrió lo mismo en el caso del segundo folículo dominante (F2) cuyo promedio fue mayor al reportado de 12.9 ± 0.7 (ver tabla 2).

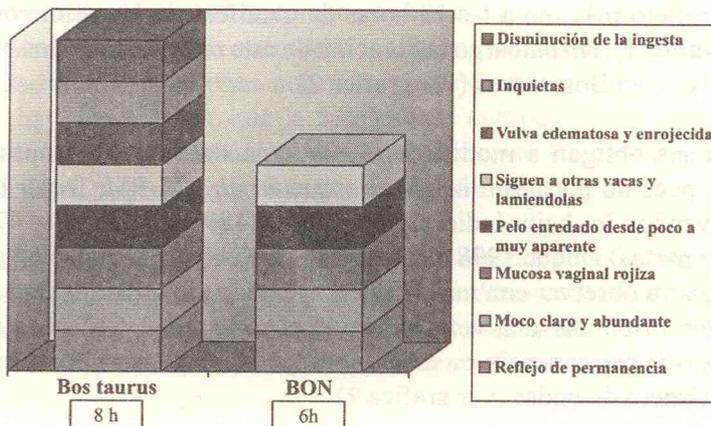
La duración del folículo dominante es menor que lo reportado por Ginther y col. 1989 (3) lo que explicaría la aparición de la tercera onda folicular, sin que se alargue el intervalo interestral. Sin embargo las vacas con cuatro ondas foliculares sí muestran un intervalo interestral más largo. Esto podría deberse a una mayor duración de la funcionalidad del cuerpo lúteo, lo que en nuestro estudio no fue medido minuciosamente.

Los signos del comportamiento durante las diferentes etapas del estro se describen en las gráficas 1,2 y 3, y se comparan con lo reportado en otros ganados *Bos taurus* diferentes al BON. La observación detallada de los signos de calor demostró que siempre se presentan signos y reflejo de permanencia, sin embargo, es muy claro que en las tres etapas del calor se presentan menos manifestaciones externas que en otros *Bos taurus* tanto de leche como de carne (ver grafica 1, 2, 3).

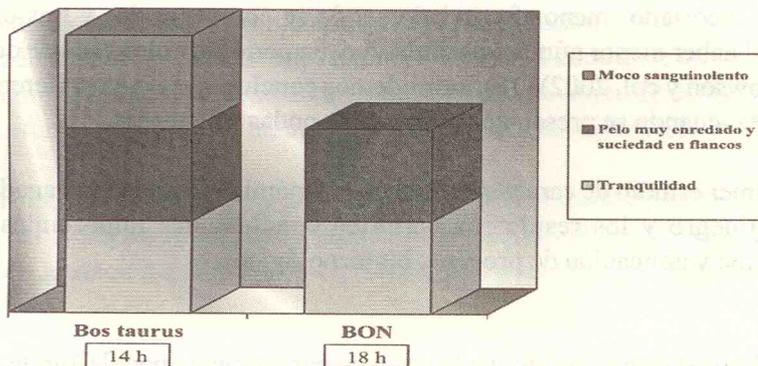
Grafica 1: Manifestaciones externas del comportamiento sexual durante el proestro en *Bos taurus* y BON



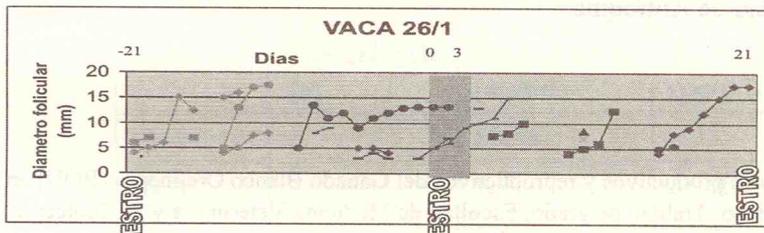
Grafica 2: Manifestaciones externas del comportamiento sexual durante el estro en *Bos taurus* y BON



Grafica 3: Manifestaciones externas del comportamiento sexual durante el posestro en *Bos taurus* y BON

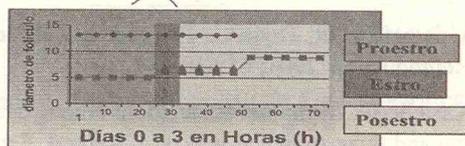


Grafica 4: Dinámica folicular interestral en una vaca BON



Dinámica folicular interestral en una vaca BON

Comportamiento folicular durante el estro



El reflejo de permanencia, que es el que determina el paso de proestro al estro, se presentó 24 horas después de iniciados los signos; a diferencia de *Bos taurus* que presenta este reflejo máximo a las 18 horas de manifestado los primeros signos de calor (véase grafica 1); sin embargo la duración de este reflejo fue de dos horas menos en vacas BON que en *Bos. taurus* (ver grafica 2).

Estas variaciones obligan a modificar el esquema del momento óptimo para la inseminación, pues no puede utilizarse el esquema de AM-PM; factor que podría estar contribuyendo a los bajos índices de fertilidad (189 días abiertos y 472.1 días de intervalo entre partos) Duque 1998 (1) cuando se utiliza la inseminación artificial en BON. Es necesario observar con más frecuencia y más intensidad la presentación de calor, y se debe inseminar una vez terminado el reflejo de permanencia. El inicio tardío del reflejo de permanencia, en estas vacas, podría explicarse por la presentación de un mayor número de ondas (ver grafica 2).

La inseminación se hizo al terminar el reflejo de permanencia y la tasa de preñez fue del 100% al primer servicio, para ambos patrones de crecimiento folicular. Otros estudios han reportado menor fertilidad cuando se comparan dos y tres ondas. Se deduce que al haber menor número de ondas hay un periodo prolongado de desarrollo folicular (Towson y col. 2002) (18); así podemos concluir que no hay diferencia en la tasa de preñez cuando se presentan tres o cuatro ondas foliculares.

Este es el primer estudio de caracterización de la dinámica folicular en ganado criollo Blanco Orejinegro y los resultados permiten conclusiones importantes para la estandarización y aplicación de procesos biotecnológicos.

Agradecimientos: este proyecto fue financiado parcialmente por el Comité de Desarrollo de la Investigación CODI y el grupo Fisiología y Biotecnología de la Reproducción, de la Universidad de Antioquia

Bibliografía

1. Duque TI. Indicadores productivos y reproductivos del Ganado Blanco Orejinegro (BON) en la hacienda el Progreso. Trabajo de grado, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia, Medellín, 1998. 50 p.
2. Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction* 2001; 65:638-647.
3. Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil* 1989; 87(1):223-230.

4. Kastelic JP. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Vet Med*, January 1994; 60-70.
5. López A, Arango A, Ossa J, Zuluaga FN. Análisis de resistencia/susceptibilidad al virus de la fiebre aftosa en el ganado Blanco Orejinegro BON. *Rev.Col.Cienc.Pec* 1999; 12(supl):227.
6. López A, Saldarriaga O, Arango A, Rugeles MT, Zuluaga FN, et al. Ganado Blanco Orejinegro (BON): una alternativa para la producción en Colombia. *Rev.Col.Cienc.Pec* 2001; 14(2):119-125.
7. López HA. Fenotipificación del ganado Blanco Orejinegro (BON) para resistencia-susceptibilidad y producción de interferon A-B contra el virus de la Fiebre Aftosa. Trabajo de maestría, Ciencias Básicas Biomédicas, énfasis de virología, Universidad de Antioquia, Medellín, 2000. 80p.
8. Mai MH, Ogwu D, Eduvie LO, Voh Jr. AA. Detection of oestrus in *Bunaji* cows under field conditions. *Tropical animal Health and production* 2002; 34:35-47
9. Maldonado JG, Agudelo B, Vásquez NA. Dinámica folicular en novillas y vacas *Bos indicus* y *Bos taurus*. *Rev.Col.Cienc.Pec* 1997; 10(2): 67-75.
10. Moreno FL. Diversidad y relaciones filogenéticas del ganado criollo colombiano. Trabajo de maestría, Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín 1998. 74p.
11. Murphy MG, Boland MP y Roche JF. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *J. Reprod. Fétil.* 1990; 90:523-533.
12. Restrepo SG, Zuluaga FN, Martínez M, Contreras Y, Ossa JE, et al. Resistencia Natural del Ganado Blanco Orejinegro BON a la infección por virus de Estomatitis Vesicular (VEV) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB). Proyecto de investigación. *Rev.Col.Cienc.Pec.* 1997; 10(2):108-111.
13. Rodríguez L, Valencia L, Ruiz ZT, Andrade JC, Ochoa J, et al. Respuesta superovulatoria de vacas criollas colombianas Blanco Orejinegro (BON) al tratamiento con FSH o PMSG; informe de tres casos. *Rev.Col.Cienc.Pec*, 1998; 11(1):37-44.
14. Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW, De'ath G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod. Fertil.* 1998; 104:41-49
15. Ruiz ZT, Olivera-Angel M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Rep Sci*, 1999; 54: 211-220.
16. Savio JD, Kecnana L, Boland MP, Roche JF. Pattern of growth of dominant follicles during oestrus cycle of heifers. *J.Reprod.Fertil.* 1988; 83:663-671.
17. Taylor C, Rajamahendran R. Follicular dynamics, Corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can.J.Anim.Sci.* 1991; 71:61-68.
18. Townson DH, Tsang PC, Butler M, Frajblart M, Griel Jr. LC, et al. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J.Anim.Sci.* 2002; 80:1053-1058.
19. Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 2001;57:21-52

Producción de embriones F1 BON, para la caracterización del doble propósito y como apoyo a las cadenas láctea y cárnica

Martha Olivera Angel, Dr. Sci. Agr.

Fisiología y Biotecnología de la Reproducción,

Grupo de Reproducción-BIOGÉNESIS,

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia

Resumen

Este ensayo presenta información en el sentido de que la producción y el consumo de leche están aumentando en Colombia, a pesar de que ya no es el ganado lechero especializado el único productor de leche, sino también ganado híbrido llamado de “doble propósito”. Lo mismo es cierto para la producción de carne, puesto que el 48% de toda la carne producida en el país proviene de ganado de “doble propósito”. Se discute el concepto de “doble propósito” y se hace una invitación a los científicos y académicos colombianos para que caractericen y mejoren este tipo de producción animal. Se propone un método para producir y mantener el vigor híbrido y finalmente se presentan métodos biotecnológicos tales como la fertilización in vitro y la transferencia de embriones para acelerar la expansión del sistema y para hacerlo más sostenible.

Palabras clave: *Doble propósito, fertilización in vitro y transferencia de embriones*

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cienc Pec, Vol. 16: pág. 78-82 / 2003.

