

Mejoramiento de la reproducción bovina: leche, carne y calidad seminal

Derling Pichardo*
 Carlos Jiménez**
 Jorge Elizondo***
 Jaime Galindo****
 Laura Murillo*****
 Anthony Valverde*****

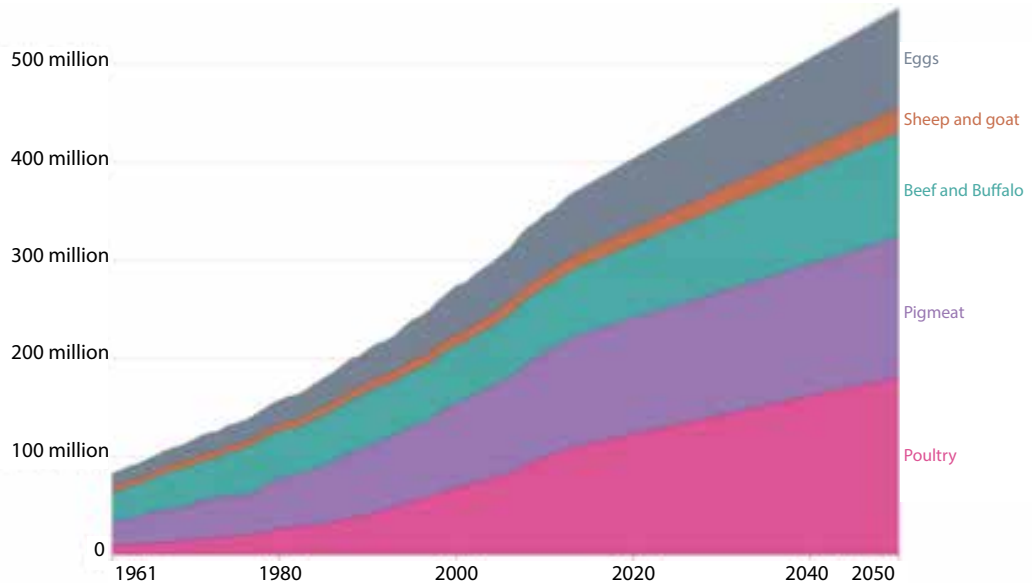


Figura 1. Proyecciones globales de la producción de carne hasta el 2050. Fuente: UN FAO *In Alexandratos y Bruinsma (2012)*. Disponible en <https://ourworldindata.org/grapher/global-meat-projections-to-2050>

Palabras claves:

Bovino, CASA-Mot, reproducción, semen, virus.

Introducción

La eficiencia reproductiva tiene un impacto importante en la rentabilidad de la industria ganadera. Un porcentaje significativo de insuficiencia reproductiva es atribuible a la subfertilidad del toro (Butler et al., 2020). La reproducción es un rasgo muy complejo que involucra la concepción, la cual está influenciada mayormente por factores ambientales, el estado nutricional y de salud del animal (Montoya-Monsalve et al., 2021). La tasa de concepción depende de los rasgos de fertilidad de la vaca y del toro, y sobre este último un aspecto fundamental es el análisis de la calidad del esperma (Butler et al., 2020). En sistemas extensivos para la cría de bovino de carne, las evaluaciones de fertilidad respaldan apenas un 20% de los toros aptos para la monta (Montoya-Monsalve et al., 2021). En consecuencia, la disponibilidad tan baja de toros con fertilidad aceptable es un problema, más aún cuando al número de toros infértiles o sub fértiles se suman toros que han perdido la condición de fértiles por enfermedades infecciosas durante su vida productiva.

Dentro de los agentes infecciosos más importantes asociados con problemas reproductivos están el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), herpesvirus bovino 1 (HV-B-1), *Trichostrongylus axei*, *Neospora* y *Campylobacter*, entre otros agentes endémicos como el virus de la leucosis bovina enzoótica (VLBE), *Leptospira* y *Brucella abortus* que se asocian con la inocuidad y calidad del semen (Givens, 2018; Gard, 2020; Kuczewski et al., 2021). El semen empleado en inseminación artificial (IA) y producción de embriones puede contaminarse con numerosos microorganismos; para evitarlo deben aplicarse protocolos de bioseguridad en donantes, incluidas las pruebas de detección de enfermedades para evitar la transmisión de agentes patógenos por el uso de semen contaminado en los programas de IA (Givens, 2018; MPI, 2018; Gard, 2020).

