

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“EVALUACIÓN DEL VOLUMEN Y CONCENTRACIÓN DE
SEMEN FRESCO EN CANINOS DE LA
COMARCA LAGUNERA”**

POR

EUSEBIA HERNÁNDEZ GARCÍA

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN , COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DEL 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

EUSEBIA HERNÁNDEZ GARCÍA

ASESOR:

M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DEL 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EVALUACIÓN DEL VOLUMEN Y CONCENTRACIÓN
DE SEMEN FRESCO EN CANINOS DE LA
COMARCA LAGUNERA**

TESIS

POR

EUSEBIA HERNÁNDEZ GARCÍA

ASESOR:

M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

COLABORADOR:

M.V.Z. JOSÉ LUIS COBARRUBIAS CASTRO

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DEL 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

**EVALUACIÓN DEL VOLUMEN Y CONCENTRACIÓN DE
SEMEN FRESCO EN CANINOS DE LA COMARCA
LAGUNERA**

APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO



Rascón
ca 2

M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**



M.C. ERNESTO MARTINEZ ARANDA



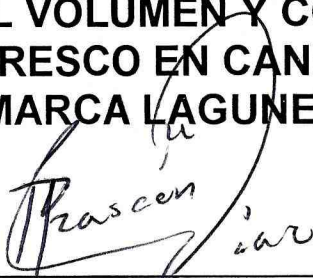
Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
UAAAN - UL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

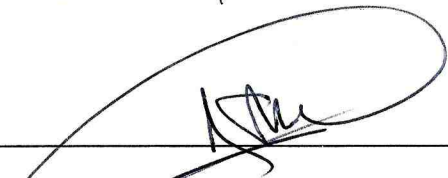
**EVALUACIÓN DEL VOLUMEN Y CONCENTRACIÓN
DE SEMEN FRESCO EN CANINOS DE LA
COMARCA LAGUNERA**



**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ
PRESIDENTE**



**M.V.Z. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO
VOCAL**



**M.C JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
VOCAL**



**M.C. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA
VOCAL SUPLENTE**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a "Dios" por permitirme concluir una meta más en mi vida.

A la universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" por haberme permitido cursar los estudios de Licenciatura en Médico Veterinario Zootecnista, por haberme dado todas las oportunidades brindadas que me ayudaron en mi formación como profesionista

A mis padres por todo el apoyo que me brindaron día con día para concluir mi carrera profesional.

A mi esposo e hijas por brindarme la confianza y tener la paciencia en el trayecto de mi formación profesional y por todo lo que hemos compartido a lo largo de nuestras vidas.

A todos mis hermanos por sus consejos y apoyo en mi carrera profesional.

A mi cuñada por brindarme su confianza y apoyo.

A mis Asesores de tesis por contribuir para la culminación de este trabajo de tesis.

INDICE GENERAL

	PAG.
AGRADECINMIENTOS.....	I
INDICE GENERAL.....	II
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVO.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	4
HIPÓTESIS.....	4
JUSTIFICACIÓN.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1. ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL PERRO.....	5
1.1. Escroto.....	5
1.2. Testículos.....	5
1.3. Epidídimo.....	6
1.4. Cordón Espermiático.....	6
1.5. Conducto Deferente.....	7
1.6. Glándula Prostática.....	7
1.7. Pené.....	7
1.8. Prepucio.....	8
1.9. Uretra.....	8
1.10. Canal Inguinal.....	9
2. ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN.....	10
2.1. Hormonas Hipotalamicas.....	10
2.1.1 .Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH).....	10
2.2. Hormonas Hipofisiarias.....	11
2.2.1. Hormona Folículo Estimulante (FSH).	11
2.2.2. Hormona Estimulante de las Células Intersticiales.....	11
2.2.3. Hormonas Testiculares o Andrógenos.....	12
2.2.4. Testosterona.....	13

2.2.5. Dihidrotestosterona.....	14
2.2.6. Inhibina.....	14
3. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.....	15
Espermatogenesis.....	15
Control de la temperatura.....	16
Transporte del Esperma.....	17
Próstata.....	18
Erección.....	18
Producción del esperma en el Semental.....	19
Eyaculación.....	20
3.7.1. Primera fracción.....	20
3.7.2 .Segunda Fracción.....	21
3.7.3. Tercera Fracción.....	21
4. EVALUACIÓN DEL SEMENTAL.....	22
4.1. Examen Clínico General.....	22
4.1.1. Historia Clínica.....	23
4.1.2. Examen Físico.....	23
4.1.3. Examen Clínico.....	27
4.1.4. Valoración de la Libido.	29
5. COLECCIÓN DEL SEMEN.....	30
5.1. Requisitos para la Colección.....	30
5.1.1. Hembra celadora(Teaser).....	30
5.1.2. Feromonas.....	31
5.1.3. Lugar.....	32
5.1.4. Preparación del Equipo.....	32
5.2. Equipo Necesario.....	33
5.3. Métodos de Colección del Semen.....	34
5.3.1. Manual.....	34
5.3.1.1. Preámbulo.....	35
5.3.1.2. Técnica.....	36

5.3.1. Cono Artificial.....	40
5.3.2. Vagina Atificial.....	41
5.3.4. Electroeyaculación.....	41
5.4. Fracazos en la colección.....	42
6. EVALUACIÓN DEL SEMEN.....	43
6.1. Manejo del Semen.....	43
6.2. Razones para la Evaluación.....	43
6.3. Limitaciones de la Evaluación.....	44
6.4. Evaluación de la Muestra.....	45
6.4.1. Evaluación Macroscópica.....	45
6.4.1.1. Volumen.....	45
6.4.1.2. Color.....	46
6.4.1.3.Olor.....	47
6.4.1.4. pH.....	47
6.4.2 . Evaluación Microscópica.....	47
6.4.2.1. Motilidad.....	48
6.4.2.2. Concentración.....	51
6.4.2.3. Porcentaje Vivo.....	53
6.4.2.4. Morfología.....	53
6.4.2.5. Presencia de Otras Celulas.....	58
6.4.2.6. Microbiología.....	60
VI. MATERIALES Y METODOS.....	62
VII. RESULTADOS.....	64
VIII. DISCUSIÓN.....	69
VIII. CONCLUSIONES.....	70
X. LITERATURA CITADA.....	71

RESUMEN

La colección de semen en caninos es una práctica que brinda grandes beneficios en la clínica reproductiva diaria. Esta biotecnología puede ser moderada o de alta complejidad, de bajo o mediano costo, según la técnica y el tipo de semen (fresco, refrigerado o congelado) utilizado. En cada caso brinda diferentes posibilidades, otorgando siempre grandes beneficios en la reproducción canina.

Para evaluar el volumen y concentración espermática, se utilizaron 10 perros que fueron tomados del archivo del Hospital Veterinario de la UAAAN – UL, Municipio de Torreón; Coahuila, México. Evaluándose así a cada semental durante 6 días consecutivos, obteniéndose diferentes volúmenes en cada uno de ellos.

Para el análisis de los datos se utilizó el Método de comparación de precisión.

Dando como resultado el Volumen en Promedio de 11.7, en donde la Desviación Estándar es de 2.88 y el Coeficiente de Variación 67.0 (%) de los 60 eyaculados obtenidos.

La concentración espermática Promedio es de 147.265.625 millones $\times 10^6$, una Desviación Estándar de 99.81 y un Coeficiente de Variación de 20.90.

El análisis del semen no muestra diferencias significativas con relación a la literatura.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la tecnología de asistencia reproductiva en caninos comenzó en el siglo XVIII (Farstad, 2000), pues ya en 1776 el fisiólogo Italiano Lázaro Spallanzani había observado que las bajas temperaturas provocaban una reducción reversible de la actividad metabólica de los espermatozoides, lo cual permitía almacenarlos; posteriormente en 1787 hace el primer informe sobre el uso de inseminación artificial en animales domésticos, donde pudo obtener tres cachorros después de inseminar una perra con semen fresco; este procedimiento ha sido aplicado y desarrollado a través del tiempo en la reproducción de pequeños animales (Farstad, 2000; Stornelli *et al.* , 2001a).

Para el siglo XIX en el año de 1827 Karl Ernest Von Baer hace la primera descripción verdadera de un óvulo mamífero tomado de una perra (Farstad, 2000).

Mas recientemente en 1956 Harrop logra la primer preñez con semen refrigerado abriendo las puertas a la criopreservación, que portó junto con la primera descripción de la fisiología reproductiva canina, preservación a corto plazo de semen canino y desarrollo de las técnicas para la inseminación artificial, y en 1969 Stephen Seager informa por primera vez una inseminación artificial satisfactoria en perras usando semen canino congelado (Farstad, 2000; Stornelli *et al.*, 2001a).

Con estos antecedentes podemos observar que el progreso en esta área se ha desarrollado lentamente, comenzando un avance progresivo en 1970 con un perfeccionamiento de las técnicas de preservación y del equipo de inseminación en el campo de reproducción canina, alcanzando grandes avances realizados en la colección y preservación de semen refrigerado en los últimos años (Farstad, 2000; Greenbank *et al.*, 2000); haciéndolo

relativamente nuevo en medicina canina, sin embargo, han sido practicados con éxito en ganado y otras especies durante muchas décadas y aunque nos cansamos en los hombros de la investigación y experiencia desarrollados en la práctica bovina aún no se ha logrado reproducir su proporción de éxito (Foster *et al.*, 2001).

Además fue necesario desarrollar técnicas de colección y evaluación de semen, además de una evaluación completa del semental para la preservación del semen canino (England *et al.*, 2000; Esquivel *et al.*, 2001). Gracias al reconocimiento del American Kennel Club de camadas concebidas de semen congelado en 1981 y la aceptación subsecuente de semen refrigerado (Hutchison, 1999), permitiendo que la tecnología de congelación de semen canino este disponible en USA desde entonces (Greenbank *et al.*, 2000) y actualmente el interés en el envío internacional de semen canino refrigerado o congelado está aumentando considerablemente tanto como en el número de medios de almacenamiento (Linde, 2001; Stornelli *et al.*, 2001a).

Por otro lado, en México existe escasa o nula información científica en el área de la reproducción canina con semen preservado, pues no se encontraron reportes de su utilización. No obstante gracias a que la reproducción canina es una afición de distribución mundial, para los médicos veterinarios y criadores, el conocimiento de preservación del semen canino y sus técnicas de inseminación artificial están alcanzando un alto grado de interés.

Es por eso que el presente trabajo, es una revisión sobre la colección, y evaluación del semen canino, y pretende contribuir con el conocimiento de estas tecnologías de asistencia reproductiva y su aplicación futura en nuestro país.

OBJETIVO.

Evaluar el semen fresco en caninos, de la Comarca Lagunera de Coahuila y realizar la comparación con los estándares normales que marca la Literatura con el resto del mundo.

OBJETIVOS ESPECÍFICO.

Evaluar el volumen de cada eyaculado en caninos.

Evaluar la concentración espermática de los eyaculados en caninos.

Determinar si el volumen y concentración son equiparables a los estándares mundiales.

HIPOTESIS.

El clima es un factor que puede hacer variar las características del semen de los caninos en comparación con el de otras regiones.

La comarca lagunera de Coahuila cuenta con un clima extremo que puede hacer variar la concentración y volumen del semen, lo que pudiera hacer variar los resultados de los estudios y actividades relacionados con Inseminación Artificial en caninos.

JUSTIFICACIÓN.

Determinar si los valores que citan en la Literatura son iguales a los de la Comarca Lagunera, con la finalidad de aplicar estos criterios a prácticas como: La colección y conservación del semen; así como la Inseminación Artificial en caninos.

REVISION DE LITERATURA

1. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL PERRO.

1.1 Escroto

Adams (1988) lo define como un saco de piel que contiene a los testículos. Está situado cerca de la mitad que existe entre la región inguinal y el ano, es dividido por un septum medio en dos cavidades. Ocupadas cada una por los testículos, epidídimo y parte distal del cordón espermático. La piel es delgada y pigmentada muy escasamente cubierta de pelos muy finos. El rafe no es muy visible (Sisson *et al.*, 1993).

1.2 Testículos.

Los testículos atraviesan el canal inguinal aproximadamente a los 10 a 15 días del nacimiento (Adams, 1988), aunque Allen (1992) dice que a los 4 días, alcanzando su ubicación en el escroto a los 35 días. Son relativamente pequeños y tienen forma oval o redondeada. El mediastino testicular da origen a un tabique de tejido conectivo que divide los testículos en lóbulos incompletos que contienen los tubos seminíferos. Los tubos se vacían en la rete testis del mediastino. Esta drena en los conductos deferentes que se unen para formar la cabeza del epidídimo (Sisson *et al.*, 2001).

Las dos funciones principales del testículo, son la exocrina o producción de espermatozoides y la endocrina o producción de hormonas masculinas (Esquivel *et al.*, 2001).