Summary

This essay presents information indicating that milk production and consumption has increased in Colombia and that specialized dairy cattle is no longer the only producer of milk, but also hybrid or so called “double purpose” cattle. The same situation is true for beef: 48% of the total bovine meat produced in the country is produced by “double purpose” animals. The concept of “double purpose is discussed with an invitation to Colombian scientist and academicians to characterize and optimize this type of animal production both zootechnically and socially. A method to produce and maintain the hybrid vigor of F1 is proposed and, finally, biotechnological procedures such as in vitro fertilization and embryo transfer are discuss to accelerate and make more sustainable the system.

Key Words: *Double purpose, in vitro fertilization and embryo transfer*

Introducción

La tendencia histórica del desarrollo ganadero del país ha mostrado un aumento en la producción y consumo de leche en los últimos 20 años. El PIB agropecuario pasó de ser el 4.8% en 1980, al 19% en 1997 (www.agrocadenas.gov.co); de niveles de producción de leche, en 1950, de 728 millones de litros, hemos avanzado a una producción de 5.326 millones de litros, en 1997; por su parte, el consumo de leche fresca aumentó, especialmente en las grandes ciudades como Bogotá, Medellín, Cali y Barranquilla, en las cuales el promedio pasó de 133 litros por persona año, en 1994, a 145 en el 2000.

Este cambio ha sido muy importante si se tiene en cuenta, además, que la producción de leche dejó de estar basada en ganado especializado únicamente (hoy se produce solamente el 52% de la leche a partir de este ganado) y cobró importancia la producción a partir de ganados cruzados, en climas tropicales medios y bajos; esto es, lo que hemos llamado “doble propósito”.

En Colombia la ganadería de clima frío (trópico alto) se desarrolló primero, gracias a que este clima tiene ventajas comparativas para la adaptación de razas importadas de Europa, Estados Unidos y Nueva Zelanda; sin embargo, la situación ha variado en la actualidad con el desarrollo de la floricultura y el aceleramiento del urbanismo, lo que ha puesto a la ganadería de leche en una situación de competencia conducente a una menor rentabilidad y esto, a su vez, ha promovido el desarrollo de sistemas más intensos de producción donde con un menor número de animales se debe producir más leche.

En el año 2000 la producción de carne y leche representó el 30% del valor de la producción agropecuaria nacional y el 67% del subsector pecuario. El inventario ganadero del año 2001 continuó siendo el mismo de 1990, con 24.8 millones de cabezas en 36.7 millones de hectáreas, lo que equivale al 57,2% de la superficie agropecuaria; y también el consumo de carne por persona se mantuvo en 16.3Kg. Según los datos del Ministerio de Agricultura el 57.25% de la ganadería colombiana es de ganado de carne de origen cebuino; en cuanto a la lechería, el 3.3% son ganaderías especializadas que producen el 52% de la leche y el 39.5% es de “doble propósito” que produce el 48%. La tasa de extracción anual es de 3.543.000 cabezas, para una producción de 707.000 toneladas de carne en canal. No se sabe qué porcentaje de esta cifra corresponde a animales provenientes de las ganaderías “doble propósito”.

Geográficamente, las microcuencas que producen leche con sistemas “doble propósito” en climas tropicales bajos y medios, representan más de la mitad del país pecuario. Tal es el caso de Cesar, Guajira, Magdalena, Santander, Córdoba, Atlántico, Sucre, Bolívar, Valle del Cauca, Putumayo, Caquetá, Magdalena Medio, Tolima, Huila y Piedemonte llanero.

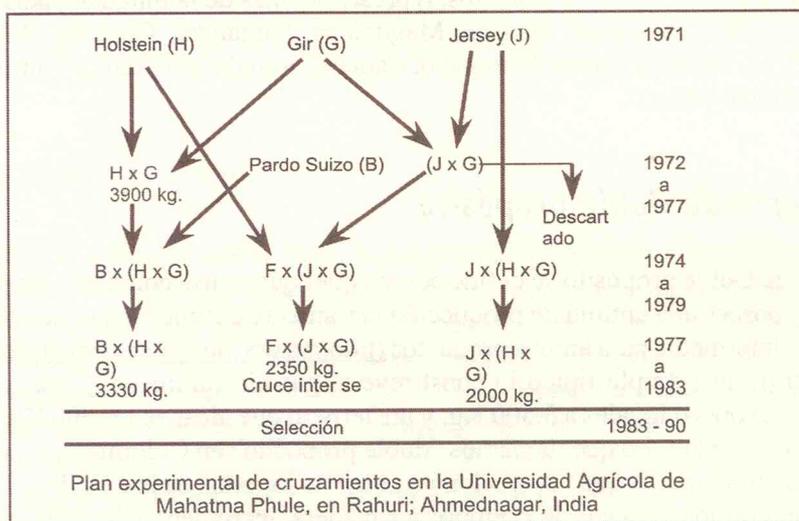
El concepto de doble propósito

Un animal de Doble propósito se define como aquel que se usa con doble fin productivo por no poseer una aptitud de producción claramente definida, sino más bien una producción intermedia para ambos productos (http://www.puc.cl/sw_educ/prodanim/glosario.htm); un ejemplo típico lo constituye el ganado Simmental, que produce lactancias mayores o iguales a 3.500 Kg, y un ternero que alcanza los 300 Kg, o más, a los 8 meses de edad. Lo que llamamos “doble propósito” en Colombia y Venezuela es un tipo de producción que evolucionó a partir de los años de la década del 70 con el fin de mejorar los ingresos de la empresa ganadera, incrementando el flujo de caja y abriendo la posibilidad de ajustarse a la demanda de leche o carne según las fluctuaciones del mercado. Este ganado, obtenido a partir de cruces de ganado de leche con ejemplares cebuinos o criollos, presenta lactancias cortas y sin persistencia, se ordeña con apoyo del ternero y produce entre 4-8 Kg de leche en un solo ordeño. Los terneros que no se quedan en el reemplazo son vendidos para levante y ceba, lo que le permite al ganadero un doble ingreso. Podríamos concluir que más que un doble propósito en términos zootécnicos, se trata un doble ingreso en términos económicos para la pervivencia de la empresa ganadera!

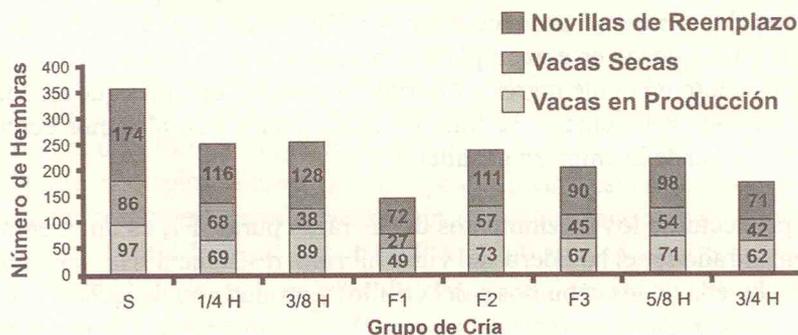
El primer producto de los cruzamientos de las razas puras, F1, es un media-sangre que ha demostrado ser el heredero del vigor híbrido: resistencia a las condiciones de trópico, (las hereda de los cebuinos o del criollo) y producción de leche (heredada de las razas especializadas lecheras) (ver gráfica 1). A partir de estas hembras se trata de

mantener las características en las siguientes generaciones, sin embargo, la tendencia es a la pérdida de las mismas (ver gráfica 1). El proyecto más grande que se ha realizado en el mundo para valorar el cruzamiento que produce las mejores lactancias en el trópico o en el subtropico, fue llevado a cabo en la India entre las décadas del 70 y el 90. Aquí demostraron, mediante la observación de más de 300 lactancias, que el animal media-sangre (F1) de los cruces Holstein (taurus) por Gir (indicus) producía el que mejor promedio de leche por lactancia, y que ningún cruce, ni el interse, ni el F1 con algunos de los parentales puros, podía mejorar la producción alcanzada. Otro estudio realizado por Mc. Dowell y col. en 1996, demostró que para obtener 500 Kg de leche por lactancia, a partir del ganado Holstein, Sahiwal, o sus cruces, es el F1 el que requiere menos vacas en producción, menos novillas de reemplazo y menos vacas secas (Grafica 2).

Gráfica 1. Producción de leche a partir de F1



Gráfica 2. Número de hembras necesarias para producir 500 kg de leche/día (adaptado de Mc Dowell, y col. 1996)



Estudios realizados para caracterizar la ganadería doble propósito demostraron las ventajas de este sistema para producción de leche y generación de empleo (Paez L y Jiménez M 2000, Khalil R y Vaccaro L 2002); mejora el uso de la tierra y en general tiene un mayor impacto social (Carrizales y col. 2000), por su parte Murgueito (1994) indica que este sistema es sostenible. Sin embargo, hasta el presente no se ha determinado cuál sería la producción de carne que complemente la definición del sistema doble propósito.

Podríamos pensar que para producción de leche y carne en Colombia, en el mediano futuro, el sistema de producción “doble propósito, a-la-colombiana” sería uno de los sistemas de producción pecuaria sostenible más importante. Para lograrlo se requiere del compromiso de los sectores universitarios, gubernamentales, públicos, y privados para realizar la investigación, la prospección, la promoción y la evaluación de este sistema autóctono. Para el efecto todos debemos girar sobre el concepto de sostenibilidad, como lo describe Bejarano (1998); esto es, como “el desarrollo que atiende las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras de atender a sus propias necesidades”.

Las diferentes entidades universitarias y de investigación se comprometerían a desarrollar estudios tendientes a superar las diferentes limitantes tecnicocientíficas y socioproductivas que afectan el sistema, como son: tecnología deficiente, poca organización alrededor de las cadenas productivas, deficiencia en el trabajo conjunto entre la producción económica y la producción sostenible y la equidad social. Alrededor de la idea del doble propósito se pueden plantear, en los términos de desarrollo que presenta Bejarano, 1998, , el cuidado del medio ambiente y la mejora de la calidad de vida (alimentación, salud y trabajo). Para el efecto sería posible y necesario utilizar los diferentes capitales que existen en el sector:

- Capital humano: formación a todos los niveles de la producción: productores, técnicos, tecnólogos, profesionales y científicos
- Capital de origen humano (técnico): Capital ideado por el hombre: (infraestructura, innovación en formas de producción, biotecnología, etc.)
- Capital Natural: conjunto de activos ambientales: suelo, bosques, agua atmósfera: servicios ambientales renovables y no renovables. Este capital va de la mano, en el sector agrario, con el capital de origen humano o sea el técnico.
- Capital social, institucional, político: cultura en su más amplio sentido.

Biotecnología, razas criollas y doble propósito

Nuestro grupo de estudio, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad de Antioquia, hace una propuesta para producir animales F1 para el sistema de producción doble propósito.