A nivel mundial, las vacas producen el 83% de la leche (FAO, 2022a) y se ha mantenido al alza desde el año 2016 (FAO, 2018). El consumo de leche per cápita por año en países en desarrollo se ha casi duplicado y en Costa Rica es alto (mayor de 150 kg/cápita/año) (FAO, 2022b). Asimismo, el consumo de carne de vacuno representa un 22% y se prevé que la producción mundial de carne se duplique para el año 2050 y la mayor parte del crecimiento se concentrará en los

países en vías de desarrollo (FAO, 2019) (Figura 1).

El creciente mercado de la carne representa una oportunidad para los productores pecuarios y los procesadores de carne de estos países. Al igual que la reproducción, los factores que ejercen mayor influencia sobre la calidad de la carne son la alimentación, la edad, la genética y el estado de salud de los animales. La producción y calidad de la carne se pueden mejorar mediante programas de mejoramiento genético, lo que también permite obtener combinaciones de las principales características asociadas con la calidad de la carne, por ejemplo, jugosidad y terneza (Rodríguez-González et al., 2018) desde distintas razas mediante cruzamiento (Ramírez-Barboza et al., 2016); asimismo, para la producción de leche (por ejemplo, la alergia a la proteína de la leche de vaca puede controlarse mediante la selección de haplotipos asociados con la expresión de beta-caseína A2).

Como resultado, se pueden obtener nuevas razas con mejor calidad de la carne y composición de la leche, mejores rendimientos en canal y adaptadas para resistir las enfermedades, lo que además representaría una contribución significativa a la disponibilidad de carne y leche mejorada

para satisfacer la nutrición humana (He et al., 2017; FAO, 2019). En este sentido, la IA es una herramienta biotecnológica muy importante que permite mejorar la calidad de la carne y la leche producida por el ganado bovino (Valverde et al., 2020), al favorecer la expresión de los fenotipos deseados por los consumidores en los subproductos cárnicos y lácteos mediante el mejoramiento genético durante la reproducción, lo que permite además acelerar la adaptabilidad al cambio climático y reducir el impacto ambiental de la ganadería al criar animales más eficientes (Naskar et al., 2012; Singh et al., 2014; Garner et al., 2017; Doyle et al., 2019; Zhang et al., 2020). Por ello, conocer la fertilidad del toro por medio del análisis de la calidad del esperma es una necesidad elemental en los programas de mejoramiento genético.

Investigación

El Laboratorio de Reproducción Animal (LRA) está adscrito al Centro de Investigación y Desarrollo de la Agricultura Sostenible para el Trópico Húmedo (CIDASTH) de la Escuela de Agronomía del Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC). Las investigaciones en el LRA se han desarrollado desde el 2013; de forma predominante en la Región Huetar Norte se inició con el apoyo del proyecto “Desarrollo de la metodología de análisis integrado de semen en ganado *Bos indicus*” y ha ejecutado investigaciones en vinculación con la Corporación Ganadera (CORFOGA); el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Telecomunicaciones (MICITT); el Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT); la Fundación para el Fomento y Promoción de la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria de Costa Rica (FITTACORI); la Universidad de Costa Rica; y la Universidad Nacional, así como productores de ganado bovino.

Resultados

En la reproducción existe el efecto de la hembra sobre la tasa de preñez, pero la calidad del semen del toro determina en buena medida el éxito del programa de reproducción. Aunque la movilidad no determina el potencial de fertilidad de un eyaculado, se acepta que los toros con

valores para la motilidad progresiva iguales o superiores al 50%, morfología normal igual o superior al 70%, deberían estar por encima del promedio de fertilidad calculado para los reproductores. Estos toros muestran las mejores tasas de no retorno (retorno al celo de la vaca después de la monta natural o inseminación artificial) debido a que es muy poco probable que los espermatozoides alterados, con movimiento insuficiente o no favorable puedan colonizar y movilizarse con éxito a través del oviducto y fecundar el óvulo (ABBA, 2015; Moroto-Hernández, 2020; Víquez et al., 2021).