1.3 Epidídimo.

El epidídimo es largo, extremadamente enrollado sobre sí mismo (Allen, 1992; Sisson *et al.*, 1993) para formar una estructura que puede describirse como formada por cabeza, cuerpo y cola (Allen, 1992). Está íntimamente unido a lo largo de la parte dorsal de la superficie del testículo (Sison *et al.*, 1993).

1.4 Cordón Espermático.

El cordón espermático (*Funículos spermaticus*) es un manojito de varios tejidos que va entre el testículo y pared abdominal (Allen, 1992), comienza en el anillo inguinal profundo, donde sus partes constituyentes se juntan, se extiende oblicua y ventralmente a través del canal inguinal pasa junto al pene para terminar en el borde de inserción del testículo. Está formado según (Sisson *et al.*, 1993) por las siguientes estructuras:

Arteria testicular

Venas testiculares, que forman el plexo pampiforme alrededor de la arteria.

Linfáticos que acompañan a las venas

Plexo testicular de nervios autónomos, que van junto a la arteria.

Conductos deferentes, arteria y vena.

Haces de tejido muscular liso alrededor de los vasos [antes considerado como músculo cremáster interno].

Capa visceral de la túnica vaginal. El cordón espermático y la túnica vaginal son largos, cruzan el lado del pene muy oblicuamente. El extremo más superior de la túnica está algunas veces cerrado, de modo que no existe anillo vaginal.

1.5 Conducto Deferente.

Los conductos deferentes tienen un diámetro de 1 mm aproximadamente y son rígidos, constituyen una buena orientación para la localización de testículos abdominales durante intervención quirúrgica (Allen, 1992), son la continuación de la cola del epidídimo, con una ampolla estrecha. Entran a la superficie cráneo dorsal de la próstata (Sison *et al.*, 1993).

1.6 Glándula Prostática.

La próstata es la única glándula genital accesoria en el perro (Adams, 1998; Allen, 1992; Esquivel *et al.*, 2001). Es relativamente grande, de color amarillento y con una estructura densa; se localiza a la altura del borde craneal del pubis o cerca de él. Es globular y rodea el cuello de la vejiga y la uretra durante su unión. Existe un surco medio que indica una división de dos lóbulos laterales. La glándula está sujeta a muchas variaciones en tamaño y a menudo está alargada, especialmente en los animales viejos (Sisson *et al.*, 1993.)

1.7 Pene.

El pene está compuesto de raíz, cuerpo y glande, presenta varios hechos notables. En su parte caudal existen dos cuerpos cavernosos de carácter venoso, separados por un tabique medio. El glande es muy grande y se extiende sobre toda la longitud del pene, su parte craneal, llamada pars longa glandis, es cilíndrica, con un extremo libre puntiagudo; caudalmente existe alargamiento redondeado llamado bulbo del glande. Ambos están compuestos por tejido eréctil.

Un pequeño músculo surge de la tuberosidad isquiática de ambos lados; los dos convergen en el dorso cerca del bulbo del glande y comprimen las venas dorsales y pueden tender a elevar el pene y, por tanto, intervienen en la copulación (Sisson et al., 1993; Esquivel *et al.*, 2001).

1.8 Prepucio.

El prepucio es un estuche modificado de piel Adams, 1988 cubre completamente el pene no erecto Allen, 1992 que forma una vaina completa alrededor de la parte craneal. La capa más externa es ordinariamente integumento. Las capas internas son delgadas, de color rojizo y aglandulares. La capa peneal esta muy unida a la pars longa del glande, y menos al bulbo del glande. En estas capas hay muchos nódulos linfáticos, que son especialmente grandes y a menudo prominentes en el fondo de la cavidad prepucial (Sisson *et al.*, 1993).

1.9 Uretra.

Su función es transportar la orina como el semen hasta el extremo del pene (Allen, 1992). La parte pelviana de la uretra es relativamente grande. Su primera porción se extiende desde la vejiga y esta cubierta por la próstata. En el arco isquial existe un bulbo del pene bien desarrollado. Está dividido por un surco medio y un tabique en dos lóbulos laterales o hemisferios y cubierto por un músculo corto pero fuerte, circunda la uretra desde la próstata, caudalmente, y tiene un rafe medio dorsal. El músculo isquiouretral surge de la tuberosidad isquiática y termina por un anillo fibroso en la sínfisis isquiática, a la que rodean las venas dorsales del pene (Sisson *et al.*, 1993).

1.10 Canal Inguinal

Es un espacio estrecho en los músculos de la pared abdominal que sirve de entrada a los vasos espermáticos y el conducto deferente. En ocasiones este canal tiene la anchura suficiente para permitir el paso de parte del contenido abdominal formando de esta manera una hernia inguinal; esto puede suceder también en la hembra (Allen, 1992).

2. ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.

El desarrollo del sistema reproductor está bajo control genético (Cunningham, 1999). Todos los embriones de mamíferos están programados para ser hembras, sin embargo, la presencia de un solo gen en el cromosoma Y, inducirá el desarrollo de los testículos. Este desarrollo es una parte crítica de diferenciación masculina porque este órgano secretara dos substancias requeridas para el desarrollo normal del tracto reproductor masculino: Sustancia muleriana inhibidora (MIS, Mullerian inhibiting substance), que ocasiona la regresión de los conductos de Muller que desarrollarían los órganos reproductores femeninos; y testosterona, la hormona masculina que estimulará los conductos de Wolf o mesonefros para desarrollar los órganos masculinos de reproducción (Cunningham, 1999; Davol, 2001).

2.1 Hormonas Hipotalámicas.

2.1.1 Hormona liberadora de Gonadotropina [GnRH].

Se produce en el hipotálamo (en la base del encéfalo) y es transportada hasta la hipófisis anterior mediante un sistema especializado de vasos sanguíneos. Determina en forma selectiva la liberación de la hormona folículo estimulante [FSH] y de la hormona estimulante de las células intersticiales [ICSH] en la hipófisis anterior (Allen, 1992; England *et al.*, 2000).

2.2 Hormonas Hipofisarias

2.2.1 Hormona Folículo estimulante [FSH].

Es producida en la adenohipófisis por las células Delta, es una glucoproteína, tiene como tejido blanco al epitelio germinal de los tubos seminíferos en el macho (García, 1988) es responsable de la determinación de algunos procesos en la espermatogénesis (García, 1988; Allen, 1992; England *et al.*, 2000), estimulando a las células de Sertoli a la producción de andrógenos y secreción de estrógenos a través de la conversión intracelular de testosterona (Fayrer, 1996). Las células de Sertoli son adyacentes a la espermatogonia dentro de los tubos seminíferos (England *et al.*, 2000).

Los niveles de FSH también son un indicador de la función testicular. Si los niveles permanecen excesivamente altos [5 a 10 veces del límite normal] entonces hay células de Sertoli dañadas significativamente. Las células de Sertoli normalmente secretarían inhibina que retroalimentan negativamente en FSH. Entonces en la ausencia de inhibina los niveles de FSH se elevarían extremadamente (Fayrer, 1996).

Las concentraciones en suero, fluctúan notablemente durante el día (England *et al.*, 2000).

2.2.2 Hormona Estimulante de las Células Intersticiales [ICSH].

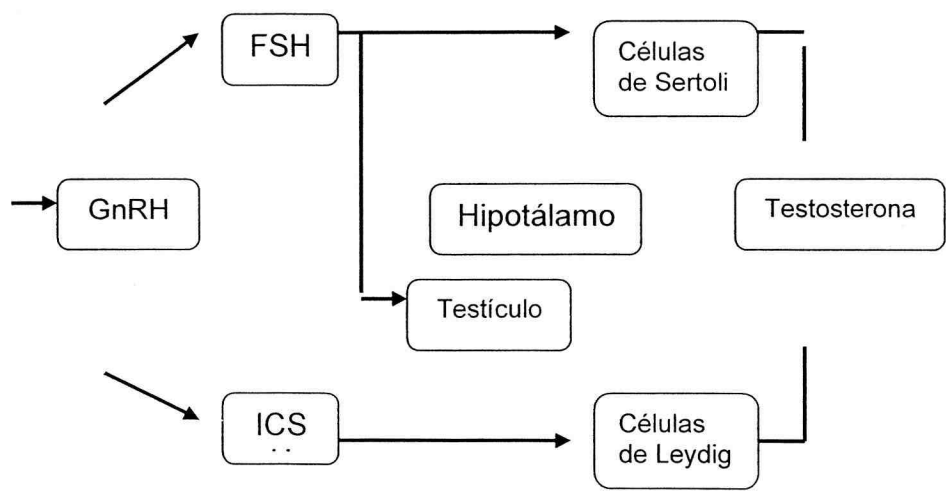
También denominada hormona luteinizante en las hembras [LH] es una glicoproteína producida en las células intersticiales [células de Leydig] en el testículo para acelerar la síntesis y secreción de testosterona (García, 1988; Fayrer, 1996) y dihidrotestosterona (Allen, 1992; England *et al.*, 2000).

No han sido bien determinadas sus concentraciones normales en el perro (Allen, 1992), pero al igual que la FSH sus concentraciones normales séricas varían durante el día (England *et al.*, 2000).

2.2.3 Hormonas Testiculares o Andrógenos.

La función del testículo está regulada de manera que pueda mantener en forma constante la producción de espermatozoides, razón por la cual la aplicación exógena de hormonas, especialmente la de testosterona, alterara su funcionamiento, según (Esquivel *et al.*, 2001) el testículo depende para su funcionamiento básicamente de:

CONTROL GENERAL:



Control Local: se refiere a la comunicación que existe entre el tubo seminífero y las células de Sertoli y germinales, que contienen el tejido intersticial que rodea los tubos y sus componentes [vasos sanguíneos, vasos linfáticos y células de Leydig].

Los andrógenos son del grupo de los esteroides (García, 1988), se producen en los testículos por las células intersticiales [células de Leyding], que forman pequeños islotes entre los tubos seminíferos; estimulan el desarrollo de las características masculinas, ponen en marcha la actividad sexual e influyen en el desarrollo de la glándula prostática (García, 1988; Allen, 1992).

Los testículos ectopicos [por ejemplo en los criptorquidos] siguen produciendo andrógenos (Allen, 1992).

2.2.4. Testosterona

La testosterona es la principal hormona testicular, su síntesis se realiza a través del acetato y el colesterol (García, 1988).

Los efectos de la testosterona incluyen la inducción de otras características físicas del género así como los rasgos de conducta incluyendo la libido y delimitación territorial de orina (Fayrer, 1996; Davol, 2001). La testosterona pasa a los tubos seminíferos donde es esencial para el mantenimiento de la espermatogenesis, en particular el inicio de meiosis (Fayrer, 1996).

En los perros adultos las concentraciones de testosterona en plasma varían entre 0.5 y 5.0 ng/ml (Allen, 1992). En suero pueden ser de 0.4 a 10 ng/ml, pero generalmente entre 1 y 4 ng/ml es aceptable (Fayrer, 1996).

Existe gran variación individual durante el día, por lo que el análisis de una muestra única tiene poco valor. En perros castrados, los valores de testosterona son siempre inferiores a 200 pg/ml (Allen, 1992).

La testosterona junto con los estrógenos ejerce un efecto de retroalimentación negativa [feedback] sobre FSH y LH (England *et al.*, 2000).

2.2.5 Dihidrotestosterona

La conversión intracelular de testosterona a dihidrotestosterona por medio de la encima 5 alpha-reductasa para que ocurra la masculinización de los tejidos (Cunningham, 1999) como el desarrollo de la glándula prostática, la uretra masculina, el pene, y el escroto (Davol, 2001).

2.2.6 Inhibina

Esta es una hormona producida por las células de Sertoli que inhibe la liberación de FSH (Allen, 1992) mediante el control de mando de SNC por medio de un mecanismo retroalimentación negativa simple (Fayrer, 1996).

3. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Espermatogénesis

La producción de células espermáticas testiculares esta controlada por los factores de liberación hormonal [GnRH], que regula la secreción de FSH e ICSH en la hipófisis anterior (Allen, 1992; Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

Constituye un proceso complejo mediante el que se producen los espermatozoides [células germinativas masculinas] en los tubos seminíferos de los testículos (Davol; 2001).

Las células llamadas espermatogonias, que son las precursoras de los espermatozoides, se dividen mediante mitosis para dar origen a los espermatocitos [las células con 78 cromosomas son llamadas diploides; en este número se incluyen los dos cromosomas sexuales], éstos se dividen posteriormente mediante meiosis por lo que el número normal de cromosomas] formando las espermátidas y se mezcla el material genético procedente de los padres del individuo (Allen, 1992).