La introducción y la propagación de material genético importado produjeron una reducción en el hato criollo. Este hato que ha demostrado su resiliencia o capacidad de pervivir a pesar de condiciones muy precarias e inhóspitas, como las halladas al momento de su introducción por los conquistadores; tales condiciones no mejoraron sustancialmente durante la colonia y la república debido a la ausencia de una cultura ganadera (recuérdese el ganado como simple indicador de tenencia de grandes extensiones de tierra); en la actualidad la situación no ha mejorado, pues un nuevo factor se sumó a la suerte del ganado criollo con la llegada, desde principios del siglo XX, de ganados especializados que ocuparon los mejores terrenos y consecuentemente desplazaron a aquellos a condiciones “rústicas” caracterizadas por suelos pobres, pastos y barbechos de dudosa calidad, tierras inclinadas o riscos inaccesibles y poca o ninguna asistencia veterinaria y zootécnica. Estas condiciones a lo largo de 500 años, sumadas a las peripecias históricas y naturales desde el origen de estas razas, posiblemente en África, como lo han señalado los estudios de poblaciones de nuestro Grupo de Genética Molecular (López y col. 2001) conducirían al desarrollo de la mayor cualidad que reconocemos en el ganado criollo, como es su RUSTICIDAD ¹

El grupo citado anteriormente ha demostrado que los pequeños núcleos criollos existentes, tienen un alto grado de diversidad, lo que es indicativo de un gran pool genético para la selección y el cruzamiento para producir media-sangre para la cadena de leche y carne, “doble propósito”.

Como se dijo, la producción de leche a partir de F1 en condiciones de climas tropicales medios y bajos es mejor que a partir de ganados especializados o cruces diferentes al media-sangre. La producción de carne a partir de F1 con razas criollas también es mejor que cuando se usa sólo un cebuino (tabla 1). Entonces por qué no dedicar esfuerzos a la producción de F1?

¹ Aquí vale la pena reflexionar por un momento en los caprichos del lenguaje, pues parece que la “rusticidad” del medio hubiese sido aprehendida o apropiada por el ganado, lo cual es compatible con nuestro pensamiento evolucionista modernamente darwiniano. Es difícil definir esta cualidad, a pesar de su uso generalizado en la comunidad zootécnica, pero podríamos decir que se trata de un término genérico dentro del cual se incluye una lista de características que son las que hacen de estas especies un valioso y único potencial para la producción nacional. Sin embargo es necesario un cambio de mentalidad que permita ver en esta característica una posibilidad para emprender una gran aventura, más que una razón para mantener el *status quo*, con la consecuente extinción que se avecina.

Tabla 1. Promedios ajustados por mínimos cuadrados en los diferentes grupos raciales*

Grupo racial	Peso nacimiento (kg)	Peso destete 270 días (kg)	Peso 18 meses (kg)
Cebú x Cebú	32.6 a	220.3 b	309.7 b
BON x Cebú	31.1 b	239.5 a	348.7 a
Romo x Cebú	29.6 c	235.3 a	350.2 a
Angus x Cebú	32.4 ab	244.1 a	344.2 a

* Promedios con diferente letra dentro de cada variable difieren estadísticamente ($P < 0.05$). Amablemente cedido por CORPOICA.

El mantenimiento de las características del F1 es el gran dilema de los genetistas del trópico. Esto se podría lograr de tres formas diferentes y complementarias:

- 1- Hatos puros de ganado especializado que utilizan parte de los vientres para ser inseminados con una raza criolla. Los terneros F1 si son machos irán a la cadena cárnica y si son hembras a la producción “doble propósito”.
- 2- Hatos puros que deseen producir embriones F1, mediante superovulación, los cuales pueden ser transferidos inmediatamente a receptoras, o congelados para su posterior utilización.
- 3- Producción de embriones F1 a partir de Fertilización in-vitro, mediante recolección de ovocitos de vacas de matadero, o a través de la punción ex vivo.

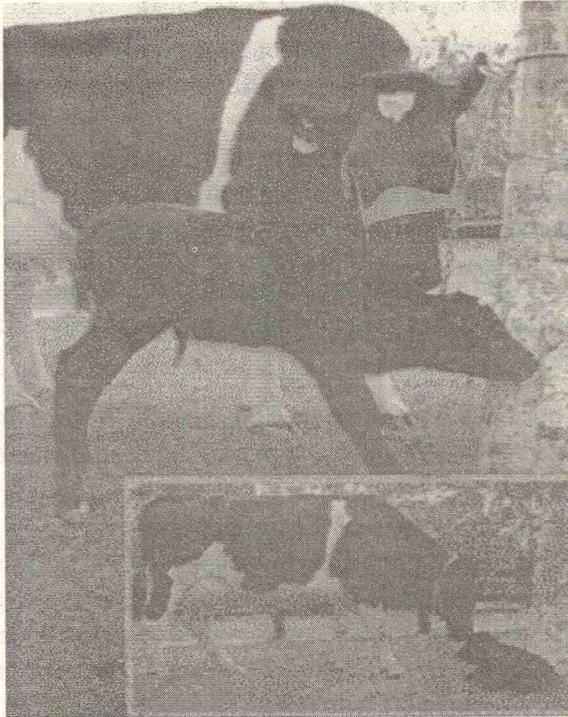
Los embriones obtenidos, media sangre (F1) de 7 días, se transfieren a las hembras F1 del hato, que a la vez que están produciendo leche. Estas receptoras amamantarán a sus terneros transmitiéndoles una herencia inmune contra las infecciones más frecuentes del medio. Las hembras media sangre nunca tendrían hijos propios, pero el hato conservaría la heterosis en su máxima expresión, pues siempre se producirían terneros que no son parientes de las receptoras.

En estos hatos de F1, no todos los animales podrían gestar un embrión transplantado, algunos de ellos pueden ser servidos con un toro cebuino, lo que produciría un ternero trihíbrido 25% cebú, por un media sangre taurus (Holstein x Criollo). Este producto macho o hembra es un producto final que ingresa a la cadena cárnica.

Bernabé, el primer ternero probeta en Antioquia

En el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia producimos embriones in-vitro desde 1996, o a partir de aspiración de oocitos guiados por una sonda ultrasonográfica. En promedio se produce 1 embrión de excelente calidad de cada 25 oocitos recuperados. Con el fin de demostrar las ventajas y aplicabilidad de esta tecnología, nuestro laboratorio transfirió tres de los embriones producidos en una semana (oocito de vaca Holstein x semen de toro BON), uno de los cuales condujo al nacimiento de “Bernabé” el primer ternero probeta nacido en Antioquia (ver fotografía 1).

Fotografía 1. Bernabé y su madre receptora: El grupo de Biotecnología y Fisiología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, en cooperación con el Politécnico Colombiano, logró el nacimiento del primer ternero probeta en Antioquia (un F1 BON), en 1998.



Brevemente presentamos el procedimiento: Inmediatamente después de sacrificada la vaca, se colectan los ovarios y se depositan en solución salina fisiológica a 35°C para su traslado al laboratorio. Una vez lavados los ovarios, con solución salina estéril, se realiza la aspiración de los folículos que presenten tamaños entre 2 y 7 Mm. de diáme-

tro. El producto de la aspiración se deposita en un tubo cónico; en el sedimento que se acumula en media hora, a 1 gravedad, se procede a buscar los oocitos con la ayuda del estereomicroscopio. La maduración se logra en un tiempo de 24 horas en un medio suplementado con hormonas y, al cabo de este periodo se retiran los oocitos, se lavan, se fertilizan y se incuban por 18 horas. Luego se lavan los cigotes y se cultivan durante siete días hasta la obtención de blastocistos, que es el estadio ideal para la transferencia; estos embriones se pueden transferir en fresco o se criopreservar hasta el momento de su transferencia. La receptora puede ser una novilla o una vaca sana, que tenga 7 días de haber presentado síntomas de calor (es decir sincrónica con el embrión) y que presente un cuerpo lúteo.

En resumen, hemos demostrado la factibilidad del método biotecnológico para la producción de terneros F1 BON; tenemos una propuesta para poner a prueba la posibilidad de mantener el vigor híbrido en el hato y, mediante los estudios realizados en la Universidad de Antioquia sobre genética molecular y de poblaciones y sobre resistencia natural a enfermedades infecciosas, tenemos el convencimiento de que los ganados criollos representan una excelente y quizás la única posibilidad de desarrollar una industria ganadera verdaderamente nacional, adaptada a nuestras condiciones geológicas y sociales y con el potencial de sostenibilidad de los delicados ecosistemas tropicales.

Bibliografía

- Bejarano A. 1998. Desarrollo sostenible: un enfoque económico con una extensión al sector agropecuario <http://www.agrocadenas.gov.co/documentos/No%204.pdf>.
- Carrizales H, Paredes L, Manasés E, y Capriles P. 2000. Estudio de funcionalidad tecnológica en ganaderías de doble propósito en la zona de santa Bárbara. Municipio Colón. Estado Zulia. (estudio de casos) Zootecnia Tropical. Vol 18, N1 <http://www.ceniap.gov.ve/ztweb/zt1802/texto/caracterizacion.htm>.
- Khalil R y Vaccaro L 2002. Peso y mediciones corporales en vacas de doble propósito: su interrelación y asociación con valor genético para tres características productivas. Zootecnia Trop. 20 (1): 11-30.
- López A, Saldarriaga O, Arango A, Rugeles M, Zuluaga F, Olivera M, Bermúdez N, Bedoya G, Ossa J. 2001. Ganado Blanco Orejinegro (BON): Una alternativa para la producción en Colombia. Rev. Col. Cien. Pec. 14 (2) 119-126.
- Murgueito ER 1992 Sistemas sostenibles de doble propósito como alternativa para la economía campesina. <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd4/3/enrique1.htm>. Livestock Research for Rural Development, 4: (3).
- Paez L y Jiménez M 2000. Caracterización estructural y tipologías de fincas de ganadería de doble propósito en la microregión Acequia-Socopo del estado de Barinas. Zootecnia Tropical Vol 18. N 2 <http://www.ceniap.gov.ve/ztweb/zt1802/texto/caracterizacion.htm>.

Body and testicular traits, libido testing and semen analysis of young males from BON (*Bos taurus*) around the onset of puberty

Germán Urrea¹, MV; Sandra L. Córdoba¹, MV; Jorge A. Neira^{2,3}, MVZ, MS;
Juan G. Maldonado^{1,4}, MVZ, MS.

¹Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, y Programa de Biogénesis, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia;

²Centro de Investigaciones El Nus, Corpoica. Rionegro, Antioquia;

³Ecole Vétérinaire de Nantes, Nantes, France;

⁴Unité 131 INSERM, Equipe Cytokines et Immunorégulation Maternelle, Hôpital A. Béchère. Clamart, France.