Es importante recalcar, que la valoración de un semental debería incluir la mayor cantidad de variables porque los valores más altos para la morfología normal, motilidad progresiva y viabilidad están asociados de forma positiva y significativa con una tasa de no retorno superior al promedio de fertilidad en el grupo de toros y que valores inferiores a los parámetros seminales esperados como satisfactorios para un eyaculado pueden ser reflejo de la variabilidad natural y no indican que el toro sea un mal semental. No obstante, sugieren que el toro con valores inferiores no debería usarse para la monta natural o como donante de semen en los programas de IA en ese momento (Kumar-Rabidas et al., 2012; ABBA, 2015).

Desde el 2020 se han realizado diferentes estudios sobre la calidad seminal de semen fresco y congelado empleando un sistema

comercial de análisis de esperma asistido por computadora (CASA, *Computer-Assisted Semen Analysis*), el cual permite determinar con mayor precisión y objetividad los valores de concentración, movilidad y cinética de los espermatozoides para evaluar la calidad del esperma y poder predecir la fertilidad del toro de forma consistente y estandarizada al eliminar el componente subjetivo del técnico del laboratorio para asignar valores a los parámetros seminales por apreciación visual (Nagata et al., 2019; Valverde et al., 2019; Víquez et al., 2020).

La valoración de la movilidad y cinética espermática se conoce como CASA-Mot (Soler et al., 2016 y 2017; Bompant et al., 2018) CASA-Mot technology has been used for kinematic analysis of sperm motility in different mammalian species, but insufficient attention has been paid to the technical limitations of commercial computer-aided sperm analysis (CASA, el cual permite evaluar parámetros andrológicos especializados como la velocidad curvilínea de los espermatozoides (VCL) en micras/segundo, la velocidad lineal (VSL) en micras/segundo, la velocidad media (VAP) en micras/segundo, el índice de linealidad (LIN) en porcentaje, el índice de rectitud espermático (SRT) en porcentaje, la oscilación espermática (WOB) en porcentaje, la amplitud lateral de las cabezas espermáticas (ALH) en micras y la frecuencia de batido de cola espermática en Hz, tal y como se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características evaluadas en sistema computarizado para análisis seminal (CASA-Mot).

Sigla de característica	Nombre completo
VCL ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidad curvilínea
VAP ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidad promedio
VSL ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidad lineal o rectilínea
VAP ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidad promedio
LIN (%)	$\text{VSL}/\text{VCL}\cdot 100$
STR (%)	$\text{VSL}/\text{VAP}\cdot 100$
WOB (%)	$\text{VAP}/\text{VCL}\cdot 100$
ALH (μm)	Desplazamiento lateral de la cabeza
BCF (Hz)	Frecuencia de entrecruzamiento

Los estudios han permitido identificar diferentes subpoblaciones espermáticas con base en la evaluación de la velocidad, la progresividad y la ondulación de cada espermatozoide durante la valoración de una muestra de esperma empleando el sistema CASA-Mot (Valverde et al., 2016); y confirmar que la temperatura de dilución, el tiempo de análisis y la cámara de recuento condicionan las variables cinéticas del eyaculado. Además, el patrón de las subpoblaciones espermáticas en el eyaculado se afecta por el tipo de diluyente utilizado (Viquez et al., 2020 y 2021). Los diluyentes son soluciones que permiten conservar la viabilidad del esperma durante el proceso de congelación debido a que son compuestos isotónicos, con sustancias antioxidantes, con capacidad para amortiguar los cambios de pH, proveer nutrientes a los espermatozoides y controlar el crecimiento bacteriano (Moroto-Hernández, 2020). A diferencia de Viquez et al. (2020), Moroto-Hernández (2020) determinó que el Triladyl[®] es el diluyente más adecuado para conservar la motilidad

del semen fresco desde 0 hasta 24 horas por encima de 65% cuando la temperatura ambiental osciló entre 24 y 31°C.