La espermiogénesis [una subdivisión de espermatogénesis] involucra la maduración de espermátidas inmaduras para producir espermatozoides maduros fértiles normales (Fayrer, 1996) mediante un complejo reagrupamiento de los organitos; básicamente el núcleo pasa a formar la cabeza del espermatozoide, el aparato de Golgi forma el acrosoma, y las mitocondrias y centríolos intervienen en el desarrollo de la cola; la mayor parte del citoplasma queda en las células de Sertoli que aparecen sobre la membrana basal de los tubos seminíferos; regulan la metamorfosis de espermátida a espermatozoide (Allen, 1992).

La espermatogénesis comienza a los 4 meses de edad aunque los espermatozoides no aparecen en el eyaculado hasta los 10 a 12 meses (Allen, 1992), marcando el inicio de la pubertad, por aumento en el nivel de ICSH induciendo a los testículos para producir testosterona que llevará a la maduración de los espermatozoides (Daval, 2001).

En todos los mamíferos domésticos se ha definido el periodo de tiempo que se requiere para el desarrollo de células germinales primordiales, es decir, el ciclo de la espermatogénesis, desde la división del espermatogonio hasta la aparición del espermatozoide en el eyaculado, tarda 50 a 60 días; es el mismo tiempo que se requiere para el toro y el semental. Comprende dos fases, la primera denominada fase testicular es de ± 46 días, mientras que la segunda que es la fase epididimal es de ± 14 días en la cual se lleva a cabo la maduración de los espermatozoides en el epidídimo (Allen, 1992; Fayrer, 1996).

Control de la temperatura

La espermatogenesis no puede producirse con la temperatura normal del organismo en la mayoría de los mamíferos, varios mecanismos mantienen los testículos del perro más fríos que el resto del organismo (Allen, 1992).

Los testículos se alojan fuera de la cavidad corporal en el saco escrotal (Allen, 1992). El tejido muscular especializado del saco escrotal como el músculo cremaster influye sobre la distancia que media entre el cuerpo y el testículo, y el músculo dartos en la pared escrotal que puede influir sobre el tamaño de escroto y, en consecuencia sobre la posición de los testículos.

En el escroto, la disposición de los vasos sanguíneos en el cordón espermático permite la refrigeración de la sangre arterial mediante el retorno sanguíneo en el plexo pampiniforme manteniendo la temperatura de la sangre por debajo de temperatura corporal normal (Allen, 1992, Davol, 2001) esto facilita el desarrollo óptimo [espermatogénesis] de los espermatozoides (Davol, 2001).

Las condiciones que provocan una elevación de la temperatura corporal, como fiebre (Allen, 1992) y choque por calor, pueden no ser compensadas por estos mecanismos y alterar la espermatogénesis, produciendo células espermáticas anormales (Allen, 1992; Fayrer, 1996) es decir no habrá espermatozoides normales hasta que se produzcan nuevas células en la fase espermatogénica subsecuente 50 a 60 días después (Fayrer, 1996).

También la obesidad puede reducir la refrigeración testicular (Allen, 1992). La evaluación de un perro que ha estado bajo estrés por calor necesitará ser evaluado después de 60 días para hacer un diagnóstico de fertilidad válido. También es importante recordar que en caso de estrés por calor agudo todos los espermias del epidídimo morirán. Así el perro será temporalmente estéril durante 14 días (Fayrer, 1996).

Transporte del esperma.

Los espermatozoides llegan inmaduros a la cabeza del epidídimo; presentan una gotita de plasma residual llamada gota o perla citoplásmica residual. Las células maduran durante su paso a lo largo del epidídimo que se debe posiblemente a la producción constante de esperma en el testículo. Al entrar en el conducto deferente la gota citoplasmática se mueve hacia el extremo distal de la pieza media o es expulsada del espermatozoide, que ahora se considera maduro. Se desconocen los factores que influyen sobre

la velocidad con que se mueven estas células a lo largo del conducto deferente (Allen, 1992).

Durante la eyaculación, el esperma se arrastrará del epidídimo a través del conducto deferente y se combinará con el semen, secretado por la glándula de la próstata, en la uretra de la próstata antes de expelerse (Davol, 2001).

Los espermatozoides que no son evacuados mediante la eyaculación se piensa que son forzados hacia la abertura del conducto deferente y a penetrar en la uretra con la masa de células que existe detrás de los mismos, posteriormente van cranealmente hacia la vejiga y son expulsados junto con la orina (Allen, 1992).

Durante la eyaculación los espermatozoides son expulsados de forma activa desde el conducto deferente al interior de la uretra (Allen, 1992; Davol, 2001).

Próstata.

Los perros sólo tienen una sola glándula sexual adicional, la próstata (Sisson *et al.*, 1993; Fayrer, 1996; Esquivel *et al.*, 2001) que produce una secreción transparente que es expulsada al interior de la uretra, conocida como tercera fracción del eyaculado. Su función consiste probablemente en arrastrar a la segunda fracción rica en espermatozoides, desde la vagina craneal hacia el útero de la perra, neutraliza la acidez uretral por ser una sustancia alcalina, ayuda a la activación de los espermatozoides y otorga el olor característico al semen (Adams, 1998; Allen, 1992).

Erección

Los factores que estimulan la erección en la mayoría de los animales son el olor de una hembra en celo (estro) y la asociación entre rutina y coito; las vías mediante las que tales estímulos inician la erección son probablemente nerviosas aunque no se conocen en una forma completa (Allen, 1992).

El perro tiene estructuras únicas en el pene para facilitar la cruce y la unión. El os penis le permite lograr la penetración sin tener una erección completa gracias a su rigidez. La erección total se produce posteriormente para asegurar que el pene quede inserto en tracto genital de la hembra (Allen, 1992; Fayrer, 1996).

Una erección antes de la penetración produce a menudo una unión infructuosa. El perro con el pene erecto no puede, normalmente, lograr la penetración (Fayrer, 1996).

La erección consiste en la tumescencia (hinchazón y turgencia) del pene como resultado de una acumulación de sangre en sus tejidos provocada por la constricción del retorno venoso (Allen, 1992).

Lo primero que aparece es un engrosamiento del bulbo del glande y una extensión del proceso uretral. Entonces el collar del glande se engruesa parcialmente. Este engrosamiento se propaga a todos los espacios cavernosos. Cuando el pene está completamente erecto, el epitelio está muy tenso y las venas superficiales son prominentes. El bulbo del glande se alarga tanto que no puede ser retirado de la vagina; por tanto el macho y la hembra quedan "enlazados" juntos durante 5 ó hasta 60 minutos. La detumescencia del bulbo ocurre antes que en la corona y en el collar (Sisson *et al.*, 1993).

Tan solo después de amainar la erección puede separarse el perro de la hembra (Allen, 1992).

Producción del esperma en el semental.

En el semental, la producción de esperma se relaciona directamente al tamaño testicular. El esperma se guarda en los compartimentos extragonadales del epidídimo y el conducto deferente.

La cantidad de esperma reservada dependerá de la frecuencia e interludios entre eyaculaciones. Las cuentas de esperma totales de un macho sexualmente descansado abarcan reservas de esperma más esperma diario producido por los testículos. Las reservas de esperma se vacían según informes recibidos una vez por eyaculación por día durante 5 a 7 días. Por consiguiente, una vez que se vacían reservas, el número de esperma total sólo será representado por la producción diaria de esperma por los testículos (Davol, 2001).

Eyaculación

Las contracciones del músculo uretral impulsan a los fluidos procedentes de los conductos deferentes y de la próstata a entrar y avanzar a lo largo de la uretra. El eyaculado consta de tres fragmentos (Allen, 1992) de aspecto muy diferentes, son emitidas sucesivamente: fracción uretral, epididimaria [espermática] y prostática (Fontbonne, 1996; Ward, 2000), la cual aparece después de una breve pausa. Es posible pues, para el veterinario fraccionar la colección (Fontbonne, 1996).

No hay ninguna glándula en el perro y así los canideos son los únicos que no tienen fructosa en su eyaculado (Fayrer, 1996).

3.7.1 Primera Fracción.

La primera fracción del eyaculado también llamada fracción preespermática, es un fluido claro (Allen, 1992; Ward, 2000; Davol *et al.*, 2001), formado de la derivación de las glándulas uretrales (glándulas de Litre) (Fayrer, 1996); su función puede ser la de lavar la vagina de restos de orina. Se elimina durante la excitación sexual inicial, su volumen es variable aunque generalmente es de 0.5 (Allen, 1992) a 3 ml (England *et al.*, 2000); puede ser eyaculada mientras el perro esta empujando al

intentar introducir su pene en la vagina de la perra, o puede ser expulsada tras la penetración (Allen, 1992).

3.7.2 Segunda Fracción.

La segunda fracción es eyaculada generalmente tras la penetración cuando el macho deja de empujar (Allen, 1992), es la porción del eyaculado rica en espermatozoides de color blanco (Allen, 1992; Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000; Ward, 2000, Davol, 2001) y su volumen suele ser de 0.5 a 1 ml (Allen, 1992), aunque England *et al.*, 2000, menciona un volumen de hasta 6 ml; procede de los conductos deferentes y es depositada en la mitad del anterior de la vagina al completarse la erección del pene; durante y poco después de la eyaculación de esta fracción, el perro desea girar instintivamente (Allen, 1992).

3.7.3. Tercera Fracción.

Procede de la próstata suele ser expulsada mientras los perros permanecen en pie, grupa con grupa y unidos, su volumen puede ser de 16 a 20 ml en razas grandes y depende probablemente del tiempo que permanecen unidos (Allen, 1992); es un fluido claro (Ward, 2000; Davol, 2001).

Se considera que esta fracción tiene como finalidad lavar el esperma hacia el interior del útero; sin embargo no siempre es favorable el efecto de esta fracción sobre los espermatozoides al final de la eyaculación se produce la desinflamación del pene y su retirada (Allen, 1992).

4. EVALUACIÓN DEL SEMENTAL.

La reproducción es una función altamente especializada y es preciso lograr el exacto equilibrio entre la sanidad y la nutrición para que el animal puede expresar completamente su capacidad reproductiva (Stornelli *et al.*, 2001). De tal manera que la reproducción en cualquier especie para que se pueda llevar a cabo en forma eficaz debe considerar que ambos sexos funcionen igualmente de manera adecuada (Davol, 2000; Esquivel *et al.*, 2001).

Aun cuando la inseminación artificial con semen preservado en los perros no ha alcanzado el grado tan avanzado de comercialización y utilización como en los bovinos es importante la evaluación de los sementales (Esquivel *et al.*, 2001).

Para el caso de la colección del semen para preservación, es muy importante una evaluación completa del semental que debe incluir un examen clínico general, un examen físico de genitales, de libido [su conducta para copular] y del eyaculado [este último se revisara a detalle en el capítulo V], que nos permitan descartar desórdenes genéticos específicos de la raza que no sólo pueden impactar la calidad de vida de la descendencia futura sino que también comprometen la función reproductora del semental (Davol, 2000; England *et al.*, 2000; Esquivel *et al.*, 2001); también, los machos propuestos para reproducción deben recibir un examen físico completo para la evaluación ortopédica, neurológica, endocrinológica, y del sistema genital antes de engendrar (Davol, 2001).

4.1 Examen Clínico General.

El examen clínico completo sirve para determinar que el semental sea un animal saludable, y que tenga una condición física favorable, ya que el trabajo de un semental implica mucha actividad física. El animal en primer lugar deberá tener un peso adecuado a su raza, talla y edad, que no este

muy gordo ya que se cansará más pronto o demasiado, bajo de peso pues no tendrá energía para llevar a cabo el esfuerzo que significa la monta o la colección del semen (Esquivel *et al.*, 2001).

4.1.1 Historia Clínica.

Una historia clínica pertinente es esencial y útil para construir una lista de diagnósticos diferenciales (England *et al.*, 200).

Debe incluir historia clínica reproductiva anterior, éxitos anteriores como progenitor, tratamientos e historial médico general. Si historia reproductiva debe estar documentada para evaluar al semental; en particular, análisis de la frecuencia y número de montas por unidad de tiempo y la fecundidad aparente de estas uniones (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

4.1.2 Examen Físico.

Como con cualquier examen masculino, un examen físico completo del animal es esencial (Fayrer, 1996). La nutrición apropiada y condición física son fundamentales para asegurar la actuación óptima y fertilidad en el macho (Davol, 2001; Esquivel *et al.*, 2001).

Es muy importante verificar que la función cardíaca y respiratoria sean normales, asimismo la integridad de los miembros locomotores, articulaciones y columna dorsal. Un animal que sienta dolor al montar a la hembra va a perder interés para hacerlo, y desde el punto de vista de la nutrición, hay que recordar que la reproducción se lleva únicamente cuando están cubiertos los requerimientos esenciales para el mantenimiento del animal (Esquivel *et al.*, 2001).

Además de una inspección minuciosa de los genitales que debe comprender el escroto, testículos, epidídimo, prepucio, pene, próstata.