Summary

Fifteen young males (mixed ages) from the BON herd of the University of Antioquia were selected and followed weekly from August to December 1998 (with a range of 9,9 to 28,1 months, from 19 time points of data collection) in order to measure and evaluate: 1) Body and Testicular traits ($n = 322$); 2) Libido testing (LibT, $n = 19$); 3) Response to rectal palpation of seminal vesicles reflex (SVR, $n = 244$); and 4) Analysis of semen collected with artificial vagina ($n = 42$). Data of physical traits were categorized monthly from 10 to 27 months ($n = 17$ groups); and data of semen were categorized into three groups (16,1 to 21; 21,1 to 24; and 24,1 to 27 months). Simple

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cienc Pec, Vol. 14: 1, pág. 54-67 / 2001.

regression analysis was performed between each trait (dependent variable) and age (independent variable). Multivariate analysis of variance was used to establish differences between groups and monthly reference values for each trait. Physical traits proportionally increased ($p < 0,01$) with age: Body Weight ($R^2 = 0,796$) and Scrotal Circumference ($R^2 = 0,672$), had the highest correlation coefficients, whereas Body Length ($R^2 = 0,454$), Withers height ($R^2 = 0,506$), Testis Diameter ($R^2 = 0,415$), and Testis Length ($R^2 = 0,458$), had a mild correlation. Higher scores for LibT (more than 5 mating attempts/5 minutes) were always observed. Individual responses to SVR (secretion of pre-seminal fluid, protrusion of penis and complete erection) proportionally increased with age ($R^2 = 0,539$; $p < 0,01$). The youngest age at semen collection was 16,1 months ($1,63 \times 10^8$ sperm/cc, with $>60\%$ gross and individual progressive motility); however, no correlation was found with age, neither for volume (3,6 ml), nor for pH (6,86) or semen concentration. These results suggest that the onset of puberty occurs between 13 and 14 months for this BON herd and confirm previous observations on the high libido of BON males. Reference values are reported for both testicular and body traits. Breeding Soundness Examination rather than merely semen concentration must be considered in order to define the onset of puberty in bovine cattle.

Key words: Bovine, Criollo Cattle, Puberty, Semen, Tropical Environment, Young Bulls.

Introduction

Blanco Orejinegro (BON) cattle (*Bos taurus*) is one of the greatest herd of tropical-adapted Colombian Criollo Cattle (15). Bred in several pure and cross-bred nuclei at the coffee plantations areas of Colombia (27), BON is a genetic resource adapted to fit the conditions of Colombian tropic, showing good fitness to adverse environments, including bit and fly resistance, haemoparasite resistance, and grassing on poor soil conditions (2, 3, 34); however, this "resistance" remain to be characterized by both clinical and molecular immunogenetic studies (27, 28). Cross-breeding of BON with both Holstein in which F1 females had good milking performance and great reduction of mastitis and placenta retention incidences (University of Antioquia and University Nacional at Medellín, unpublished results) and Zebu (*B. indicus*) cattle (2, 34), resulted in increased resistance and high performance for several economically important traits.

Because of BON cattle is enlisted as an endangered genetic resource (15), several efforts have been focused on the study of its reproductive biology (30, 32) with the aim of contributing to its preservation and propagation. In 1995, a multicentric collaborative study was started in order to characterize the genetic resistance and

fitness of BON cattle (15, 27, 28). The results of a recent work carried out with yearling males from the BON herd of “Centro de Investigaciones El Nus” Corpoica (Colombia), suggested puberty onset around 14 months of age for this herd (13). The present study was designed to evaluate by Breeding Soundness Evaluation, BSE (6-9) the onset and establishment of puberty in young males from the Universidad de Antioquia BON herd, which together with the Corpoica ones, represents the greatest herds of BON cattle in Colombia.

Material and Methods

This study was conducted from August to December 1998 at “El Progreso” farm property of University of Antioquia, located at 40 km north of Medellín, in a humid subtropical forest (Bosque húmedo subtropical, bhsT) with 1300 m.o.s.l, 24°C average temperature, 2000 mm annual rainfall, and 85% relative humidity (1). Males were fed *ad libitum* with *Brachiaria decumbens*, and Guinea (*Hypharrenya ruffa*) grass and supplemented with a local-prepared mineralized salt.

Inclusion criteria for the study. All young males bred in the farm having normal health condition were selected (n = 15) and were weekly evaluated from August to December 1998. Data recorded at each date of evaluation comprised a range of age between 9,9 and 28 months and a range of weight from 232 to 448 kg (Table 1).

Table 1. Age and weight characteristics of young males from the University of Antioquia BON herd, included in the study.

Male identification ^a	Age (months)		Weight (kg)	
	Initial	Final	Initial	Final
23-7	9,93	12,47	232,5	245
21-7	10,36	12,89	273	286
17-7	11,28	15,66	214	256
15-7	12,53	16,91	234,5	258
11-7	16,12	20,49	290	328
5-7	18,09	20,39	267	321
1-7	18,75	23,13	279	337
37-6	20,56	24,93	318	374
29-6	22,2	26,58	317	391
27-6	22,27	26,64	354	388
25,6	22,47	26,84	368	412
23-6	22,57	26,94	318	367
21-6	22,63	24,93	417	452
17-6	22,89	25,2	361	420
11-6	25,79	28,09	384	448

^a Young males are chronologically ordered from youngest (Born in 1997) to oldest (Born in 1996)

Physical traits: 1) body traits were measured under restrained conditions as follows: Body weight (BD), was recorded by using an electronic balance (Tru-Test, New Zealand; error = 5 kg); withers height (WH), was measured from the bottom (ground) to the top of the scapula, with a fixed wood rule; Body length (BL), was measured with a linear meter along the dorsal axis from wither to the first *coccigeum vertebrae*. 2) testicular traits were evaluated according to the method proposed by Barth (1996): Scrotal circumference (SC), was measured with a linear meter, Testis diameter (TD) and length (TL) were both measured in the right testis by using a standard calibrator (Vernier Caliper, Russia).

Libido testing (LibT) and serving capacity. Young males were exposed in groups of 5 animals to restrained PGF₂-induced estrous cows in order to evaluate libido and serving capacity, which was categorized according to the system proposed by Barth (Which propose the observation of mating attempts during 20 minutes) as follows (6): Very high (7 or more mating attempts), High (4 to 6 mating attempts), Medium (2 to 3 mating attempts), and Low (0 to 1 mating attempts).

Semen analysis. All males that yield semen samples always exhibited very high scores for LibT. Semen was collected between 7:00 to 10:00 hours by the artificial vagina method, and was immediately evaluated as previously reported (6): 1) Macroscopic evaluation: volume was measured by using of graded tubes and direct observation immediately after the ejaculate was recovered; color, was classified as white, yellowish, or brown; and aspect, was graded as creamy (high concentration), milky (mild concentration) or aqueous (low concentration); and 2) Microscopic evaluations (carried out within the 5 minutes after the ejaculate was recovered): progressive motility - gross and individual- was graded as very good (80 to 100%), good (60 to 80%), regular (30 to 60%) or poor (< 30%); and semen concentration was evaluated in Neubauer chamber and defined as sperm/cc of ejaculate. All macro and microscopic evaluations were performed by trained technicians.

Seminal vesicle palpation reflex. The reflex to seminal vesicle (SVR) palpation, (6) was arbitrary classified according to intensity of contractions, as strong, middle, or slight. In addition, presence of pre-seminal fluid, protrusion of penis or complete erection, were found to be proportionally related to the intensity of response to rectal massage. All those evaluations were performed by the same investigator.

Statistical analysis. Data were analyzed by simple regression, in which age was included as independent variable and each trait was analyzed as dependent variable; therefore, a multivariate analysis of variance was used to define reference values for each group of age. The Least Square Differences (LSD) were used to define significances between groups of age. These analysis were performed by using Statgraphic Plus (At University of Antioquia, Medellín, Colombia) and confirmed in StatView (At Unité 131 INSERM, Clamart, France) software statistics.

1. In order to evaluate morphological traits, age of young males recorded at each time point of evaluation was categorized monthly from 10 to 27 months. For multivariate

analysis, age was included as independent variable, each trait as independent variable, and categories of age ($n = 17$) as factor.

- In order to evaluate semen analysis, age at successful collections was classified as: Group 1 (16,1 to 21 months), Group 2 (21,1 to 24 months), and Group 3 (24,1 to 27 months).

Results

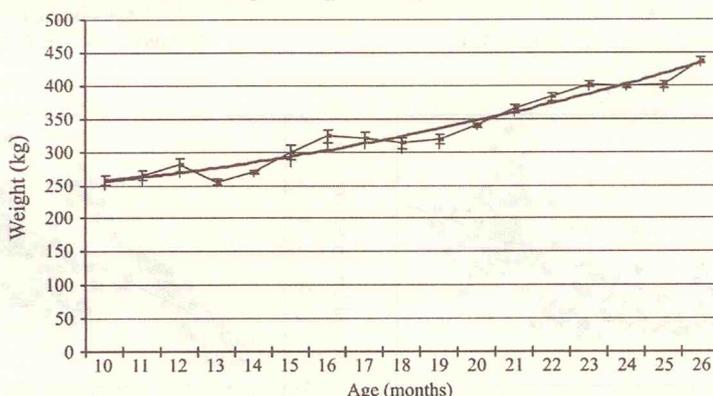
1. Body and testicular traits

A strong relationship was found between age and each trait (Figures 1 and 2); the highest correlation coefficients were found for BW ($R^2 = 0,796$, $p < 0,01$, Figure 1A) and SC ($R^2 = 0,672$, $p < 0,01$, Figure 2C). In addition, a mild significant correlation was found for BL ($R^2 = 0,454$, $p < 0,01$, Figure 1B) and WH ($R^2 = 0,506$, $p < 0,01$, Figure 1C), as well as for TD ($R^2 = 0,415$, $p < 0,01$, Figure 2A) and TL ($R^2 = 0,458$, $p < 0,01$, Figure 2B).

Values for BW range from 251 ± 7 to 433 ± 5 kg, at the lowest (10 to 11 months) and highest (26,1 to 27 months) categories of age, respectively (Table 2), representing a growing rate of 10,7 kg/month for the interval. A three modal curve was found for BW since starting at 10 months, followed by a significant decrease at 12 months, then a significant increase between 13 and 15 months, and between 20 and 23 months (Figure 3). Data from BW fitted a polynomial curve from which interpolations could be made for analysis of individual cases. The general equation for the model was defined as:

$BW = 118,214 + 10,785 \times \text{Age (in months)}$; $R^2 = 0,796$; $p < 0,01$ (Figure 1A).

Figure 3. Growth curve of body weight in young males of the University of Antioquia BON herd, throughout puberty onset*



Polynomial transformation of data is presented as a continuous line.

* Values are presented as means (\pm s.e.).

Figure 1. Simple regression for body weight (A), length (B) and withers height (C) in young males of the University of Antioquia BON herd throughout puberty onset. The equation for each model is presented at the bottom of each figure.