Los patrones de subpoblaciones identificados fueron similares en *Bos taurus* (ganado europeo) y *Bos indicus* (ganado cebú). De los diluyentes evaluados, solo el Triladyl[®] presentó diferencias relevantes en los patrones cinemáticos cuando se comparó con Tris-EY y OptiXcell[®] (Viquez et al., 2020). No se conoce si las subpoblaciones determinadas en el eyaculado conservan el mismo patrón en el oviducto de la hembra, por lo que es necesario reevaluar la relevancia biológica de las subpoblaciones de espermatozoides y su implicancia con la fertilidad del macho. Por su parte, Viquez et al. (2020) determinaron valores promedios de la motilidad progresiva (%) (media ± error estándar) para muestras criopreservadas con diferentes diluyentes de 36,33 ± 6,81 para OptiXcell[®], 40,83 ± 2,44 para Triladyl[®] y 37,75 ± 4,39 para Tris-EY; mientras, la motilidad progresiva (%) para los toros *Bos taurus* y *Bos indicus* fue de 41,92

± 2,09 y 32,75 ± 5,56, respectivamente. No obstante, se aprecia que las subpoblaciones no superan el 50% de motilidad progresiva (Figura 2).

Las infecciones virales representan una de las causas más importantes que deterioran los rendimientos productivos y reproductivos del ganado bovino a nivel mundial. El virus de la leucosis bovina enzoótica (VLBE), herpesvirus bovino 1 (HVB-1) y virus de la diarrea viral bovina (VDVB) son agentes infecciosos muy importantes en la industria ganadera y causan efectos adversos sobre el estado de salud del animal, además estos virus han sido asociados con deterioro de la calidad del semen. En el 2022 se realizó un estudio (datos no publicados) sobre el efecto de estos agentes sobre la calidad del semen de toros de raza *Brahman*. El promedio del volumen por eyaculado osciló desde 2,5±0,7 hasta 5,6±3,5; la concentración osciló desde 388,0±243,2 hasta 1,560.0±1,456.6; la motilidad progresiva total osciló desde 37,7±11,1 hasta 71,0±2,1; y ninguno de estos

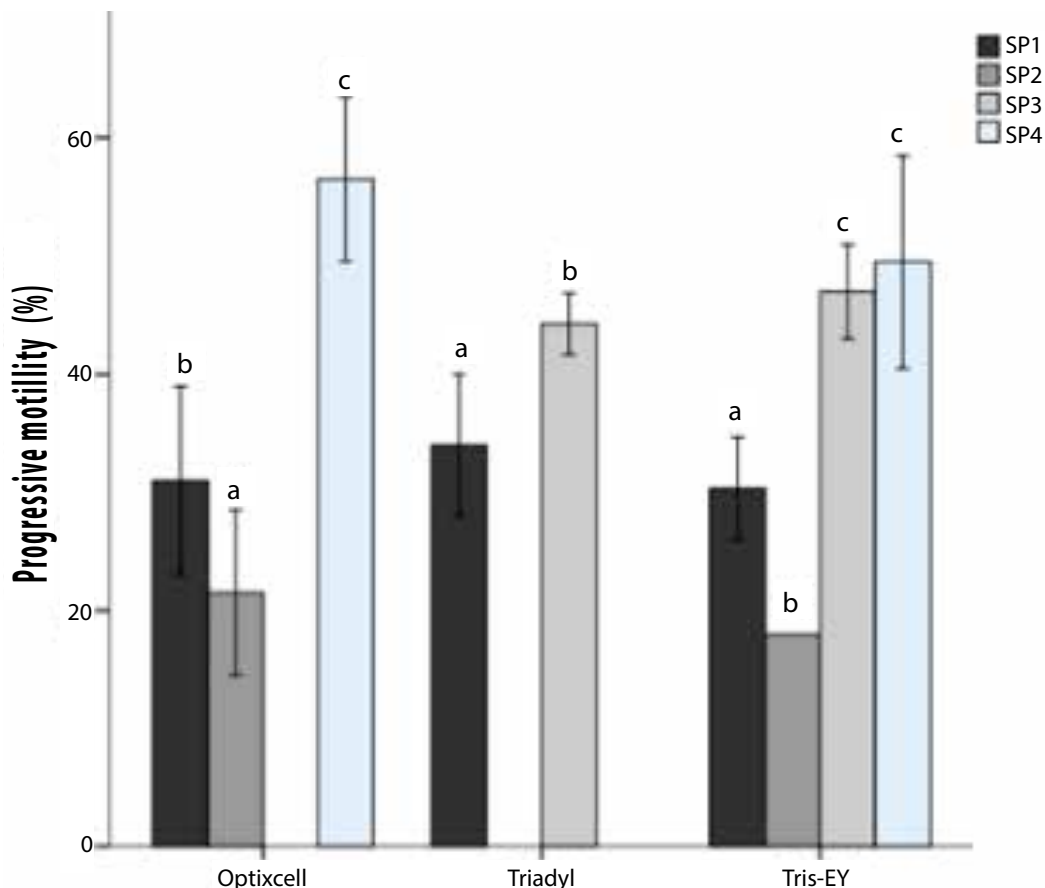


Figura 2. Distribución de la motilidad progresiva de las distintas subpoblaciones de espermatozoides en muestras de esperma criopreservado en diferentes diluyentes comerciales. (Fuente: Viquez et al., 2020).