ESCROTO: Se revisará que el escroto sea suave, no engrosado, que no estén los testículos adheridos al mismo, oprimiéndolos suavemente de manera que el testículo suba y al soltarlo baje sin ningún obstáculo. Los testículos que no tengan movilidad dentro del escroto pueden tener adherencias que impidan un control adecuado de la temperatura y que por lo tanto puede verse afectada su reproducción espermática (Esquivel *et al.*, 2001).

TESTÍCULOS: Deben compararse en tamaño y consistencia (England *et al.*, 2000). Tienen forma ovoide, en posición oblicua y con la cola del epidídimo hacia atrás, no se encuentran colocados uno al otro lado del otro, sino que está ligeramente más hacia delante. Deberán sentirse firmes y turgentes, esto es, que al oprimirlos regresen inmediatamente a su forma normal. En un animal sano los testículos que se sientan plano pueden indicar hipoplasia; o sea falta de desarrollo, especialmente si el animal no tiene antecedentes de haberse reproducido anteriormente. Si el animal no está sano y por alguna circunstancia está bajo de peso, sería normal encontrarlos pequeños o planos o muy suaves a la palpación, ya que cuando los animales bajan su condición física, los testículos pueden perder totalmente su capacidad de reproducción espermática y una vez que el animal se recupera esta función puede recuperarse también. Los testículos muy duros pueden indicar una atrofia testicular (Esquivel *et al.*, 2001).

Los testículos tiene la capacidad de conservar una zona de reserva dentro de los tubos seminíferos, de tal forma que son capaces de recuperarse siempre y cuando la causa que haya dañado los testículos no altere esta zona de reserva. Una causa importante de daño a esta zona es la exposición a la radiación, ya que entonces se llevara a cabo el proceso de replicación celular o sea la mitosis y la meiosis pero en forma desordenada, que no únicamente originará tumoraciones sino que en forma más peligrosa puede causar daño al material cromosómico contenido en los

espermatozoides; por esta situación se puede producir una progenie defectuosa. Esto es especialmente importante para todos los veterinarios que manejan aparatos de rayos X (Esquivel *et al.*, 2001).

Epidídimo: Debe atarse uniformemente a la superficie dorso lateral del testículo. Como seña particular la cola del epidídimo es normalmente del tamaño de un frijol (England *et al.*, 2000).

Se revisará el epidídimo en su trayecto para determinar que este completo y que no le falte algún segmento, en forma especial la cola del epidídimo para determinar que esté lleno, pues indicará su capacidad de almacenamiento espermático (Esquivel *et al.*, 2001).

Prepucio: El prepucio deberá cubrir por completo el pene, que al revisar no tenga laceraciones o erosiones y además que a través de su orificio se permita la salida y entrada del pene (fimosis, parafimosis). Debemos recordar que es normal una ligera secreción purulenta, ya que es el resultado del proceso de renovación normal de la mucosa prepucial (Esquivel *et al.*, 2001).

Palpe el prepucio y pene externamente para asegurarse que no haya ninguna masa o adherencias (Fayrer, 1996).

Pene: Debe exponerse no erecto para la inspección (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000) desenvainándolo jalando el prepucio hacia atrás para verificar que no haya obstáculos que impidan que desenvaine (Esquivel *et al.*, 2001), asegúrese que la mucosa superficial no tenga ninguna lesión significativa. Un ejemplo de una lesión importante sería una masa roja pedunculada cancerosa que en toda seguridad sería un tumor venéreo transmisible [TVT]. También, mientras el pene es exteriorizado y en estado no erecto, examine la integridad del *os penis* (Fayrer, 1996).

Próstata: Es la única glándula accesoria que posee el perro. Se encuentra rodeando el cuello de la vejiga, su posición de la próstata es inconstante, aunque normalmente se localiza en el borde craneal de la pelvis en perros jóvenes, es redondeada, lisa simétrica con un rafe medio que la divide en 2 lóbulos iguales (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000; Esquivel *et al.*, 2001).

La posición de la próstata varía. Cuando la vejiga esta vacía y contraída, la glándula está totalmente en la cavidad pelviana y puede tener 2,5 cm o más, caudal al borde craneal del pubis. Cuando esta llena, la próstata se halla en posición casi totalmente prepúbica (Sisson *et al.*, 1993).

En muchos casos, los perros especialmente más viejos, la próstata no es intrapélvica (Fayrer, 1996).

La palpación puede ser realizada con éxito manipulando la próstata abdominalmente en la pelvis o por palpación rectal digital (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000; Esquivel *et al.*, 2001).

Está propensa a padecer cambios patológicos que también originan un aumento de su tamaño; suele ser difícil determinar si se ha producido o no crecimiento anormal (Allen, 1992). Un aumento de su tamaño normalmente ocurre con el avance de la edad (England *et al.*, 2000).

La asimetría de la glándula, dolor o consistencia anormal pueden indicar una disfunción y requerir una revisión más minuciosa de la glándula (Fayrer, 1996; Esquivel *et al.*, 2001).

La hiperplasia quística prostática es un hallazgo sumamente común en animales geriátricos y el diagnóstico subsecuente y el tratamiento es esencial. En andrología humana se han perfeccionado las evaluaciones precisas y rápidas de la condición de la próstata mediante ultrasonido transrectal, y esta aplicándose al perro (Fayrer, 1996).

4.1.3 Examen Clínico.

El examen reproductivo completo se está volviendo un aspecto importante de reproducción en animales pequeños. Esto es especialmente verdad cuando nosotros reconocemos que el semental infectado puede infectar perras y puede provocar infertilidad o daño reproductivo. De la misma manera, una evaluación incorrecta de un semental puede difamar su fertilidad (Fayrer, 1996); de tal manera que un examen clínico es obligatorio para eliminarla sospecha de una enfermedad sistémica generalizada (England *et al.*, 2000).

Se deben efectuar pruebas en busca de *Brucella canis* en todos los machos que presente insuficiencia reproductiva, orquitis, dermatitis escrotal crónica (Birchard *et al.*, 1996; Fayrer, 1996) y aglutinación de esperma que están asociados con algunas causas de esterilidad (Ward, 2000).

Las infecciones por *B.canis* pueden causar orquitis, epididimitis, atrofia testicular, discoespondilitis, linfadenopatía generalizada o fiebres de origen desconocido. Para seguimientos se emplean pruebas sericas de aglutinación; sin embargo, es posible observar resultados falsos positivos, el diagnóstico se confirma con la prueba de inmunodifusión en agar gel (Birchard *et al.*, 1996).

Pueden usar varias técnicas para investigar enfermedades reproductivas los perros. Las muestras de semen proporcionan una forma de biopsia e información diagnóstica sobre función testicular y prostática. Las biopsias testiculares convencionales pueden ser obtenidas por incisión o aspiración con aguja pero no es aconsejable en animales reproductores puesto que le siguen respuestas inflamatorias marcadas. En particular, las biopsias de incisión pueden causar la inflamación local con degeneración tubular, fibrosis y oligospermia. La medida de hormonas en suero (o plasma, ambos son prácticamente intercambiables) pueden usarse para confirmar fallas testiculares. Sin embargo las concentraciones séricas de testosterona sérica a la administración de HCG o GnRH puede ser valiosa (England *et al.*, 2000).

En perros castrados, los valores de testosterona son siempre inferiores a 200 Pg/ml (Allen, 1992). Las células de Leydig responderán a varios agentes como la hormona Luteinizante para producir testosterona. Para diagnosticar la presencia de un testículo ectópico no identificado, se tomará una muestra de sangre heparinizada, administrando a continuación por vía intravenosa 500 a 2000 UI de gonadotropina coriónica humana [HCG]; una hora más tarde se toma una segunda muestra. Una elevación en la concentración de testosterona hasta por arriba de 6 ng/ml indica la presencia de tejido testicular (Allen, 1992; Fayrer, 1996).

El tracto reproductor masculino también se puede radiografiar (con la advertencia que la radiación iónica causa degeneración testicular) y más recientemente, la ultrasonografía también ha demostrado ser valioso en examen de próstata y del testículo.

Una evaluación más completa de la glándula de la próstata puede ser lograda por aspiración con aguja o biopsia de la glándula, usando ultrasonido como guía especialmente. Las células prostáticas también pueden ser colectadas por masaje rectal y lavado uretral. Inicialmente, un catéter uretral se pasa a la vejiga para permitir desagüe de orina después se llena con solución salina.

Seguidamente, el catéter se retira parcialmente hasta que su punta este dentro de la próstata distal, determinándola posición por palpación rectal. Entonces se da masaje a la próstata por el recto o transabdominalmente durante uno a dos minutos. Cinco a diez ml de solución salina estéril se introduce entonces a través del catéter aunque comprimiendo la uretra, distal a la próstata con un dedo por el recto. De esta manera, se vacían células masajeadas de la glándula de la próstata en la vejiga. Estas células son recuperadas entonces adelantando el catéter y aspirando el volumen de la vejiga (England *et al.*, 2000).

4.1.4 Valoración de la Libido.

La disposición del semental para copular debe ser evaluada, existen diversos factores que ocasionan en el semental una disminución de la libido como el aburrimiento, el cansancio, estrés, dominancia, inexperiencia, familiarización y preferencia alterando las respuestas favorables por parte del semental. Por lo que la solución de los problemas de libido deben de considerarse principalmente como una alteración de comportamiento antes que una endocrinopatía, sin descartar la posibilidad de que también exista esta situación. En ocasiones un cambio de rutina es favorable (Davol, 2000; Esquivel *et al.*, 2001).

5. COLECCIÓN DEL SEMEN

La colección de semen es esencial para la inseminación artificial, y es de importancia cardinal en el examen reproductivo completo (England *et al.*, 2000).

La colección no debe exceder de una vez cada dos días. La eyaculación diaria produce concentraciones muy bajas de eyaculado después de cinco a siete días. (Martín, 1996) por lo que es recomendable un descanso sexual antes de la colección de semen y evaluación (England *et al.*, 2000).

Los mejores candidatos son los perros experimentados y seguros para colecciones de calidad. Algunos perros pueden ser difíciles de coleccionar, y pueden requerirse esfuerzos repetidos (Martín, 1996).

5.1. Requisitos para la Colección.

5.1.1. Hembra celadora [Teaser].

Durante el estro, se excretan compuestos orgánicos conocidos como feromonas de la vagina de la hembra. Estos químicos aerotransportados son responsables para atraer a los machos de distancias largas a la hembra. Estos incluso indican la fase de su calor (Foster *et al.*, 2001).

La recolección del semen se ve altamente facilitada por la presencia de una hembra en celo o en la fase final del proestro o estro (Allen, 1992; Fontbonne, 1996; England *et al.*, 2000; Greenbank *et al.*, 2000; Corona, 2001; Davol, 2001; Foster *et al.*, 2001). Además, se obtiene la mejor calidad de eyaculado (Fayrer, 1996).

Aunque ésta no deba estar forzosamente en pleno estro, ya que un ligero olor asociado a una estimulación mecánica digital hábil, resulta en la mayoría de los casos suficiente para alcanzar la erección (Fontbonne, 1996).

Esta, preferentemente, debe ser una perra de tamaño similar y de temperamento tranquilo (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

5.1.2. Feromonas.

La disponibilidad de una perra en estro precisamente cuando se necesita puede ser difícil y a menudo imposible (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000; Foster *et al.*, 2001).

Alternativamente, una perra no estrol de la misma raza y tamaño puede usarse (England *et al.*, 2000) si es impregnada con una feromona canina tópica comercial basada en metil-p-hidroxibenzoato [Eau d'éstrus, Synbiotics corporation] (Allen, 1992; England *et al.*, 2000) y se le permite olfatear a la vulva (Davol, 2001), también el ácido metil ester hidroxibenzoico funciona (Corona, 2001).

Otra práctica común es preservar hisopos de algodón o gasas de algodón que han sido impregnadas en la vagina de una hembra cuando estaba en su pico estrol son congeladas y puestas en bolsas zip-lock hasta que sean requeridas (Fayrer, 1996).

Al momento de la colección de semen, simplemente se coloca delante del hocico del perro (Allen, 1992) o pueden pasarse alrededor del área de la cola de cualquier perra o perro (incluso uno castrado) en el macho responderá entonces a ella así como si ella estuviera en calor (Foster *et al.*, 2001).

5.1.3 Lugar.

Los perros sin experiencia es improbable que eyaculen el perro suele ser llevado a un lugar que le resulte extraño, donde no este acostumbrado a trabajar hecho que puede inhibir incluso a un perro experimentado (Allen, 1992). Por lo que es muy importante elegir un sitio conocido por el perro (Corona, 2001).

La colección debe realizarse en un lugar no muy grande, con piso antiderrapante y sin ruidos, ya que el perro con frecuencia muestra un comportamiento púdico (Fontbonne, 1996; England *et al.*, 2000).