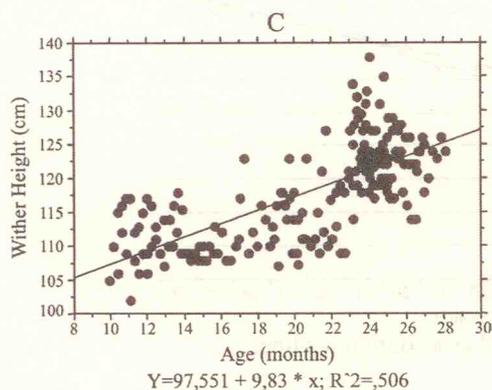
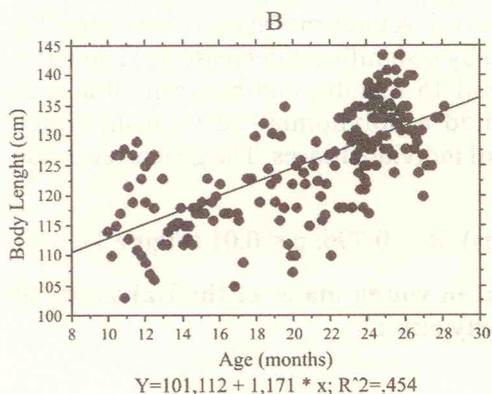
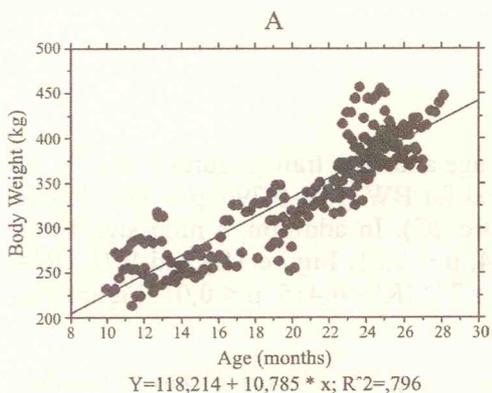
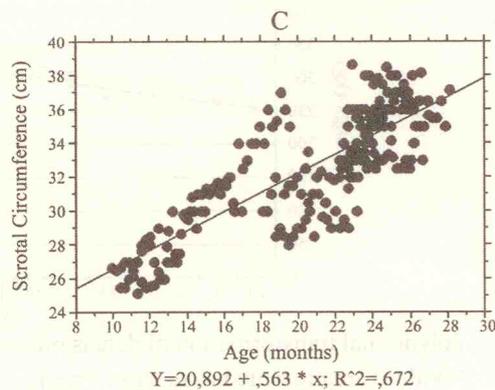
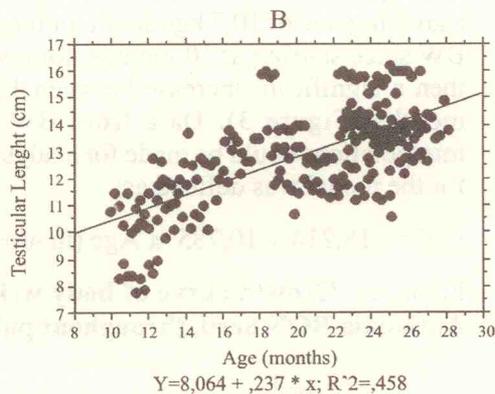
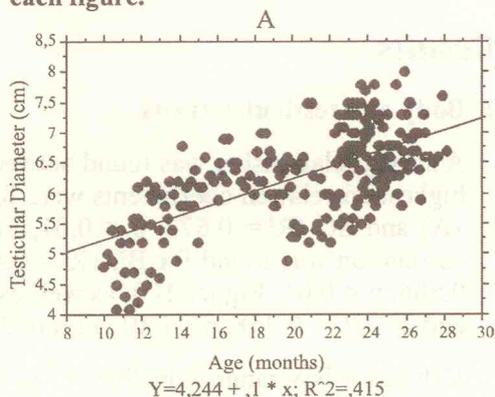


Figure 2. Simple regression for testis diameter (A), testicular length (B) and scrotal circumference (C) in young males of the University of Antioquia BON herd throughout puberty onset. The equation for each model is presented at the bottom of each figure.



Body length range from 118 ± 3 to 131 ± 1 cm, at the lowest and highest categories of age, respectively (Table 2), representing a growing rate of 0,76 cm/month for the interval. The general equation for the model was defined as:

$$BL = 101,102 + 1,171 \times \text{Age (in months)}; \quad R^2 = 0,454; p < 0,01 \text{ (Figure 1B).}$$

Table 2. Body traits in young males from the University of Antioquia BON herd, throughout puberty onset.*

Group of age (months)	Body weight (kg)		Body Length** (cm)		Wither height (cm)	
	n		n		n	
10-11	8	251 ± 7^a	8	118 ± 3^a	8	112 ± 2^a
11,1-12	13	258 ± 7^a	10	119 ± 2^a	10	111 ± 2^a
12,1-13	12	271 ± 10^a	8	117 ± 3^a	9	111 ± 1^a
13,1-14	8	251 ± 4^a	7	115 ± 1^a	8	113 ± 1^a
14,1-15	9	267 ± 3^a	9	115 ± 1^a	9	$109 \pm 0,2^a$
15,1-16	7	288 ± 11^a	7	119 ± 1^a	7	110 ± 1^a
16,1-17	7	314 ± 10^b	4	114 ± 3^a	4	109 ± 1^a
17,1-18	5	313 ± 8^b	5	120 ± 4^a	5	114 ± 3^a
18,1-19	10	305 ± 8^b	5	126 ± 2^b	5	113 ± 1^a
19,1-20	13	312 ± 7^b	12	119 ± 2^a	12	115 ± 1^b
20,1-21	10	337 ± 3^b	7	120 ± 2^a	8	113 ± 2^a
21,1-22	10	359 ± 6^c	9	121 ± 2^a	9	115 ± 2^b
22,1-23	23	377 ± 6^c	9	128 ± 2^b	9	117 ± 2^b
23,1-24	30	397 ± 5^c	26	128 ± 1^b	26	125 ± 1^b
24,1-25	31	396 ± 4^c	31	134 ± 1^c	29	123 ± 1^b
25,1-26	20	396 ± 5^c	19	135 ± 1^c	19	124 ± 1^b
26,1-27	16	433 ± 5^d	14	131 ± 1^b	14	121 ± 1^b

*Least square means \pm standard error

**Measured along the dorsal line from wither to the first *coccigeum vertebrae*

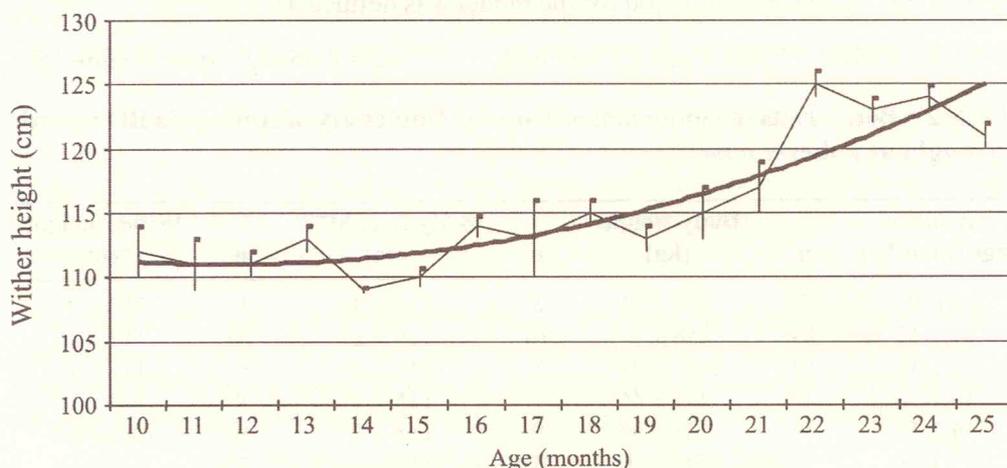
n = number of data in each group of age

Different superscripts within the same column indicate statistically significant differences ($p < 0,01$).

Withers height (WH) range from 112 ± 2 to 121 ± 1 cm, at the lowest and highest categories of age, respectively (Table 2), representing a growing rate of 0,52 cm/month for the interval. The growth curve for WH show two intervals of faster growth from 14 to 16 and from 19 to 22 months of age (Figure 4). The polynomial transformation of the data show a growth increase since 13 months of age (Figure 4). The general equation for the model was defined as:

$$WH = 97,551 + 0,983 \times \text{Age (in months)}; \quad R^2 = 0,506; p < 0,01 \text{ (Figure 1C).}$$

Figure 4. Growth curve for wither height in young males from University of Antioquia BON herd throughout puberty onset



Polynomial transformation of data is presented as a continuous line.

Values are presented as means (\pm s.e.).

Testis diameter (TD) range from $4,9 \pm 0,16$ to $6,8 \pm 0,2$ cm, at the lowest and highest groups of age, respectively (Table 3), representing a growing rate of 1,1 mm/month for the interval. The growth curve for TD show a progressive increase from 11 to 18 months when it reached the adult value observed at 27 months (Figure 5); in addition, the polynomial curve of the data show a plateau at 21 months (figure 5). The general equation for the model was defined as:

$$TD = 4,244 + 0,1 \times \text{Age (in months)}; R^2 = 0,415; p < 0,01 \text{ (Figure 2A).}$$

Testis length (TL) range from $10,1 \pm 0,5$ to $14 \pm 0,3$ cm, at the lowest and highest groups of age, respectively (Table 3), representing a growing rate of 2,2 mm/month for the interval. The growth curve for TL as well as the polynomial curve of data, show the same pattern of TD, and adult values were also reached at 18 months (Figure 5, Table 3). The general equation for the model was defined as:

$$TL = 8,064 + 0,237 \times \text{Age (in months)}; R^2 = 0,458; p < 0,01 \text{ (Figure 2B).}$$

Scrotal circumference (SC) range from $26,4 \pm 0,2$ to $35,9 \pm 0,4$ cm, at the lowest and highest groups of age, respectively (Table 3), representing a growing rate of 5,5 mm/month for the interval. The growth curve for SC show a progressive increase from 12 to 17 months, then significantly decrease until 21 months, with a final

Table 3. Testicular traits of young males from the University of Antioquia BON herd, throughout puberty onset.*