parámetros mostró diferencias significativas entre grupos de toros con distinto estatus sanitario y entre distintas evaluaciones (0 y 30 días) ($p > 0,05$); así mismo, la viabilidad mostró valores superiores al 50% entre los grupos a los 30 días (cuadro 2).

Promedio y desviación estándar (media \pm DE), comparación de grupos mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Datos no publicados.

^{A,B}Diferentes letras como superíndice dentro de una fila o columna indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

Por su parte, el análisis de asociación entre el estatus sanitario de los toros con la calidad de la muestra seminal mostró que las variables no están relacionadas (cuadro 3). Para un valor del estadístico Irwin-Fisher de 5,3 se genera un valor $p = 0,06$, por lo que no hay evidencias suficientes (considerando un p -valor al 5%) de que el estatus sanitario afecte la calidad satisfactoria del semen asociada con los parámetros seminales de motilidad progresiva total $\geq 50\%$ y morfología normal $\geq 70\%$. Datos no publicados.

Con respecto a la viabilidad, aunque el análisis anterior indicó que no hay diferencias significativas entre el estatus sanitario a los 30 días con la calidad del eyaculado (cuadro 2), se observó variabilidad natural entre toros con valores que oscilaron desde $< 5\%$ (toro 545) hasta 93,8% (toro 616). En la figura 3b se aprecia el alto porcentaje de espermatozoides muertos en la muestra seminal del toro 545, lo que sugiere que el toro no presentaría una tasa de fertilidad adecuada.

Cuadro 2. Promedio y desviación estándar (X \pm DE) de los parámetros espermáticos de los eyaculados según el estatus sanitario de los toros.

Parámetro	VLBE ⁺ /HVB-1 ⁺ /VDVB ⁻ (n=2)	VLBE ⁻ /HVB-1 ⁺ /VDVB ⁻ (n=6)	VLBE ⁻ /HVB-1 ⁻ /VDVB ⁻ (n=2)
Volumen (mL, 0 d)	4,3 \pm 2,6	5,0 \pm 1,9	2,7 \pm 0,3
Volumen (mL, 30 d)	4,7 \pm 3,1	5,6 \pm 3,5	2,5 \pm 0,7
Concentración (M/mL, 0 d)	1,560,0 \pm 1,456,6	844,3 \pm 478,7	388,0 \pm 243,2
Concentración (M/mL, 30 d)	700,0 \pm 28,2	970,0 \pm 908,8	464,0 \pm 503,4
Motilidad progresiva total (% , 0 d)	52,0 \pm 5,6	37,7 \pm 11,1	63,0 \pm 9,1
Motilidad progresiva total (% , 30 d)	51,5 \pm 7,7	46,3 \pm 14,2	71,0 \pm 2,1
Morfo-anomalías (% , 0 d)	24,5 \pm 1,6 ^{AB}	34,9 \pm 10,8 ^B	50,7 \pm 27,2 ^B
Morfo-anomalías (% , 30 d)	18,0 \pm 8,1 ^{AB}	14,4 \pm 9,3 ^A	13,7 \pm 7,1 ^A
Viabilidad (% , 30 d)	53,1 \pm 35,2	69,2 \pm 26,0	85,7 \pm 1,1

Cuadro 3. Análisis de contingencia para evaluar la asociación entre el estatus sanitario con la calidad del esperma.