Las razas pequeñas suelen aparearse sobre una mesa provista de una superficie adecuada, las razas grandes se aparean sobre el suelo con distintos grados de ayuda por parte del hombre (Allen, 1992); muchos animales se inhiben al ser subidos a una mesa (Fontbonne, 1996).

5.1.4 Preparación del Equipo.

Es esencial mantener la esterilidad en todo momento. Todo el equipo utilizado debe ser apropiadamente esterilizado con gas o calor. En la mayoría de los casos, todos los artículos de látex deben ser esterilizados con gas (óxido de etileno) y seguidamente aireados durante por lo menos 2 a 3 semanas (Fayrer, 1996; Davol, 2001).

Se debe calentar y aislar el equipo de colección para asegurar que las muestras colectadas no reciban choque por temperatura (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

También, muchos elementos del equipo son tóxicos para el espermatozoide canino. Por consiguiente, todos los tubos de plástico, jeringas y pipetas deben probarse antes de su uso rutinario (England *et al.*, 2000).

Es importante notar que ciertos factores externos como temperaturas extremas, exposición a lubricantes y químicos encontrados en látex y recipientes de plástico usados para la colección de esperma pueden afectar adversamente el esperma o su motilidad. Por consiguiente, los dueños de sementales que utilizan dispositivos caseros para la colección de semen deben asegurarse de que los materiales usados no tengan efecto colaterales tóxicos sobre los espermatozoides; esto también se aplica a los métodos por desinfectar el equipo (Davol, 2001).

5.2 Equipo Necesario.

Allen (1992) sugiere el siguiente equipo como necesario para la colección de semen canino:

- 1 o 2 Embudos de cristal o plástico
- 1 o 2 tubos de ensayo de cristal o plástico, el plástico es irrompible aunque debido a su peso ligero puede ser desalojado de la mano por la cola o unja extremidad del perro.
- Un baño Maria, mantenido preferentemente de forma automática a 37° C .
- Un soporte para tubos de ensayo en el baño Maria.
- Porta objetos y cubre objetos
- De forma ideal, un dispositivo calentador capaz de mantener un cubre objeto a 37 C (una botella plana llena de agua caliente puede servir para colocar los porta objetos sobre la misma y mantenerlos calientes)
- Pipetas
- Colorante nigrosina eosina
- Un microscopio con objetivo de inmersión para grandes aumentos
- Una cámara de Neubauer para recuento de células
- Equipo para diluir el esperma a 1/200

Casi cualquier receptáculo caliente puede usarse para coleccionar el semen pero la mayoría de las bolsas "whril pak "estériles" se usan jeringas y otros objetos duros deben evitarse como el pené es fácilmente traumatizable durante la colección y puede aparecer un engrosado sustancial en el eyaculado.

Esto no parece de crecer la fertilidad en perros pero interfiere con la evaluación de semen y por su puesto alarma a los dueños (England *et al.*, 2000).

El material más sencillo para coleccionar el semen es un embudo y un tubo de ensayo de vidrio y un guante para manipular el pené con la mano enguantada. Es más práctico el embudo de látex (Esquivel *et al.*, 2001).

Synbiotics Corporation fabrica equipo para la colección de semen. Típicamente, el dispositivo consiste en un cono de caucho adherido a un tubo centrífugo de plástico (Davol, 2001).

5.3. Métodos de colección del semen

5.3.1. Manual.

Un excelente eyaculado puede obtenerse solo de colección manual. El semen canino es fácilmente coleccionado mediante masturbación con mano enguantada o desnuda (Fayrer, 1996; Martín, 1996; England *et al.*, 2000). Además de obtenerse un excelente eyaculado (England *et al.*, 2000) es el método de elección en el caso del perro (Fontbonne, Esquivel *et al.*, 2001).

5.3.1.1. Preámbulo.

Cuando colectamos el semen canino, es esencial recordar varios hechos. Primeramente, el pené del perro contiene un hueso peniano ligeramente frágil que queda en la porción ventral del eje del pené y se extiende del extremo del bulbo del glande hasta cerca de la punta del glande (Sisson *et al.*, 1993; Fayrer, 1996). El hueso peniano permite introducir el pené parcialmente erecto en la vulva antes de complementar la erección. Un hueso peniano excesivamente pequeño o dañado limitara la capacidad del perro como semental (Fayrer, 1996).

Es esencial identificar y reconocer la importancia del bulbo del glande. El bulbo esta en el eje proximal del pené y es capaz de crecer de 2 a 3 veces su tamaño durante la erección. El bulbo normalmente no crece hasta que la penetración se ha complementado. En ese momento, la expansión del bulbo dentro de la vulva y las contracciones musculares de la vulva permite formación de la cerradura genital. La posición del bulbo en el vestíbulo vaginal constituye a la unión (Fayrer, 1996).

Las uniones pueden clasificarse como externas e internas. Una unión interna es el resultado de penetración completa y mantenimiento del bulbo dentro de la porción vestibular del tracto reproductor. Frecuentemente debido a muchas razones, incluso inexperiencia o erección prematura o un bulbo excesivamente grande, no forma una cerradura genital completa; esto se denomina una unión externa (Fayrer, 1996).

El perro una vez establecida la cerradura genital, se colocara de tal manera que ambos quedan en posición caudo caudal. Esto es facilitado por la porción fibroelástica del pené proximal al bulbo que puede rodar 180° sobre su eje horizontal. Es indispensable hacer completamente familiar el hecho que éste es un plano horizontal de movimiento. Mientras se realiza la colección, el perro caminará a menudo encima de la mano del colector

como en una unión normal no se debe intentar mover el pene en cualquier forma de arco ventral; el movimiento natural es un giro de 180° del pene en un plano horizontal, es decir, paralelo a la espina dorsal. (Allen, 1992; Fontbonne, 1996; Fayrer, 1996).

5.3.1.2. Técnica.

La perra celadora se sujeta convenientemente por la cabeza o por el cuello por un ayudante (Allen 1992; Fontbonne, 1996), se deja que el perro olfatee y lama la vulva de la perra (Allen 1992; England *et al.*, 1996).

La masturbación y la colección se realizan mejor con su mano de escritura, posiciónese en el lado apropiado del perro (Fayrer, 1996).

Se estimulará el pene del perro a todo lo largo con movimiento cráneo caudal, al mismo tiempo que se va desenvainando, una vez que el pene este libre del prepucio se rotará suavemente hacia atrás en un plano horizontal hasta que se dirija caudalmente (Fayrer, 1996; Esquivel *et al.*, 2001). Normalmente, se dirige al lado al que le perro está intentando caminar encima del pene como lo haría normalmente en una unión normal (Fayrer, 1996); aunque según Fontbonne (1996) la inversión del pene hacia atrás no siempre es necesaria.

La fuerza de presión es inconstante y es mejor empezar suavemente y aumentar a efecto (Fayrer, 1996), se seguirá estimulando detrás y encima del bulbo, hasta que eyacule el perro (Esquivel *et al.*, 2001).

Si el bulbo del glande aparece tumefacto, el prepucio será empujado hacia atrás para dejar expuesto todo el glande (Allen 1992), con ayuda del empuje pelviano, aunque este puede estar ausente (Fayrer, 1996).

De no haber ningún empuje el prepucio debe cambiarse de sitio detrás del bulbo antes de que excesivamente y se haga imposible el desplazamiento caudal. El desplazamiento del prepucio facilita la colección y mejora la calidad del eyaculado (Fayrer, 1996).

Si el bulbo del glande no aparece tumefacto, se realizarán masajes sostenidos sobre el prepucio (Allen, 1992; Fontbonne, 1996) asegure que el prepucio aloje proximalmente al bulbo, como en la unión normal. También puede hacerse una presión genital alrededor de la base del bulbo para estimular una erección completa y esta normalmente se asocia con varios grados de vigor en el empuje pelviano (Fayrer, 1996).

Si el bulbo del glande aparece demasiado inflamado no es posible sacar el glande del prepucio; el perro será separado de la hembra hasta que halla remitido la erección o puede intentar colectar el semen con el glande en el interior del prepucio; este proceso puede resultar incomodo para el perro (Allen, 1992; England *et al.*, 2000); por lo que es mejor estar seguro que el bulbo este fuera del prepucio antes de que se extienda (England *et al.*, 2000).

Tras exponer el bulbo del glande (Allen, 1992; England *et al.*, 2000), se sujeta la base del glande entre los dedos índice y pulgar; produciendo la coaptación vaginal que se produce durante el coito (Fontbonne, 1996) se mantiene sujeto con firmeza o se le aplican contracciones rítmicas (Allen, 1992) masturbándolo firmemente al punto de erección completa y muestre empuje pelviano (Fayrer, 1996).

La presión sobre la base en el pene estimulará la tumefacción del bulbo del glande con o sin movimientos de empuje por parte del perro (Allen, 1992; Fayrer, 1996). Si estos protocolos se siguen, la eyaculación empezará (Fayrer, 1996).

Después de la erección se coloca un cono de colección sobre el pene (Fontbonne, 1996) o una bolsa de plástico (England *et al.*, 2000).

Con independencia de una tumefacción prematura del bulbo del glande un problema importante aparece cuando se intenta exponer el pene en razas de pelo largo, y a razas pequeñas en las que resulta difícil la sujeción del pene (Allen, 1992).

Durante los movimientos violentos de empuje no es momento para la colección del eyaculado por que será la primera fracción carente de espermatozoides, por lo que se elimina (Allen 1992).

Si se colecta la primera fracción, puede comprobarse que se trata de un fluido claro (Allen, 1992; Fayrer, 1996; Davol, 2001) a ligeramente turbio de gotas hasta 3 ml (England *et al.*, 2000).

Tras la expulsión de la primera fracción se eyacula la segunda, rica en espermatozoides (Allen, 1992; Fayrer, 1996) de color blanco con un volumen de 0.5 (Allen, 1992) a 6.0 ml, a menudo se mezcla con la primera fracción y sólo un eyaculado ligero gris opalescente es obtenido (England *et al.*, 2000) mediante 4 a 10 concentraciones uretrales; si es posible se recogerá por separado en el segundo tubo de ensayo (Allen 1992). En esta fase ocurre el empuje pelviano más vigoroso (Allen, 1992; Fayrer, 1996).

Es esencial proteger el tubo colector durante la recuperación de semen guardándolo con la mano para mantenerlo cerca de la temperatura corporal y prevenir choque por frío. Secundariamente, la mano también protege el esperma de los efectos sumamente perjudiciales de luz ultravioleta (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

En ocasiones el volumen de la primera fracción puede aproximarse a 5 ml; si posteriormente un perro nervioso no elimina la fracción rica en espermatozoides, será preciso hacer una colección posterior (Allen, 1992). Tras la expulsión de la fracción rica en espermatozoides, pueden producirse varias concentraciones uretrales no productivas hasta que es eyaculada la tercera fracción (Allen, 1992) que pueden palparse si se mantiene presión firme alrededor del bulbo; en el ano también se observan contracciones rítmicas. El perro puede dejar de eyacular por varios minutos y las pulsaciones continuaran (England *et al.*, 2000).

Antes de eyacular el tercer fragmento el perro normalmente desmontara e intentara caminar encima del brazo del colector (Allen, 1992).

La tercera fracción es el fragmento prostático de color claro (Davol, 2001). Según Allen (1992) y Fayrer (1996) este fragmento puede variar en volumen de 1 a 20 ml y puede depender del protocolo de la colección; puede aumentar el volumen hasta aproximadamente 60 ml (England *et al.*, 2000).

Si la segunda fracción es muy concentrada y de pequeño volumen, pueden ser necesarios varios cachorros de la tercera fracción para arrastrarla del embudo de colección y llevarlo al tubo de ensayo (Allen, 1992).

La mayor parte de la tercera fracción es recogida en el tubo de ensayo que contiene la primera, o se deja que el perro acabe de eyacular sobre el suelo (Allen, 1992). Sin embargo, para la valoración completa de la función reproductora masculina, es a menudo aconsejable coleccionar el fluido prostático separadamente con el propósito de realizar un cultivo rutinario (Davol, 2001).

La eyaculación ocurre intermitentemente a través de un periodo inconstante, de 5 a 45 minutos y el volumen total puede variar de 1 a 40 ml (Fayrer, 1996; Fontbonne, 1996; England *et al.*, 2000).

Después de la colección está completa, el macho se observa hasta que su erección disminuye (England *et al.*, 2000) y el pene sea reemplazado en el prepucio y prevenir desecamiento de mucosa peneal y trauma (Fayrer, 1996).

La parafimosis puede ocurrir después de la colección si el prepucio queda distal al bulbo y este esta agrandado restringe su movilidad y es estrangulado por el prepucio sosteniendo la erección (Fayrer, 1996).

Si el pene esta expuesto, se lubrica el glande y se intenta reducir la parafimosis (Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

El perro nunca debe ser enjaulado o enviado a casa hasta que el pene este completamente dentro del prepucio (England *et al.*, 2000).