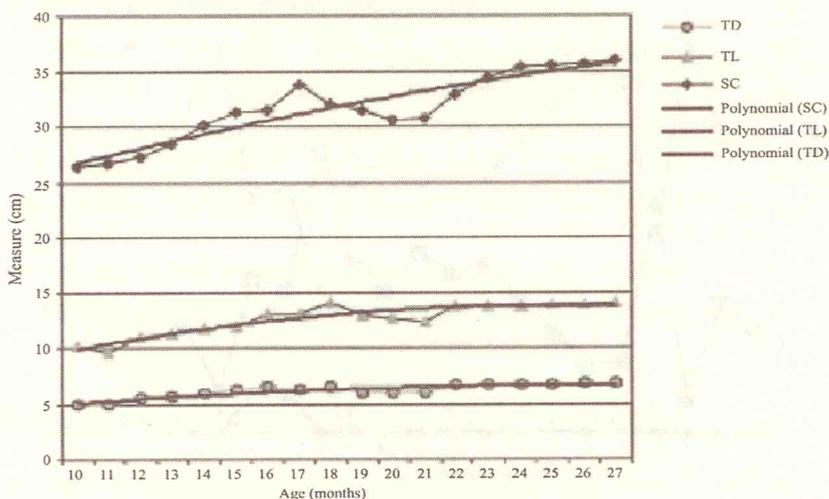
Group of age (months)	Testicular diameter (kg)		Testicular length (cm)		Scrotal circumference (cm)	
	n		n		n	
10-11	8	4,9 ± 0,16 ^a	8	10,1 ± 0,5 ^a	8	26,4 ± 0,2 ^a
11,1-12	13	4,9 ± 0,18 ^a	13	9,6 ± 0,3 ^a	12	26,7 ± 0,3 ^a
12,1-13	12	5,5 ± 0,18 ^b	12	11,0 ± 0,4 ^b	10	27,2 ± 0,4 ^b
13,1-14	8	5,6 ± 0,17 ^b	8	11,3 ± 0,3 ^b	8	28,4 ± 0,5 ^b
14,1-15	9	6,0 ± 0,15 ^c	9	11,7 ± 0,4 ^b	9	30,1 ± 0,2 ^b
15,1-16	7	6,2 ± 0,08 ^c	7	11,9 ± 0,4 ^b	7	31,3 ± 0,1 ^b
16,1-17	7	6,5 ± 0,10 ^c	7	13,1 ± 0,3 ^b	7	31,4 ± 0,5 ^b
17,1-18	5	6,2 ± 0,08 ^c	5	13,1 ± 0,2 ^b	5	33,7 ± 0,4 ^b
18,1-19	10	6,5 ± 0,12 ^c	9	14,1 ± 0,6 ^b	10	32,1 ± 0,9 ^b
19,1-20	13	6,0 ± 0,14 ^c	13	12,9 ± 0,3 ^b	12	31,4 ± 0,9 ^b
20,1-21	10	6,0 ± 0,24 ^c	10	12,6 ± 0,3 ^b	9	30,6 ± 0,5 ^b
21,1-22	10	5,9 ± 0,22 ^c	10	12,3 ± 0,2 ^b	10	30,7 ± 0,4 ^b
22,1-23	23	6,6 ± 0,12 ^c	23	13,7 ± 0,3 ^b	23	32,9 ± 0,5 ^b
23,1-24	30	6,7 ± 0,12 ^d	29	13,8 ± 0,2 ^c	28	34,3 ± 0,3 ^c
24,1-25	31	6,7 ± 0,10 ^d	31	13,8 ± 0,2 ^c	31	35,4 ± 0,3 ^c
25,1-26	20	6,7 ± 0,13 ^d	20	13,9 ± 0,3 ^c	18	35,5 ± 0,5 ^c
26,1-27	16	6,8 ± 0,10 ^d	16	13,9 ± 0,2 ^c	15	35,7 ± 0,4 ^c
>27	5	6,8 ± 0,20 ^d	5	14,0 ± 0,3 ^c	5	35,9 ± 0,4 ^c

*Least square means ± standard error

n = number of data in each group of age

Different superscripts within the same column indicate statistically significant differences ($p < 0,01$).

Figure 5. Curves for testicular traits in young males of the University of Antioquia BON herd throughout puberty onset



Polynomial transformation of data are presented as continuous lines.

Values are presented as means.

increase from 21 to 24 months when it reaches a plateau; the polynomial curve of the data show a progressive increase from 10 to 27 months (figure 5). The general equation for the model was:

$$SC = 20,892 + 0,563 \times \text{Age (in months)}; R^2 = 0,672; p < 0.01 \text{ (Figure 2C).}$$

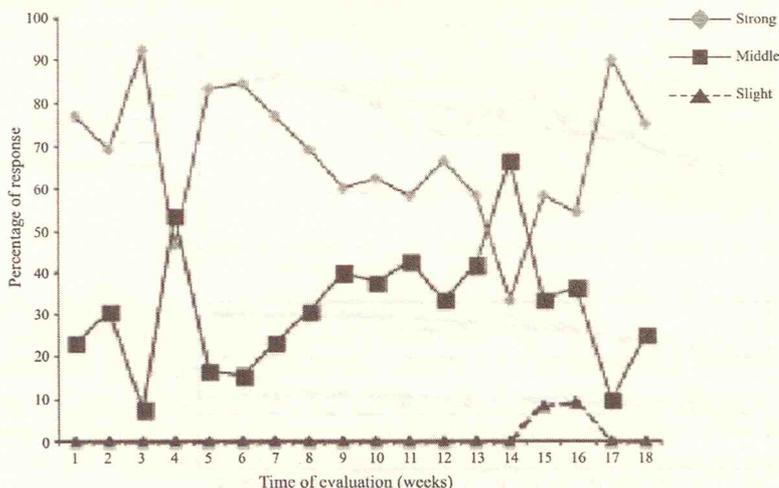
2. Libido testing and service capacity

Since the first time when BON young males were exposed to restrained PGF₂-induced estrous cows, all males exhibited a very good score (more than seven mating attempts/5 minutes), and this behavior remained throughout the study. Slight variations were observed when males were evaluated under high environmental temperatures, the presence of foreign personnel, mating competition, or due to variation in the intensity of estrous signs exhibited by the restrained cow.

3. Seminal Vesicle Reflex (SVR)

Most of the males show SVR with predominating strong (66.8%) and middle (32.3%) responses through the period of evaluation (Figure 6). In addition, response to massage of seminal vesicle by rectal palpation was evaluated in terms of pre-seminal fluid secretion, penis protrusion or complete erection, and all these signs proportionally increase ($p < 0,01$) with age (Table 4).

Figure 6. Follow-up of responses to Seminal Vesicle Reflex by rectal palpation in young males from the University of Antioquia BON herd.^a



^aData are presented as the average response from all young males at each weekly point of evaluation.

Table 4. Individual responses to seminal vesicle palpation of young males from University of Antioquia BON herd, throughout puberty onset.*

Male identification ^a	n	No response (%)	Preseminal fluid (%)	Protrusion of penis (%)	Complete erection (%)	Combined response ^b (%)
23-7	11	81,8	-	-	18,2	-
21-7	11	63,6	-	18,2	18,2	-
17-7	19	63,1	21	-	26,3	10,5
15-7	19	57,8	31,6	-	21	10,5
11-7	19	26,3	57,7	5,26	57,7	47,3
5-7	11	27,3	9,1	9,1	63,6	9,1
1-7	18	72,2	11,1	5,6	16,7	5,6
37-6	18	66,6	22,2	11,1	11,1	11,1
29-6	18	72,15	11,1	-	16,6	-
27-6	18	33,3	11,1	11,1	55,5	11,1
25-6	19	26,3	-	15,8	57,76	-
23-6	19	10,5	21	10,5	68,4	10,5
21-6	11	27,3	9,1	-	72,7	9,1
17-6	10	20	-	10	70	-
11-6	11	18,2	27,3	9,1	72,7	27,3

*Intensity of responses from left (No response) to right (Combined responses), proportionally increased with age ($R^2 = 0,539$; $p < 0,01$).

^aMales are ordered chronologically from youngest (Born in 1997) to older (Born in 1996) at the beginning of evaluations.

^bAll combined responses indicate pre-seminal fluid plus complete erection.

4 Semen analysis

The youngest age at which semen was successfully collected by artificial vagina in this work was at 16,1 months of age in male 11-7, with a volume of 3,2 ml, pH 6, having $1,63 \times 10^8$ sperm/cc. Most of the males produced semen having a white (50%) or yellowish color (47,6%) with a predominating aqueous (95,2%) aspect. Neither volume of semen nor pH (which remained near to 6,8 for all groups of age) significantly differed between groups of age. Similarly, semen concentration did not significantly differ between groups (Table 5). Finally, more than 60% of samples showed “very good” mass and individual progressive motility, whereas only few samples showed a lower grade of classification for this trait (Table 5). No significant relationships were found neither between age and volume ($Y = 1,68 + 0,88 \times \text{age}$ (in months); $R^2 = 0,027$; $p > 0,05$), nor between age and pH ($Y = 6,778 + 0,04 \times \text{age}$ (in months); $R^2 = 0,001$; $p > 0,05$) or age and concentration ($Y = 184,568 - 2,944 \times \text{age}$ (in months); $R^2 = 0,58$; $p > 0,05$).

Table 5. Semen analysis of samples yielded by young males from the University of Antioquia BON herd, after puberty onset.

Group of age		Volume ^a		Concentration ^a		Individual and gross motility		
(months)	n	(ml)	pH ^a	(10 ⁶ /cc)	VG (%)	G (%)	P (%)	
16,1-21	10	3,0 ± 0,3	6,88 ± 0,1	126 ± 9	60	30	10	
21,1-24	8	3,9 ± 0,6	6,87 ± 0,1	125 ± 11	62,5	37,5	0	
24,1-27	21	3,8 ± 0,3	6,85 ± 0,07	111 ± 8	62	33,3	4,7	

^aLeast square means ± standard error

n = number of data for each group of age

VG: very good

G: good

P: poor

Discussion

BON cattle is a genetic resource enlisted as endangered (15) regardless of several efforts for maintaining a breeding herd, made up by governmental organisms such as University of Antioquia and Corpoica. The conservation and propagation of BON cattle is a priority program in both of these institutions, regarding its biological value as a domestic animal genetic resource (15, 27, 28). BON exhibits a natural resistance (in way of characterization) against several of the common bacterial and parasitic pathogens of bovine, which qualify it as a priority candidate for genetic resistance studies. As part of several efforts focused on the study of BON cattle reproductive biology (15, 28, 30, 32), a collaborative study was started in 1997 between our group at University of Antioquia and Corpoica at C.I. El Nus, Antioquia, Colombia, in order to study and characterize puberty onset in young males of the Corpoica (13) and University of Antioquia BON herds.