Calidad seminal	Estatus sanitario			Total
	VLBE ⁺ /HVB-1 ⁺ /VDVB ⁻	VLBE ⁻ /HVB-1 ⁺ /VDVB ⁻	VLBE ⁻ /HVB-1 ⁻ /VDVB ⁻	
Satisfactoria	2	4	4	10
No satisfactoria	2	8	0	10
Total	4	12	4	20

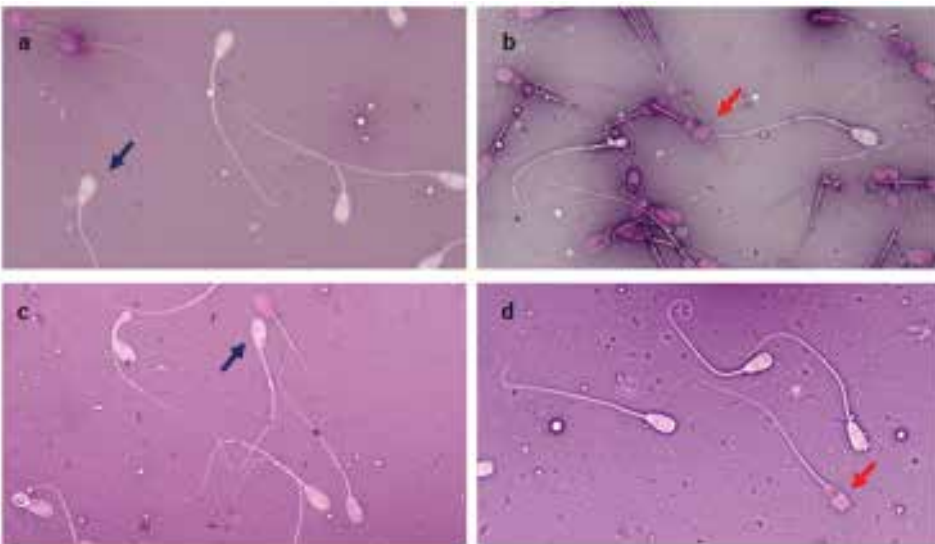


Figura 3. Tinción de los espermatozoides con eosina-nigrosina en toros: (a) 605, (b) 545, (c) 544 y (d) 498. Los espermatozoides teñidos en color blanco están vivos (flecha de color azul), mientras los teñidos en rosado están muertos (flechas de color rojo).

Consideración final

Según las proyecciones para el consumo de carne y leche con calidad adecuada, es elemental mejorar la tasa de preñez de las hembras y reducir la diseminación de agentes infecciosos por transmisión sexual; favorecer la crianza de animales con fenotipos deseados para producir carne y leche según las características demandadas por el consumidor; y reducir, por ejemplo, la incidencia de alergias asociadas con el consumo de leche de vaca (promoción de la salud pública). Además, reducir el impacto de las enfermedades y del estrés por calor al aumentar la adaptabilidad de forma sostenible de animales resistentes a las enfermedades y a las altas temperaturas, que en buena medida son producto del cambio climático. Esto se logrará más fácil con el monitoreo de la calidad seminal de los toros y la implementación de las técnicas de reproducción asistidas como la IA. La falta de asociación entre la calidad del espermatozoide con la presencia del VLBE y HVB-1 no permite inferir si afectan la funcionalidad de los espermatozoides; sin embargo, no se debe olvidar que estos virus se transmiten mediante el semen contaminado, por lo que los sementales infectados deben ser evaluados periódicamente para conocer si el semen está libre del agente infeccioso o ser descartado como donantes de semen en un programa de IA.

Referencias bibliográficas

ABBA (Australian Brahman Breeders' Association Limited). (2015). Technical information-reproduction. In Ced Wise (ed.) Brahman news december 2015, 189:24. Retrieved from http://www.brahman.com.au/technical_information/reproduction/theNutsandBoltsOfBullFertility.html

Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Rome, FAO. Retrieved from <https://ourworldindata.org/grapher/global-meat-projections-to-2050>

Butler, M.L., Bormann, J.M., Weaver, R.L., Grieger, D.M., & Rolf, M.M. (2020). Selection for bull fertility: a review. *Translational Animal Science*, 4:423-441. <https://doi.org/10.1093/tas/txz174>

Bompert, D., García-Molina, A., Valverde, A., Caldeira, C., Yániz, J., Núñez de Murga, M., & Soler, C. (2018). CASA-Mot technology: how results are affected by the frame rate and counting chamber. *Reproduction, Fertility and Development*, 30(6):810-819. <https://doi.org/10.1071/RD17551>