5.3.1 Cono Artificial

El tubo de ensayo puede unirse a un cono de látex, que se coloca sobre el pené del perro; este método no resulta ideal por que dificulta la colección de las fracciones por separado y por que el látex es tóxico para el esperma (Allen, 1992).

5.3.2 Vagina Artificial.

La dificultad de disponer a una extensa gama de tamaños de vaginas artificiales para poder ser usadas sobre animales cuyos tamaños pueden variar desde el Chihuahua al Gran Danés, alto costo del sistema y limpieza engorrosa (Fontbonne,1996), ocasiona que raramente una vagina artificial (VA) sea usada en las colecciones actualmente (Fayrer,1996), sin embargo, algunos operadores encuentran la masturbación como un proceso desagradable y prefieren usar una vagina artificial (England *et al.*, 2000).

Se han descrito lo obtención de mayores volúmenes de eyaculado obtenido con vagina, pero no parece incrementado el número total de espermatozoides, por lo que tan solo se consigue incrementar la parte prostática (Fontbonne, 1996).

Consiste básicamente en un tubo cilíndrico lleno de agua caliente; resulta un procedimiento totalmente inadecuado por que es innecesaria; su empleo es complicado o incómodo; permite un contacto prolongado entre el esperma y la cubierta de látex que puede originar la inmovilidad total de los espermatozoides (Allen,1992); ya que el látex es espermicida. Además, están vaginas artificiales no pueden ser esterilizadas porque los residuos de esterilización con gas también son tóxicos a los espermatozoides todo esto la hace no adecuada para colectar semen canino (England *et al.*, 2000).

5.3.4 Electroeyaculación.

La eyaculación permite obtener semen de todos los animales que poseen la vía neurológica implicada intacta. Sin embargo, una limitante es la necesidad de someter al animal a una anestesia general a fin de evitar las molestias que este método produce sobre el mismo. Esté método se reserva solo para animales sanos, para los cuales el procedimiento implica un riesgo mínimo (Stornelli *et al.*, 2002).

(Kojima, *et al.*, 2001) mediante un experimento para la colección y preservación de semen de osos japonés (*Ursus tibetanus japonicus*) uso un perro Beagle como modelo encontró que la concentración espermática y la cuenta de esperma total era más baja en semen colectado por electroeyaculación que en semen coleccionado por manipulación digital, pero su motilidad espermática, viabilidad y morfología eran similares.

5.4 Fracasos en la Colección.

El fracaso en la colección de una muestra puede desquiciar al perro y provocar un costo extra (Allen, 1992).

Los principales factores de fracaso en la colección del semen en los perros proviene de la edad (animales muy jóvenes o muy viejos), la experiencia (primera obtención). Del medio ambiente por ruidos, conversaciones, suelos resbalosos, exceso de personas presentes y la visión de las batas blancas (Allen, 1992; Fontbonne, 1996; Corona, 2001). Otras causas provienen del comportamiento del animal por un exceso de agresividad y por un efecto individual de la propia raza (las razas pequeñas son más tímidas). Los antecedentes patológicos como antiguas fracturas, cálculos uretrales y por último la ausencia de una perra en celo. (Fontbonne, 1996).

La colección de sementales de bajo libido incluso es difícil en la presencia de perras teaser y esto no es un buen presagio para su fertilidad (Fayrer, 1996).

6. EVALUACIÓN DEL SEMEN.

Después de coleccionar el semen, las células espermáticas se verifican macroscópicamente y microscópicamente (Martín, 1996; Foster *et al.*, 2001).

6.1 Manejo del Semen.

Davol (2001) advierte que el semen, como con todos los fluidos corporales, debe manejarse como material biológico potencialmente peligroso. Pueden transmitirse muchos organismos bacterianos caninos a los humanos durante la colección de semen y por consiguiente, el semen presenta un riesgo de salud potencial. En consecuencia, es esencial que el individuo colector y evaluador de semen practique las "medidas universales básicas de bioseguridad" considerando el semen como potencialmente infeccioso y tomando medidas razonables para reducir riesgos de infección (utilizando equipo protector como guantes y anteojos, lavarse las manos, desinfección apropiada o disposición de todo el equipo contaminado como material biológico peligroso).

Todos los perros involucrados en la colección de semen deben ser negativos a *Brucella Canis* (Fayrer, 1996).

6.2. Razones para la Evaluación

Las indicaciones en las que un veterinario puede realizar el examen seminal son:

- Como parte del protocolo de inseminación artificial (Allen, 1992; Birchard *et al.*, 1996; Fontbonne, 1996; corona, 2001).
- Para investigar el efecto de enfermedad prostática sobre la calidad del semen (Allen, 1992).
- Comprobar la calidad y producción del semen después de enfermedad o terapias (Allen, 1992; Corona, 2001).
- En los controles de fertilidad para confirmar la espermatogénesis normal de un perro joven antes de comenzar a usarlo como semental (Allen, 1992; Corona, 2001).
- Determinar la posible infertilidad de un semental (Allen 1992; Fontbonne, 1996; Corona, 2001).

En los dos últimos casos el examen deberá de ser muy exhaustivo y completo, mientras que en la colección para IA solo será necesaria la parte inicial del espermiograma (motilidad individual y progresiva) (Birchard *et al.*, 1996; Fontbonne, 1996).

6.3 Limitaciones de la Evaluación.

La muestra debe mantenerse caliente (Allen, 1992; England *et al.*, 200); debido a que un descenso rápido de la temperatura puede originar una alteración mediante choque por frío de los espermatozoides; esto es poco frecuente en el semen del perro por ser relativamente resistente al frío; el semen suele recogerse a temperatura ambiente (Allen, 1992) y se verifica poscolección inmediatamente (Fayrer, 1996) ya que la motilidad celular espermática disminuye en presencia de temperaturas a menores a 30°C, y luz ultravioleta, hechos que proporcionan una falsa impresión sobre la calidad de la muestra (Allen, 1992; Fayrer, 1996); lo que hace dependiente de la temperatura (England *et al.*, 2000).

England *et al.*, (2000) sugiere una temperatura convencional entre 37 a 39 °C, sobre todo la última que es más apropiada ya que es la temperatura media en la vagina de las perras (Iguer *et al.*, 2001) sugiere una temperatura de 38°C como más óptima para el análisis de semen.

6.4 Evaluación de la Muestra.

Ninguna característica por sí sola es una medida precisa de fertilidad, para que un macho se considere aceptable como semental, a evaluación del semen debe exceder los criterios mínimos sugeridos para porcentaje de motilidad de espermatozoides, concentración espermática por eyaculado y morfología del esperma (Birchard *et al.*, 1996).

Para evaluar el semen eficazmente se debe usar el fragmento espermático rico del eyaculado con la cantidad mínima de contaminación de fluido prostático. El semen debe coleccionarse bajo las condiciones óptimas y debe protegerse de los cambios en la temperatura y la luz (Fayrer, 1996).

6.4.1. Evaluación Macroscópica.

Se realiza inmediatamente poscolección e incluye el volumen, color, olor y pH (Allen, 1992; Fayrer, 1996; Martín, 1996; England *et al.*, 2000; Corona, 2001).

6.4.1.1 Volumen

El volumen de semen no es importante (England *et al.*, 2000) pues no esta relacionado con la fertilidad (Corona, 2001).

La fracción espermática puede medir desde 0.5 (Allen, 1992) hasta 6 ml, y a menudo se mezcla con la primera fracción o la tercera pudiendo aumentar el volumen hasta 60 ml (England et al., 2000); varía de acuerdo a edad, tamaño del perro, frecuencia de colectas, cantidad colectada de líquidos prostático, época del año, etc. (Corona 2001).

Cuando se tiene experiencia, la consistencia de la muestra será una buena orientación para decidir si contiene un número suficiente de espermatozoides (Allen, 1992).

6.4.1.2 Color.

El color normal de semen es blanco a blanco o opalescente (Fayrer, 1996) y opaco (Birchard *et al.*, 1996). Pueden aparecer un sobrenadante prostático claro o blanco grisáceo homogéneo (England *et al.*; 1996; Fayrer, 1996; Corona 2001) o verde amarillento que denota la presencia de neutrofilos (Fayrer 1996), con grumos o sin ellos, hojuelas o coágulos (Birchard *et al.*, 1996).

Un color café tierra del semen denota a menudo una prostatitis y la infección coexistente (Fayrer, 1996).

Amarillo normalmente indica contaminación con orina (Fayrer, 1996; Corona, 2001), que es espermicida y tóxico para el esperma (Fayrer, 1996). Puede apreciarse la coloración de la muestra con sangre (Allen, 1992) como una coloración rojiza que indica hemorragia o falla coagulativa (Corona, 2001). A este fenómeno se le denomina hemospermia y se debe determinar el origen del sangrado ya sea por el traumatismo peneano, prepucial, uretral o hemorragia prostática (Birchard *et al.*, 1996; Fayrer, 1996).

El sangrar es a menudo inducido durante las colecciones rutinarias con la ruptura de los vasos sanguíneos pequeñas de la uretra y no debe ser un problema si no es recurrente (Fayrer, 1996).

Cualquier agente (Orina, pus, Sangre) que contamina el semen afecta la concentración, la mortalidad y la vía de los espermatozoides (Birchard *et al.*, 1996).

6.4.1.3 Olor

Su olor normal es característico, como a sosa o cloro, ligeramente aromático; su modificación es considerada patológica y por lo general es debido a contaminaciones (Corona, 2001).

6.4.1.4 pH

Fontbonne (1996) menciona que el semen tiene un pH ligeramente ácido entre 6,4 y 6.6; sin embargo, Corona (2001) dice que es normal que se encuentre en un rango de 6.3 a 7 y que dependerá de la cantidad de líquido prostático de la tercera fracción, además de evaluarse con la tira reactiva.

6.4.2. Evaluación Microscópica.

El examen microscópico del esperma debe realizarse inmediatamente después de recolectarlo (Birchard *et al.*, 1996) e incluye la evaluación de la motilidad, concentración, morfología (lo que las células individuales de esperma parece), de manera convencional, además, presencia de otras células (células prostáticas, células blancas de sangre, células rojas) y microbiología (Allen, 1992; Fayrer, 1996; Martín, 1996; England *et al.*, 2000; Corona, 2001).

6.4.2.1. Motilidad

La motilidad se evalúa de una manera subjetiva con el porcentaje espermático expresado como un porcentaje de motilidad espermática progresiva (England *et al.*, 2000) y debe examinarse rápidamente, esta disminuye conforme al semen se enfría (Ward, 2000).

Para examinar la motilidad es esencial que el evaluador use un porta objeto y cubreobjeto caliente (Fayrer, 1996).

El porcentaje de espermatozoides con movimiento activo se ve afectado por cambios extremos de temperatura, dilución en medios ácidos, presencia de agua, orina, pus, sangre o exceso de lubricante en el cono o vagina artificial (Allen, 1992; Birchard *et al.*, 1996; Corona, 2001).

El fluido prostático es un buen diluyente si se requiere para estimar la motilidad (Davol, 2001).

A) Motilidad Grosera.

Inicialmente, la motilidad grosera a poder bajo (10x) es evaluada poniendo una gota de esperma en el portaobjeto. El semen normal debe tener de 70 a 80% de motilidad y puede describirse como una ventisca revuelta por efecto del resultado de concentración células espermáticas y motilidad. Ambos parámetros deben ser altos para ver los espermatozoides arremolinarse. Si se ha diluido el semen excesivamente con fluido prostático decrece la oportunidad de ver a los espermatozoides arremolinarse [movimiento ondulatorio] (Fayrer, 1996).

El semen del perro pocas veces resulta tan denso que determine el movimiento ondulatorio observando en el semen del toro o del carnero (Allen, 1992).

Calificación de la Motilidad Grosera.

La motilidad grosera se anota en un escala de 0 a 5 absolutamente ningún movimiento de células espermáticas se anota como un cero, mientras el efecto de remolino se anota como un 5 a menudo es más productivo calificar al semen con movimiento rápido, aunque no ondulatorio con 5 (Fayrer, 1996).

B) Motilidad Individual.

La motilidad individual se valora colocando una gota de semen sobre un portaobjetos tibio, y se observa al microscopio con objetivo de 40X [seco fuerte] (Allen, 1992; Fayrer, 1996; Corona, 2001).

Se calcula el porcentaje (hasta lo mas próximo al 10%) de lo espermatozoides que nadan activamente, en líneas relativamente rectas a través del campo de visión (Allen, 1992), es decir, la proporción de motilidad progresiva lineal (Fayrer, 1996).

Los espermatozoides que nadan describiendo círculos presentan anomalías en la cola (Allen, 1992; Fayrer, 1996) o que se mueven de lado a lado sin mostrar movimiento hacia delante no son normales (Birchard *et al.*, 1996). Se tomará nota del movimiento oscilatorio aunque no constituyen un buen síntoma (Allen, 1992).