Slight variations could be observed between several nuclei of BON cattle, regarding average weight and size, climate and bred and feeding schedules (3, 27), which prevents extrapolation of data from a single study. The herd from University of Antioquia was bred in a humid subtropical forest (1), with a predominant plain soil (1400 m.o.s.l.); on the contrary, the herd from Corpoica was bred in a transition zone between humid tropical forest and very humid-tropical forest (800 to 1200 m.o.s.l.), with a predominant mountainous soil (13). Because of these differences and the imminent sale in 1998 of “El Progreso Farm”, in which the BON herd of University of Antioquia was bred for

several decades, the present work was designed to evaluate the onset and establishment of puberty in young males of this herd. The limited possibility to study young males for a long period (Weekly, 5 months), represents the major difference with our contemporary study carried out with the BON herd from Corpoica (Every-two weeks, 12 months) (13), regardless 19 and 24 time points of data collection, respectively, were included in the analysis. Because of the wide range of age between the youngest and the older male at each time point of evaluation found in both studies, which disables its analysis as repetitive measures, data obtained at each date were independently included and categorized into its respective group of age (For the present study see scatter plots from simple regression analysis in figures 1 and 2). Three key parameters are reported to define puberty onset in male bovine cattle: Body weight (BW), Scrotal circumference (SC), and semen concentration, with the last one being considered the most important (6-9, 11, 12). Most breeds show high correlation coefficients between these traits and age, reflecting the close relationship between precocity and the onset of puberty (12, 14). In addition, quantification of circulating LH and Testosterone (T) complements the battery of procedures for this purpose (10, 16-18, 25). Recently, important advances have been achieved in comprehending the mechanisms responsible for puberty onset in cattle, mainly in heifers (20, 23, 36). Increased frequency and amplitude of pulsate hypothalamic Gonadotropin-Releasing hormone (GnRH), appears to be the common mechanism for males and females (26). However, little is known about the precise mechanisms which associate BW and precocity with puberty onset (14, 18). Recent studies have correlated protein and energy levels in diet which modify the pattern of pulsate GnRH and affect puberty onset (5, 29, 36). Although these type of analysis were not made in our study, they could be considered for further studies in young males of BON cattle.

In order to optimize the detection of minimal variation in physical, testicular, behavioral and seminal traits, which could suggest puberty onset-related responses, we followed the method of the Breeding Soundness Examination (BSE) proposed for mature bulls (9, 31, 35) and nowadays applied to young males (11, 33), in order to achieve a more integral approach to puberty onset. In the present study we shall refer to puberty onset and establishment as the time of initiation of and transition to puberty and sexual maturity, respectively (8, 16, 21, 22).

Body traits

Body weight and SC showed the higher correlation coefficient with age, in agreement with reports for both *B. taurus* (6-8) and *B. indicus* (11, 33) cattle. Individual values for the period of study ranged between 232,5 and 448 kg for the youngest (male 23-7, 9,9 months of age) and the eldest (male 11-6, 28,1 months of age) males of the group

(Table 1). Similar results were observed if the analysis was made by group of ages, when the youngest (10 to 11) and eldest (26 to 27 months), groups of age weighted 251 ± 7 and 433 ± 5 kg, respectively. Values found for the same groups of age in a contemporary study evaluating the BON herd of Corpoica, were lower than those here reported (13), clearly reflecting differences between both herds for its average size and weight, possibly as a result of different nutritional plans and climate variations (1, 34), as reported elsewhere (11). However, a high correlation between BW and age was found in both studies, which means that the faster period of growth elapsed between puberty onset and establishment was comprised, as found for other *B. indicus* and *B. taurus* cattle (11, 14).

Body length was included in the study with the aim of contributing to define reference values for BON cattle. Although this is a parameter not usually included for evaluating puberty onset, our results showed a mild correlation with age between both BL and HW (Figure 1B and 1C). Unfortunately, no reports could be found in the literature on the relationship of BL, and HW with puberty onset. One phenotypic characteristic of BON cattle is its relative low size, as corroborated in this study, in which only a difference of 12 cm were found for WH in a range of 14 months of age (Table 2). Neither BL nor WH were measured in the study with BON herd of Corpoica (13). However, it is important to clarify that BL is currently measured from withers to the major femoral trochanter, but in our study it was measured from withers to the first *coccigeum vertebrae*.

Reduction in growth rates observed for BW between 12 and 13, and 17 to 18 months (Figure 3), as well as for WH between 18 to 19 and 18 to 19 months (Figure 4) could not be explained, but they could be related to physiological adaptations of males to puberty onset and transition to sexual maturity (35). Even though it is possible to consider that the low number of observation for each group could interfere with significance of the data, the relatively low standard error (Table 2) suggest that this variations were indeed a physiological response of the males. In addition, the BL:WH ratio ranged between 1,0 and 1,1, reflecting a similar growth rate for these traits for the period of study (Data not shown).

Testicular traits

Values for SC have been reported to be 28 cm at the onset of puberty for most *B. taurus* cattle, which was found at 13 to 14 months of age for this BON herd (Table 3). These values are slightly similar to those found in the study with the BON herd of Corpoica, in which males had 28 cm of SC at 15 months (13). These results are in agreement with those reported for other tropically-adapted *B. taurus* breeds (11, 35).

In the present study, SC had the higher correlation with age, though TL and TD, had a mild correlation (Figure 2). Interestingly, the TL:TD ratio remain near to 2,0 and the SC:TL ratio range between 2,7 and 2,5 throughout the range of age evaluated (Data not shown). Growth of testis in terms of outer (stromal) and inner (germinal) cells in seminiferous tubes, appears to be the one of the main changes associated with puberty onset, in response to increasing concentration of gonodotropic (LH, FSH) and steroids (Testosterone and its metabolites) hormones, acting on Sertoli, Leydig and stromal cells (18, 25, 35). In the present study, TL and TD reached a plateau at the eldest groups of age, whereas SC remains growing (See polynomial transformation of data in figure 5). It seemed that other factor or another trait (for example left testis size, or testis volume) which was not included in the present study, could explain the different growth rates found between TD, TL and SC. In addition, the differences in correlation coefficients found for these testicular traits could be explained because measurement of SC included both testis, but only the right testis was measured for TD and TL. In a report by Gabor et al, correlations were made between these traits in mature Senepol (*B. taurus*) bulls, which showed a linear relationship between SC and testicular weight, TD and TL, but a curvilinear relationship between SC and BW (19).

Seminal Vesicle Reflex and Libido testing

Because the reproductive function in bulls is related in part to sexual desire and mating ability, we thought to profit the evaluation of SVR and LibT, a common practice in the BSE of mature bulls, in order to achieve a more comprehensive approach on the effect of this component to define puberty onset in young BON males. In addition, breeders (particularly in our BON herd) well known about the intense sexual desire of young BON males, some times since calves. In fact, the predominant percentage of strong responses for SVR found in the study could reflect and confirm the early (maybe subclinical) onset of puberty in this BON herd. Physiological concentrations of testosterone are responsible to induce both behavioral and physical changes (4, 25), necessities for exhibiting Libido, secreting pre-seminal fluid, protrusion of penis and complete erection. It is noteworthy that BON males exhibited very good Libido scores at all: the first time point when young males were evaluated, all of them exhibited more than five service attempts/5 minutes (which overpass the maximum classification proposed by Barth (6), although slight variations were observed by the presence of the dominant male in each group of exposition as demonstrated in other study (24). Furthermore, the responses of SVR correlates with the responses in terms of production of pre-seminal fluid, penis protrusion and complete erection, which increased with age. These results confirm the common observation of sexual precocity in BON males and suggest a “behavioral” beginning of puberty at an early time before the males reach the reference value for puberty onset defined by semen concentration (5×10^7

sperm/cc with at least 10% of progressive motility). However, it is possible that prepubertal brain-derived rather than gonadal-derived testosterone or its metabolites (4, 22, 25) could be responsible for this particular behavior in BON cattle. Further studies should rule out this possibility. Interestingly, this kind of evaluation are not commonly reported because palpation of seminal vesicle is mainly focused in detecting abnormalities in mature bulls rather than studying physiological responses. Moreover, we propose an additional tool to evaluate seminal vesicle and its correlation with reproductive potential.

Semen analysis

The onset of puberty is defined as the time when the first ejaculate have 5×10^7 sperm/cc and 10% progressive motility (6, 9). However, at the age of first successful semen collection (16,1 months), the ejaculate had $1,63 \times 10^8$ sperm/cc (Table 5), which prevents the use of this parameter to define puberty onset. In this study young males were not previously trained for semen collection with artificial vagina, and the real age when males had 5×10^7 sperm/cc was surpassed. Besides other characteristics of semen analysis such as gross and individual progressive motility, showed good scores (more than 60%) for all samples evaluated, suggesting that puberty onset had occurred several weeks ago, before the youngest age at first collection. According to Coulter, 60% of progressive motility can be found approximately 8 weeks after puberty onset (14), which corresponded to 14 months in our study.

Persistent frenulums (7, 12), interferes with the disposition of young males to ejaculate when artificial vagina is used, instead of producing low quantities of semen and secreting accessory gland fluids early during puberty onset. Bruner et al (7) found an incidence rate of persistent frenulums of 4.4% in yearling bulls. Unfortunately, we did not evaluate its incidence in our study. In our contemporary study (13) it was common to observe young males having high scores for LibT, but not capable of ejaculate as a consequence of the penis remaining adhered to the sheath. For instance, this finding must be an obligatory trait to evaluated in further studies, particularly in BON cattle regarding its apparently early “behavioral” onset of puberty.

The yellowish color and aqueous aspect found in most of semen sample collected, resembled the low concentration of semen typically yielded at puberty onset (14). However, a controversy between semen concentration (relatively low) and scores for gross and individual progressive motility (good and very good) could be argued, but these results were consistently reported by trained technicians.

Measurement of circulating levels of Testosterone (T) or LH would help to define the precise onset of puberty in our BON males as recommended by Chenoweth (10).

However, because of the low correlation coefficient found between testosterone and puberty onset in the contemporary study with the BON herd of Corpoica (13), we did not measure testosterone concentrations. In addition, it is clear that GnRH and LH frequency pulses, rather than testosterone concentrations, closely predicts the onset of puberty. Accordingly, LH and T measurements and the use of electroejaculator and testicular ultrasonographic and thermographic studies (19), will allow a more precise definition of puberty onset in BON cattle.

Future implications

This study and the study by Cordoba et al (13) represent the first approaches to define puberty onset in young males from BON cattle in Colombia. Instead of slight differences found in both studies, the overall results suggest the onset of puberty between 13-14 months in this breed. However, further studies should include measurements of LH and T between 10 and 14 months, in order to more precisely define puberty onset and to study other physiological-related processes such as contribution of brain- and gonadal-derived steroids to high libido exhibited by pre and per-pubertal BON males. These results suggest that BSE rather than merely semen concentration must be considered in order to define puberty onset in bovine cattle.

Resumen

Medidas corporales y testiculares, prueba de libido y análisis de semen en machos jóvenes blanco oreginegro (Bos taurus) de la Universidad de Antioquia, al comienzo de la pubertad.