Doyle, N., Mbandlwa, P., Kelly, W. J., Attwood, G., Li, Y., Ross, R. P., Stanton, C., & Leahy, S. (2019). Use of Lactic Acid Bacteria to Reduce Methane Production in Ruminants, a Critical Review. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2207. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.02207/BIBTEX>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2018). Dairy market

review. Retrieved from <http://www.fao.org/3/CA2857EN/ca2857en.pdf>

FAO (Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2019). Producción y sanidad animal. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2022a). Gateway to dairy production and products: dairy animals. Retrieved from <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/dairy-animals/en/>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2022b). Gateway to dairy production and products: milk and milk products. Retrieved from <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/en/>

Gard, J. (2020). Reproductive technologies and pathogen transmission. In *Reproductive Technologies in Animals*. Chapter 16. p. 263-273. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817107-3.00016-3>

Garner, J. B., Douglas, M. L., Williams, S. R. O., Wales, W. J., Marett, L. C., Nguyen, T. T. T., Reich, C. M., & Hayes, B. J. (2016). Genomic Selection Improves Heat Tolerance in Dairy Cattle. *Scientific Reports* 2016 6:1, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/srep34114>

Givens, M.D. (2018). Review: Risks of disease transmission through semen in cattle. *Animal*, 12(1):165-171. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000708>

He, M., Sun, J., Jiang, Z.Q., & Yang, Y.X. (2017). Effects of cow's milk beta-casein variants on symptoms of milk intolerance in Chinese adults: a multicentre, randomised controlled study. *Nutrition Journal*, 16:72. <https://doi.org/10.1186/s12937-017-0275-0>

Kuczewski, A., Orsel, K., Barkema, H.W., Mason, S., Erskine, R., & van der Meer, F. (2021). Invited review: Bovine leukemia virus-transmission, control, and eradication. *Journal of Dairy Science*, 104:6358-6375. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18925>

Kumar-Rabidas, S., Kumar Talukder, A., Shahi Alam, G., & Yeasmin Bari, F. (2012). Relationship between semen quality parameters and field fertility of bulls. *Journal of Embryo Transfer*, 27(1):21-28.

Montoya-Monsalve, G., Sánchez-Calabuig, M.-J., Blanco-Murcia, J., Elvira, L., Gutiérrez-Adán, A., & Ramos-Ibeas, P. (2021). Impact of overuse and sexually transmitted infections

on seminal parameters of extensively managed bulls. *Animals*, 11:827. <https://doi.org/10.3390/ani11030827>

MPI (Ministry for Primary Industries). (2018). Import risk analysis: Bovine leukaemia virus and *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* in bovine frozen semen, in-vivo derived and in-vitro produced embryos. Ministry for Primary Industries, New Zealand. Retrieved from <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/34026/direct>

Maroto-Hernández, M. (2020). Evaluación de la motilidad del semen fresco utilizando dos diluyentes comerciales en diferentes horas de extracción. Trabajo final de la Especialización en Reproducción Bovina, Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Universidad Nacional de Córdoba. 36 p.

Nagata, M.P.B., Egashira, J., Katafuchi, N., Endo, K., Ogata, K., Yamanaka, K., Yamanouchi, T., Matsuda, H., Hashiyada, Y., & Yamashita, K. (2019). Bovine sperm selection procedure prior to cryopreservation for improvement of post-thawed semen quality and fertility. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10:91. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0395-9>

Naskar, S., Gowane, G.R., Chopra, A., Paswan, C., & Prince, L.L.L. (2012). Genetic adaptability of livestock to environmental stresses. Chapter 13. p. 317-378. V. Sejian et al. (eds.), In *Environmental stress and amelioration in livestock production*, https://doi.org/10.1007/978-3-642-29205-7_13. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012.

Ramírez-Barboza, J. I., Valverde, A., & Rojas-Bourillón, A. (2016). Efecto de raza y niveles de energía en la finalización de novillos en pastoreo. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 43–57. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21472>

Rodríguez-González, K., Valverde, A., Rodríguez-González, J., Murillo-Bravo, O., & Camacho-Calvo, M. (2018). Efecto del genotipo y alimentación final sobre cortes cárnicos comerciales y calidad de canal en novillos. *Agronomía Mesoamericana*. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.28140>

Singh, U., Deb, R., Alyethodi, R.R., Alex, R., Kumar, S., Chakraborty, S., Dhama, K., & Sharma, A. (2014). Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 6:49e58. <https://doi.org/10.1016/j.bgm.2014.03.001>