Los espermatozoides pueden verse agrupados unos con otros y con células epiteliales o macrófagos (Allen, 1992) que puede deberse a aglutinación por *Brucella canis* o anticuerpos denominados antiesperma (Ward, 2001), también pueden verse células pequeñas redondas [eritrocitos o neutrofilos] Para realizar su diferenciación puede ser necesario realizar una extensión hematológica (Allen, 1992).

Allen (1992) ha observado una motilidad de 90 a 95% en muchos perros fértiles y dice que una motilidad inferior al 80% de forma progresiva puede indicar un descenso de la fertilidad. Aunque England *et al* (2000) establece un rango de 60 a 90% para la motilidad progresiva, mientras que Birchard *et al* (1996) y Corona (2001) menciona que la muestra de semen normal contiene mas de 70% de los espermatozoides que se desplazan hacia delante (motilidad progresiva).

Si se observa una motilidad espermática pobre consistentemente, debe considerarse causas infecciosas y/o inflamatorias (Ward, 2001).

Calificación de la Motilidad Individual.

La motilidad individual también califica en una escala de 0 a 5 una regla rígida del manejo de buena motilidad [4] le permite al operador determinar simplemente la forma de cómo atraviesa el campo de visión. Una motilidad extremadamente buena [5] es cuando la estructura de células de esperma apenas perceptible atraviesa el campo de visión el esperma normal debe exhibir movimiento progresivo hacia delante y debe marcar 2.5 a 5 o más de 5 (Fayrer, 1996).

Solo los espermatozoides con motilidad IV tienen motilidad normal. Aunque se ha sugerido que una carencia de motilidad espermática es el mejor predictor de esterilidad actualmente, aunque todavía, no hay estudios suficientes para probar semejante relación. La mayoría de los perros fértiles tienen más del 70% de motilidad en la categoría 4 (England *et al.*, 2000).

Corona (2001) sugiere la siguiente escala para el puntaje de motilidad:

10. Movimiento progresivo máximo, con desplazamiento en espiral.
9. Movimiento de la cabeza de lado a lado provocando movimiento espiral similar al puntaje 10.
8. Igual al 10 pero más lento.
7. Igual al 9 pero más lento.
6. Movimiento de pescado [se mueve de lado a lado sin movimiento progresivo].
5. Movimiento circular.
4. Igual al tipo 5 pero más lento.
3. El espermatozoide permanece en su lugar o movimiento rápidos de lado a lado con rotación en sentido de las manecillas del reloj.
2. Igual que el 3 pero más lento.
1. Movimiento de cola de lado a lado pero sin rotación (puede ser rápido o lento).

6.4.2.2 Concentración.

Fontbonne (1996) establece un promedio de concentración espermática de 500,000 células por mm^3 y Corona (2001) menciona un número de 200 a 1000 mil millones de espermatozoides por mm^3 .

El número de espermatozoides en un eyaculado varía dependiendo en parte de la edad, peso testicular, actividad sexual y posiblemente la estación del año (Birchard *et al.*, 1996; England *et al.*, 2000) dice que se ha demostrado una relación entre la raza del perro y el número de espermatozoides eyaculados y que las razas más grandes generalmente producen más espermatozoides.

Se piensa que la fertilidad normal es posible cuando la cuenta espermática es mayor de 200 millones de espermatozoides normales vivos en un eyaculado (Birchard *et al.*, 1996; England *et al.*, 2000). Menos de 100×10^6 células del total han sido asociadas con fertilidad (Fayrer, 1996).

Cuando se lesionan los tubos seminíferos a consecuencia de enfermedad escrotal o testicular, la cuenta espermática puede reducirse durante un periodo que varía de semanas a meses (Birchard *et al.*, 1996).

Según Corona (2001) se puede hacer una estimación práctica de la concentración espermática del semen canino de la siguiente manera:

Estimación Cuantitativa Grosera.

- Se coloca 0.01 ml de espermatozoides en un portaobjetos.
- Se coloca un portaobjetos de 18 X 18 mm.
- Se valora a partir de la distancia entre las cabezas:
 - <200 mil = distancia 1/3 de la longitud;
 - 500 a 1000 = distancia = a la cabeza;
 - > 1000 = distancia de media cabeza.

Sin embargo para la estimación más precisa los espermatozoides se cuentan empleando un hemocitómetro (Birchard *et al.*, 1996; England *et al.*, 2000; Corona, 2001).

6.4.2.3 Porcentaje Vivo.

El porcentaje vivo de la población celular espermática puede determinarse con el nivel 40X contando 10 células espermáticas y determinado el número de células motiles. Este procedimiento se repite 4 a 5 veces y el promedio se toma. La motilidad y porcentaje vivo son consideraciones importantes cuando se calcula la dosis de la inseminación para la perra (Fayrer, 1996).

6.4.2.4 Morfología.

Los espermatozoides del perro mide alrededor de 62-66mm. La cabeza es aplanada dorso ventralmente y mide de 4 a 5 nm. La parte intermedia mide entre 6 y 6,6nm. El flagelo es el elemento propulsor del espermatozoides y está organizado alrededor de un filamento axial y mide aproximadamente 55 nm, actúa como una hélice haciéndole avanzar en los líquidos que lo contienen como plasma seminal o secreciones útero-vaginales (Fontbonne, 1996).

Fayrer (1996) dice que en un eyaculado normal debe tener más de 80% de espermias normales morfológicamente; mientras que para England *et al* (200) una morfología normal se encuentra entre 70 a 90% y Ward (2000) menciona que un 75% es suficiente.

El mejor procedimiento para determinación de la morfología espermática consiste en el empleo de una combinación relativamente simple de colorantes, nigrosina eosina conocida como "tinción vital" (Allen, 1992; Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000). La muestra deberá ser teñida tan pronto como sea posible después de su colección (Allen, 1992).

Allen (1992) describe la técnica para la tinción como sigue:

- Colocar varias gotas del colorante nigrosina y eosina en un tubo de ensayo y dejarlo calentar en el baño maría por 2 minutos.
- Añadir una gota de semen (tras realizar una mezcla, cuando los espermatozoides se han sedimentado).
- Inmediatamente, una pipeta limpia, colocar una gota de la mezcla colorante y semen y sobre un portaobjeto limpio.
- Usando un segundo portaobjeto colocando un ángulo de 45°, realizar una extensión fina de material sobre el primer portaobjeto, al igual que se hace en la preparación de una extensión hematológica.
- Dejar secar la extensión (esto suele ser bastante rápido).
- Observar el portaobjetos con objetivo 100X en inmersión; si los espermatozoides se encuentran en su totalidad unos sobre otros se realizara una segunda extensión usando un mayor volumen de colorantes; si los espermatozoides son muy escasos, puede hacerse otra extensión usando menos colorante.
- Se examinan 100 espermatozoides y se clasifican como vivos y normales o, como muertos y anormales.

La silueta de los espermatozoides aparecen en la extensión sobre un fondo negro por la nigrosina (Allen, 1992).

La eosina es un tinte vital y se excluye de las células vivas con membranas del plasma ilesas por lo que los espermatozoides normales no se tiñen. En el caso de células con membranas dañadas las células se tiñen de rojo por penetración de la eosina, que normalmente son células muertas o agonizantes (Allen, 1992; Fayrer, 1996; England *et al.*, 2000).

Pueden usarse procedimientos más complejos para teñir porciones específicas de los espermatozoides en estudios especializados (Allen, 1992).

La morfología de la célula espermática se subdivide en tres grupos. Células normales, anormales primarias y anormales secundarias (Allen, 1992; Fayrer, 1996; Corona, 2001).

Basándose en Allen (1992) y Corona (2001) puede hacerse la siguiente clasificación morfológica.

Anormalidades Primarias:

- A) Doble flagelo
- B) Cola doblada
- C) Microcéfalo
- D) Macrocéfalo
- E) Cabeza alargada
- F) cabeza redonda
- G) cabeza doble
- H) cabeza periforme

Anormalidades Secundarias:

A) cabeza y cola sueltas

B) anomalías de la cabeza

- Cubierta acrosomal separada [acrosomas desprendidos y edematosos].
- Acrosomas protuberantes.
- Defecto de cráter

C) anomalías en el cuello

- Cuello torcido
- Cuello roto
- Gota citoplasmática distal

D) Anomalías de la cola

- Cola torcida

Cola enrollada Allen (1992) interpreta las anomalías secundarias de la siguiente manera:

Anomalías del Acrosoma: El acrosoma resulta esencial para la fusión del espermatozoide con el óvulo; un desprendimiento o separación prematura del acrosoma puede indicar capacitación precoz [un proceso de maduración que suele producirse cuando el esperma se encuentra en el tracto genital femenino y que debe tener lugar antes de que el espermatozoide pueda penetrar en el óvulo]. Generalmente, en el semen canino solamente se observa un pequeño número de acrosomas protuberantes; en otras especies, un número elevado de acrosomas protuberantes pueden originar esterilidad.

Defecto de cráter: Indica probablemente que no se han formado correctamente las partes del DNA en la cabeza.

Anomalías en el cuello: En algunos perros la infertilidad es causada por la interrupción en la continuidad del cuello y la pieza media asociada con anomalías de las mitocondrias; en el cuello y a lo largo del resto de la pieza media se observan abultamientos irregulares [marcas].

La curvatura del cuello o separación de la cabeza pueden ser consecuencia de una manipulación brusca de la muestra; normalmente en una muestra única aparecen muy pocos espermatozoides con esta anomalía.

Las gotas citoplasmáticas proximales son abultamientos lisos unilaterales en la pieza media proximal (cuello); son restos del citoplasma de la célula precursora del espermatozoide, la espermátida.

Los espermatozoos presentes en la cabeza del epidídimo poseen normalmente gotas proximales; tales espermatozoos no son capaces de realizar inmediatamente la fertilización; la presencia de gotas proximales indica probablemente un paso acelerado de los espermatozoos a través del epidídimo.

Anomalías en la pieza media: La gota citoplásmica distal que se localiza en el extremo distal de la pieza media y representa la migración de la gotita proximal y es considerada normal.

Anomalías en la cola: Las formas anormales de la cola no permiten el movimiento progresivo del espermatozoide y pueden dificultar tanto su recorrido hacia la trompa de Falopio como su capacidad para penetrar en el óvulo.

La técnica de tinción puede influir sobre la morfología, por ejemplo algunos preparados de eosina y nigrocina pueden torcer la cola de los espermatozoides (Allen, 1992).

Esta practica es de valor cuestionable otros animales domésticos, pero se ha mostrado en los perros que cuando el porcentaje de esperma normal vivo declina por debajo del 60% hay, estadísticamente una reducción significativa en su fertilidad; esto no significa que los perros con valores más bajos son infértiles, o de fertilidad subóptima (England *et al.*, 2000); aunque hay informes de 87 a 92% de espermatozoides anormales (gotas citoplásmicas proximales) en perros fértiles (Fayrer, 1996).

Ward (2000) dice que la esterilidad del macho proviene típicamente de defectos primarios en la célula espermática, es decir, de anomalías primarias que pueden ser resultado de varios procesos de enfermedad.

6.4.2.5 Presencia de Otras Células.

Con el avance de la edad la incidencia de enfermedades inflamatorias prostáticas aumenta (Fayrer, 1996).

La presencia de células epiteliales, células rojas sanguíneas, células inflamatorias, y las células epiteliales germinales son identificadas bajo amplificación baja. Todas las células que no sean esperma [dells other than sperm: COTS] son fáciles de ver si se hace una tinción con Wright, Giemsa o Diff Quick pero difícil de diferenciar usando tinciones comunes de morfología espermática (England *et al.*, 2000).

A) leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) y macrófagos.

Pueden proceder de la próstata aunque es mas corriente que sean contaminantes procedentes de la superficie del pene y de la mucosa interna del prepucio (Allen, 1992; England *et al.*, 2000); la mayoría de los perros se resisten a la limpieza del pene para eliminar esta película de células antes de la colecta. Los espermatozoides pueden verse con frecuencia adheridos a los macrófagos aunque en general la motilidad de la muestra no es afectada por los neutrófilos (Allen, 1992).

La enfermedad de la próstata puede afectar la fertilidad por que la sangre puede influir en la debilidad del esperma en algunos casos esto es improbable en los perros; se desconoce el efecto de la infección prostática [Excreción de neutrófilos] sobre la función de los espermatozoides; los fármacos usados para reducir el tamaño de la próstata [estrógenos y progestágenos] pueden inhibir también la espermatogénesis (Allen, 1992).

B) Eritrocitos.

Se observan corrientemente en los eyaculados de perros con edades superiores a los 5 años. Tienen origen indudablemente en la glándula prostática y suelen aparecer sin que exista enfermedad clínica, incluso cuando aparece gran número, no suelen influir sobre la motilidad de los espermatozoides [no sucede así en otras especies] (Allen, 1992).