Quince toretes (de diferentes edades) del hato BON de la Universidad de Antioquia fueron evaluados cada semana, desde agosto hasta diciembre de 1998 (incluyendo un rango de edad de 9,9 a 28,1 meses, en 19 fechas de medición), para evaluar: 1) Medidas corporales y testiculares; 2) Prueba de la libido (LibT); 3) Reflejo a la palpación de las vesículas seminales (SVR, n = 244) por masaje rectal; y 4) Análisis de muestras de semen (n = 42) obtenidas mediante vagina artificial. Los datos de medidas corporales y testiculares fueron categorizados en grupos de un mes (desde 10 hasta 27 meses; n = 17 grupos); y para el análisis del semen se categorizaron en tres grupos (16,1 a 21, 21,1 a 24, y 24,1 a 27 meses). Pruebas de regresión simple se hicieron incluyendo cada parámetro como variable dependiente y la edad como variable independiente. La prueba de ANOVA Multifactorial se utilizó para definir diferencias y valores de referencia para cada parámetro. Las medidas corporales y testiculares aumentaron proporcionalmente con la edad ($p < 0,01$): el peso corporal

($R^2 = 0,796$) y la circunferencia escrotal ($R^2 = 0,672$) mostraron la más alta correlación con la edad, mientras que mostraron una mediana correlación la longitud corporal ($R^2 = 0,454$), la alzada ($R^2 = 0,506$), el diametro del testículo ($R^2 = 0,415$), y la longitud del testículo ($R^2 = 0,458$). En la LibT, la mayoría de los toretes mostraron más de cinco intentos de monta/5 minutos. La intensidad de la respuesta individual al masaje rectal (secreción de líquido preseminal, protrusión del pene y erección completa), aumentó proporcionalmente con la edad ($R^2 = 0,539$; $p < 0,01$). El primer eyaculado se recolectó a la edad de 16,1 meses ($1,63 \times 10^8$ espermatozoides/cc, con mas de 60% de movilidad progresiva en masa e individual); sin embargo, no se halló correlación entre el volumen (3,6 ml), el pH (6,86), o la concentración del semen, con la edad. Los resultados sugieren un inicio de la pubertad entre 13 y 14 meses de edad para el grupo de toretes de este ható. Además, se informan los valores de referencia para cada medida corporal y testicular, en el rango de edad evaluado.

Palabras clave: Bovinos, Ganado criollo, Pubertad, Semen, Toretos, Trópico.

Acknowledgments. This study was partially financed by Universidad de Antioquia (Estampilla pro-Universidad de Antioquia, proyecto CRICA, fases I y II), and “Departamento de Haciendas” at the Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Special thanks to José Daniel Monsalve and Jorge Ochoa for administrative permissions. We also thank Fanny Peña Jaimes and Alexandra Gaviria Jiménez for technical assistance with semen analysis. Finally, we thanks animal keepers at “El Progreso” Farm.

References

1. Anuario Estadístico de Antioquia, 1996. República de Colombia, Gobernación de Antioquia, Departamento Administrativo de Informática y Estadística.
2. Arboleda O, Gutiérrez ID. El ganado blanco orejinegro BON. Rev Col Cienc Pec 1996 (Suppl); 80-83.
3. Arboleda O. El ganado blanco orejinegro. Suplemento Ganadero 1980; 1:5-41.
4. Aspden WJ, Rodgers RJ, Stocco DM, Scott PT, Wreford NG, Trigg TE, Walsh J, D’Occhio MJ. Changes in Testicular Steroidogenic Acute Regulatory (STAR) protein, steroidogenic enzymes and testicular morphology associated with increased testosterone secretion in bulls receiving the luteinizing hormone releasing hormone agonist deslorelin. Domestic Anim Endocrinol 1998; 15:227-238.
5. Azage Tegegne, Entwistle KW, Mukasa-Mugerwa E. Gonadal and extragonadal sperm reserves and testicular histometric characteristics in Zebu and crossbred bulls: effect of dry season nutritional supplementation. Anim Reprod Sci 1992; 29:25-33.
6. Barth AD. Evaluation of potential breeding soundness of the Bull. In: Youngquist RS (Ed). Current therapy in large animal theriogenology. Saunders, Philadelphia; 1997. p221-236.

7. Bruner KA, McCraw RL, Whitacre MD, Van Camp SD. Breeding soundness examination of 1,952 yearling beef bulls in North Carolina. *Theriogenology* 1995; 44:129-145.
8. Chase Jr CC, Chenoweth PJ, Larsen RE, Olson TA, Hammond AC, Menchaca MA, Randel RD. Growth and reproductive development from weaning through 20 months of age among breeds of bulls in subtropical Florida. *Theriogenology* 1997; 47:723-745.
9. Chenoweth PJ, Ball L. Breeding Soundness Evaluation in Bulls. In: Morrow DA (Ed). *Current therapy in theriogenology*. Saunders, Philadelphia; 1989. 136-146.
10. Chenoweth PJ, Brinkks JS, Nett M. Comparison of three methods to assessing sex drive in yearling beef bulls and relationship with testosterone and LH levels. *Theriogenology* 1979; 12: 223-224.
11. Chenoweth PJ, Chase Jr JJ, Thatcher M-JD, Wilcox CJ, Larsen RE. Breed and other effects on reproductive traits and breeding soundness categorization in young beef bulls in Florida. *Theriogenology* 1996; 46:1159-1170.
12. Chenoweth PJ. Clinical reproductive anatomy and physiology of the bull. In: Youngquist RS (Ed). *Current therapy in large animal theriogenology*. Saunders, Philadelphia; 1997. p217-222.
13. Cordoba SL, Maldonado JG, Trujillo LE, Tobon JA, Neira JA. Determinación de la edad y peso al inicio de la pubertad en machos de la raza criolla colombiana Blanco Orejinegro, BON (Submitted: Rev Corpoica).
14. Coulter GH. Puberty and postpuberal development of beef bulls. In: Youngquist RS. *Current therapy in large animal theriogenology*. Saunders, Philadelphia; 1997. p142-148.
15. Deer JN, Davis SK, Estrada JL, et al. Genetic characterization and conservation of colombian criollo cattle. In: Crawford RD, Lister EE, Buckley JT (Eds). *Proceedings of the third global conference on conservation of domestic animal genetic resources*. Rare Breeds International; Queens University, Kingston, 1995; p307-313.
16. Evans ACO, Davies FJ, Nasser JF, Bowman P, Rawlings NC. Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls, and changes in semen characteristics at puberty. *Theriogenology* 1995; 43:569-578.
17. Evans ACO, Pierson RA, Garcia A, McDougall LM, Hrudka F, Rawlings NC. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. *Theriogenology* 1996; 46:345-357.
18. Forest M, Levasseur MC. La puberté. Chapter 28. In: Thibault C, Levasseur MC (Eds). *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. INRA-Ellipses, Joy-en-Josas, 1991; p551-571.
19. Gabor G, Sasser RG, Kastelic JP, Coulter GH, Falkay Gy, Mézes M, Bozó S, Völgyi-Csík J, Bárány I, Szász Jr. F. Morphologic, endocrine and thermographic measurements of testicles in comparison with semen characteristics in mature Holstein—Friesian breeding bulls. *Anim Reprod Sci* 1998; 51:215-224.
20. Gaillard RC, Spinedi E. Sex- and stress-steroids interactions and the immune system: evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism. *Domestic Anim Endocrinol* 1998; 15:345-352.
21. Garner DL, Johnson LA, Allen CH, Palencia DD, Chambers CS. Comparison of seminal quality in Holstein bulls as yearlings and as mature sires. *Theriogenology* 1996; 45:923-934.

22. Jiménez-Severiano H, Jiménez-Krassel F, Menéndez-Trejo M. Endocrine and testicular responses of prepubertal Zebu crossbred bulls to active immunization against testosterone. *Anim Reprod Sci* 1996; 41:169-181.
23. Knickerbocker JJ, Drost M, Thatcher WW. Endocrine patterns during the initiation of puberty, the estrous cycle, pregnancy and parturition in cattle. In: Morrow DA. *Current Therapy in Theriogenology*. Saunders, Philadelphia; 1986. p117-121.
24. López H, Orihuela A, Silva E. Effect of a dominant bull on performance of two age group bulls in libido tests. *Anim Reprod Sci* 1999; 65:13-20
25. Mainwaring WIP, Haining SA, Haerper B. The function of testosterone and its metabolites. In: Cooke BA, King RBJ, van der Molen HJ (Eds). *Hormones and its actions. Part 1*. Elsevier, New York; 1988. p169-196.
26. McCann SM, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, Rettori V, Yu WH. Hypothalamic control of gonadotropin secretion by LHRH, FSHRF, NO, cytokines, and leptin. *Domestic Anim Endocrinol* 1998; 15:333-344.
27. Moreno F, Ruíz-Linares A. El concepto de genética de poblaciones y el proyecto genoma bovino. *Rev Col Cienc Pec* 1996 (Suppl); 77-80.
28. Ossa JE. Caracterización genética y conservación del ganado criollo colombiano. *Rev Col Cienc Pec* 1996 (Suppl); 85.
29. Rocha A, Carpena M, Triplett B, Neuendorff RA, Forrest DW, Randel RD. Testicular and epididymal function during the peripubertal period in Brahman bulls receiving various amounts of protein degradable in the rumen. *Theriogenology* 1996; 45:477-488.
30. Rodríguez L, Valencia L, Ruíz ZT, Andrade JC, Ochoa J, Vélez MP, Maldonado JG. Respuesta superovulatoria de vacas criollas colombianas blanco orejinegro (BON) al tratamiento con FSH o PMSG: informe de tres casos. *Rev Col Cienc Pec* 1998; 11:37-44.
31. Schramm RD, Osborne PI, Thaaayne WV, Wagner WR, Inskeep EK. Phenotypic relationship of scrotal circumference to frame size and body weight in performance-tested bulls. *Theriogenology* 1989; 31:495-504.
32. Sierra RA, Berdugo JA, Cuartas JF, Aguirre VA, Olivera-Ángel M. Caracterización espermática del ganado Blanco orejinegro (BON) y cebú brahman para la producción de embriones bovinos in vitro (IVP): proyecto de investigación. *Rev Col Cienc Pec* 1998; 11:50-52.
33. Silva-Mena C. Peripubertal traits of Brahman Bulls in Yucatan. *Theriogenology* 1999; 48:675-685.
34. Tobón CJ, Franco CE, Mejía A. Evaluación de caracteres de crecimiento y reproductivos de la raza blanco orejinegro BON. Cebú, y sus cruces en zona de ladera. *Rev Col Cienc Pec* 1996 (Suppl); 84-85.
35. Wildeus S. Age-related changes in scrotal circumference, testis size and sperm reserves in bulls of the tropically adapted Senepol breed. *Anim Reprod Sci* 1993; 32:185-195.
36. Yelich JV, Wettemann RP, Marston TT, Spicer LJ. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domestic Anim Endocrinol* 1996; 13:325-338.