Soler, C., Cooper, T., Valverde, A., & Yániz, J. (2016). Afterword to Sperm morphometrics today and tomorrow special issue in *Asian*

Journal of Andrology. *Asian Journal of Andrology*, 18(6):895-897. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.188451>

Soler, C., Valverde, A., Bompard, D., Fereidounfar, S., Sancho, M., Yániz, J., García-Molina, A., & Korneenko-Zhilyaev, Y. (2017). New methods of semen analysis by casa. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya (Agricultural Biology)*, 52(2). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.2.232eng>

Valverde, A., Arenán, H., Sancho, M., Contell, J., Yániz, J., Fernández, A., & Soler, C. (2016). Morphometry and subpopulation structure of Holstein bull spermatozoa: variations in ejaculates and cryopreservation straws. *Asian Journal of Andrology*, 18(6), 851–857. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.187579>

Valverde, A., Castro-Morales, O., Madrigal-Valverde, M., & Soler, C. (2019). Sperm kinematics and morphometric subpopulations analysis with CASA systems: a review. *Revista de Biología Tropical*, 67(6):1473-1487. <https://doi.org/10.15517/rbt.v67i6.35151>

Valverde, A., Barquero, V., & Soler, C. (2020). The application of computer-assisted semen analysis (CASA) technology to optimise semen evaluation. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 29(3). <https://doi.org/10.22358/JAFS/127691/2020>

Viquez, L; Barquero, V; Soler, C., Roldan, E.R.S., & Valverde, A. (2020). Kinematic Sub-Populations in Bull Spermatozoa: A Comparison of Classical and Bayesian Approaches. *Biology*, 9 (6), 138. <https://doi.org/10.3390/biology9060138>

Viquez, L., Barquero, V., & Valverde, A. (2021). Condiciones óptimas de análisis cinético en semen fresco de toros Brahman con un sistema CASA-Mot. *Agronomía Mesoamericana*, 32(3):920-938. <https://doi.org/10.15517/am.v32i3.42768>

Zhang, Z., Wang, Y., Si, X., Cao, Z., Li, S., & Yang, H. (2020). Rumen methanogenesis, rumen fermentation, and microbial community response to nitroethane, 2-nitroethanol, and 2-nitro-1-propanol: an in vitro study. *Animals*, 10:479. <https://doi.org/10.3390/ani10030479>

*Derling Pichardo, Universidad de Costa Rica, Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales (PPCARN), San Pedro de

Montes de Oca 11501, Costa Rica. E-mail: derling.pichardo@ucr.ac.cr ID: <https://orcid.org/0000-0002-5358-0470>.

**Carlos Jiménez, Universidad Nacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Unidad de Diagnóstico e Investigación en Virología Veterinaria (UNDIVE), Barreal de Heredia 40101, Costa Rica. E-mail: carlos.jimenez.sanchez@una.cr ID: <https://orcid.org/0000-0002-9544-5285>

***Jorge Elizondo, Universidad de Costa Rica. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Estación Experimental Alfredo Volio Mata. E-mail: jorge.elizondosalazar@ucr.ac.cr ID: <https://orcid.org/0000-0003-2603-9635>

****Jaime Galindo, Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), Escuela de Agronomía, Centro de Investigación y Desarrollo en Agricultura Sostenible del Trópico Húmedo, Campus Tecnológico Local San Carlos. Apdo. Postal 223-21002 Alajuela, Costa Rica. E-mail: jgalindo@itcr.ac.cr ID: <https://orcid.org/0000-0002-1018-1875>

*****Laura Murillo, Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), Escuela de Agronomía, Laboratorio de Reproducción Animal, Campus Tecnológico Local San Carlos. Apdo. Postal 223-21002 Alajuela, Costa Rica. E-mail: lauraluciams8@estudiantec.ac.cr ID: <https://orcid.org/0000-0002-8628-4651>

*****Anthony Valverde, Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), Escuela de Agronomía, Centro de Investigación y Desarrollo en Agricultura Sostenible del Trópico Húmedo, Laboratorio de Reproducción Animal, Campus Tecnológico Local San Carlos. Apdo. Postal 223-21002 Alajuela, Costa Rica. E-mail: anvalverde@tec.ac.cr ID: <https://orcid.org/0000-0002-3191-6965>.

Autor para correspondencia.