Grandes números de células inflamatorias, neoplásicas, o rojas pueden indicar enfermedad de la próstata. Estos cambios también pueden afectar al esperma y reducir la fertilidad. El semen de un semental que no ha eyaculado recientemente puede contener restos de células epiteliales que en el semen de un semental usado frecuentemente, pero si cantidades grandes de restos o esperma muerto están presentes, una segunda muestra debe de colectarse 24 horas después (England *et al.*, 2000).

Ward (2000) cree que existe una lata incidencia de esterilidad subclínica causada por enfermedad prostática crónica, por lo que se debe tener en cuenta en el diagnostico de esterilidad en perros.

6.4.2.6. Microbiología.

El fragmento espermático y el fluido prostático pueden ser una fuente de bacterias. Esto puede ocasionar problemas reproductivos en la perra, desde vaginitis a piometra e infertilidad; las fracciones del esperma rico y prostático deben teñirse con tinción de Wright. Aunque esta tinción toma mucho más tiempo que Diff Quik, la diapositiva de tinción de Wright es diagnosticamente superior a Diff Quik. Se debe recordar que si al tinción de Wright se deja evaporar la tinción se sedimentara. Este sedimento puede diagnosticarse como una infección bacteriana por el observador inexperto (Fayrer, 1996).

La flora bacteriana es normalmente mixta, se encuentran más de 10,000 bacterias por ml. Estas bacterias, incluso *Streptococcus* spp beta hemolítico, se considera actualmente como organismos comensales, sin embargo, la sola presencia de muchas células blancas es una indicación para el cultivo bacteriano (England *et al.*, 200).

Cultivo y Sensibilidad.

La inversión en el linaje genético de muchos perros de pura sangre es enorme, malgastar este recurso a través de infecciones venéreas es irresponsable (Fayrer, 1996).

La presencia de células blancas de la sangre, sobre todo algunas degeneradas, o células de la sangre rojas, puede señalar infección y/o inflamación. Si la infección es sospechosa, deben realizarse los cultivos pertinentes (Ward, 2000).

Los cultivos deben obtenerse bajo las condiciones estériles óptimas (Fayrer, 1996).

El cultivo de la fracción del eyaculado rica en espermatozoides identifica a los microorganismos que se origina en testículos y próstata (Birchard *et al.*, 1996) y preferentemente debe estar libre de fluido prostático (Fayrer, 1996).

El cultivo de la fracción prostática es mas específico para describir macroorganismos provenientes de esta glándula Birchard *et al.*, 1996), también debe examinarse citológicamente. La presencia de números grandes de bacterias, o células de sangre roja y blanca, pueden señalar infección y/o inflamación (Ward, 200).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS.

- Guantes (Látex)
- Vaso de precipitado de 10 ml
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Microscopio
- Agua (Destilada)
- Pipeta de recuento de glóbulos rojos (bolita roja en la ampolla)
- Agitador
- Cámara (Neubauer)

Material Biológico

Todos los animales experimentados fueron proporcionados del archivo del Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.

Se colectaron 60 eyaculados mediante estimulación manual. Los donantes de semen fueron 10 perros: 2 Basset Hound, 1 Ganadero Australiano, 1 Ovejero Alemán, 1 Rootwailer, 1 Poodle, 4 Criollos, sexualmente maduros, con una edad promedio de 3.1 ± 1.73 años y un peso promedio de 19.1 ± 6.53 Kg. De cada eyaculado se recolectaron las tres fracciones, considerando que se ha descrito, que la tercera fracción presenta un efecto desfavorable en la conservación de semen a bajas temperaturas.

MÉTODO

El eyaculado se diluye 1: 100 con el agua destilada, tomando con una pipeta de recuento de glóbulos rojos el esperma hasta la marca 1, y el líquido de dilución hasta la marca 101 mezclar bien, agitando con movimientos laterales y circulares.

Se tiran las primeras gotas (contenido del capilar de la pipeta) y se llena la cámara de recuento con el esperma diluido que contiene la ampolla de la pipeta. Se cuenta 4 x 16 campos grandes (1:25 mm² cada uno). Se deben contar solamente las cabezas (también las que no tengan cola) que estén totalmente incluidas en cada campo y las que monten sobre las líneas izquierda e inferior. (Fayrer, 1996; England et al., 2000; Kraft Helmut, 1998).

Valoración de la concentración:

$$C = \frac{N}{64} \times 25 \times 10 \times 100$$

C = Concentración

N = Numero total de espermios contados

n = Números de campos considerados (64)

S = Superficie de cada campo 1/125 mm²

A = Altura de la camara. (1/10 mm)

F = Factor de dilución (1/100)

VII. RESULTADOS

La Concentración Espermática y el Volumen del Semen varia según la raza el día de la muestra.

CUADRO 1. VOLUMEN DE EYACULADO POR DIA

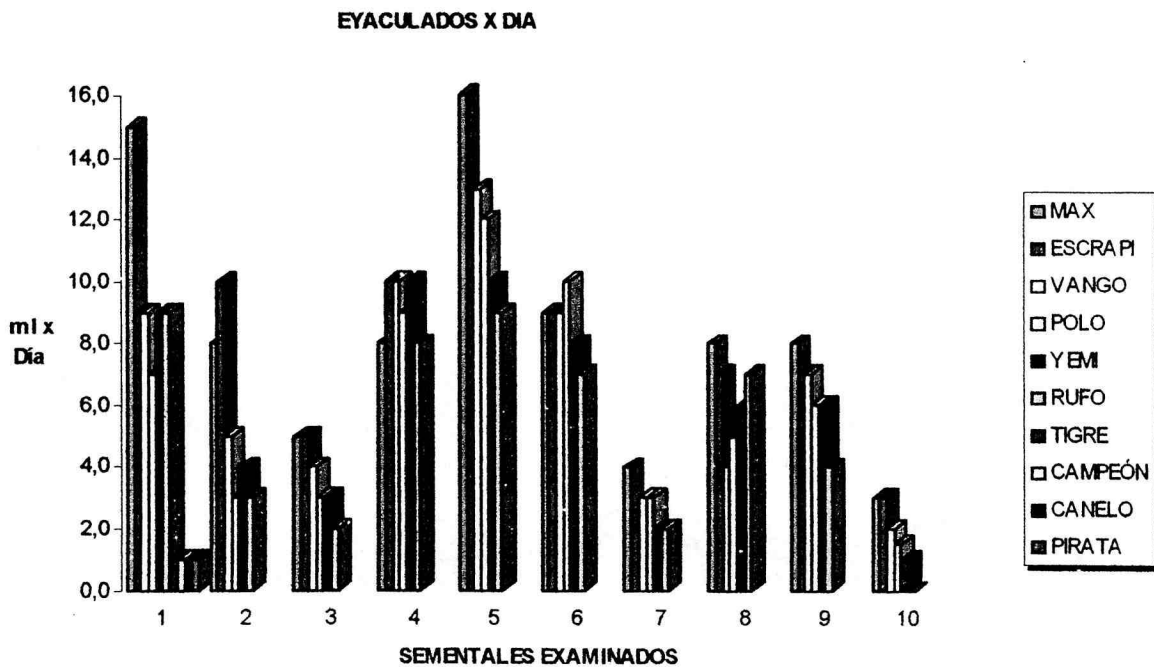
No.	Nombre	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	Max	15.0	9.0	9.0	7.0	9.0	9.0
2	Oso	8.0	10.0	5.0	3.0	4.0	3.0
3	Vango	5.0	5.0	4.0	3.0	3.0	2.0
4	Polo	8.0	10.0	10.0	9.0	10.0	8.0
5	Yemi	16.0	10.0	13.0	12.0	10.0	9.0
6	Rufo	9.0	7.0	9.0	10.0	8.0	7.0
7	Tigre	4.0	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0
8	Campeón	8.0	7.0	4.0	5.0	6.0	7.0
9	Canelo	8.0	7.0	7.0	6.0	6.0	4.0
10	Pirata	3.0	3.0	2.0	1.5	1.0	0.0

CUADRO 2. CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA TOTAL POR DÍA.

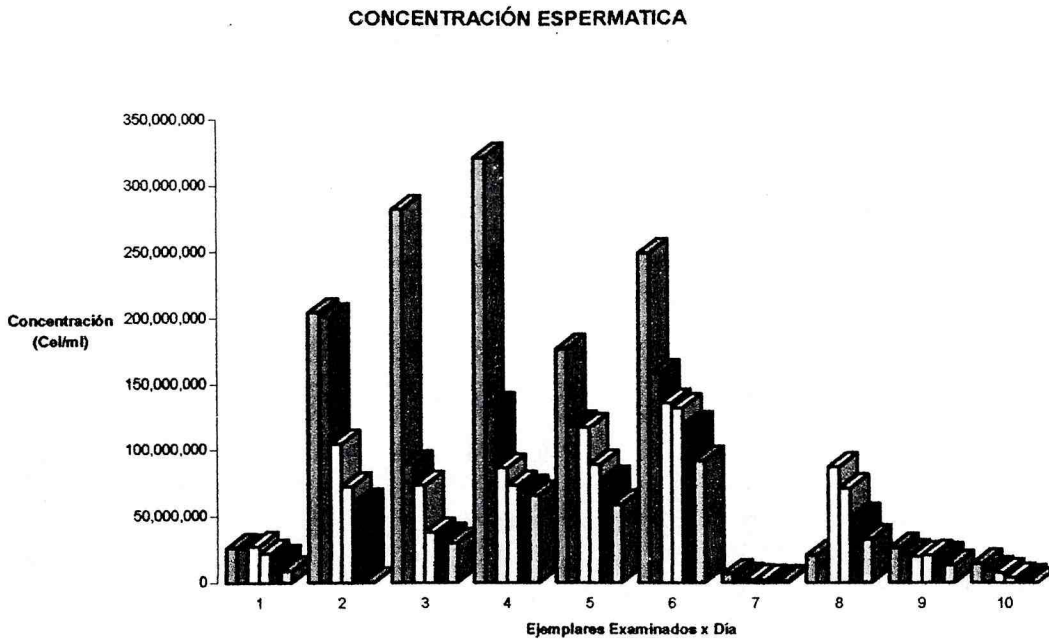
No.	Razas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Promedio
1	Pastor A.	26,750,000	25,250,000	27,250,000	21,484,000	17,656,200	8,593,700	20.997.317
2	Basset H	204,296,875	200,390,625	104,296,875	71,875,000	59,375,000	60,156,25	106.715.755
3	Basset H	281,250,000	88,281,250	72,656,250	37,500,000	33,593,750	29,687,500	90.494.792
4	Rottweiler	320,703,125	132,812,500	85,937,500	72,656,250	69,921,875	65,625,000	124.609.375
5	Pode	176,562,000	118,536,205	116,742,125	88,536,201	76,635,000	58,461,600	105.912.189
6	Pode	248,437,500	157,812,500	135,546,875	131,640,625	118,359,375	91,796,875	147.265.625
7	Criollos	6,250,000	3,125,000	2343,750	1,953,125	1,562,500	1,212,021	2.740.733
8	Criollos	20,312,500	10,697,532	86,756,000	70,532,126	48,273,000	32,213,000	44.797.360
9	Criollos	25,781,250	20,703,125	19,531,250	20,312,500	19,140,625	12,890,625	19.726.563
10	Criollos	14,062,500	8,203,125	7,031,250	3,515	2,343,750	0	5.859.375
Promedio		132.340.575	76.581.186	65.809.188	52.000.545	44.686.108	30.053.843	

En la grafica 1 se muestra el volumen coleccionado en cada uno de los ejemplares por día; en donde observamos que al cuarto día bajaba generalmente la concentración y vuelve a subir posteriormente.

GRAFICA 1: Los diferentes volúmenes de eyaculado obtenidos por día en cada semental.



GRAFICA 2: Concentración espermática obtenidos por día.



En los sementales evaluados de acuerdo a la grafica 2 se obtuvieron diferentes concentraciones en cada uno de ellos ya que eran de diferentes raza, peso, y edad.

En general, la respuesta de los perros a la recolección del semen con estimulación manual fue satisfactoria, es decir, fue posible colectar el semen en todos los donantes. Los resultados del espermiograma en semen fresco; fueron los siguientes: (ver cuadro 1).

CUADRO 1. Espermiograma en semen canino fresco (n=60).

Variable seminal	Promedio \pm D.E	Coefficiente de variación (%)
Volumen (ml)	11.7 \pm 2.88	67.0
Concentración espermática	147.265 \pm 99. 81	20.90

En este cuadro se muestra el resultado promedio del volumen obtenido que es de 11.7, en donde la Desviación Estándar es de 2.88, y el coeficiente de Variación es 67.0 (%) de los 60 eyaculados obtenidos.

La concentración espermática Promedio fue 147.265.625.0 millones $\times 10^6$, una Desviación Estándar de 99.81 y un Coeficiente de Variación de 20.90.

CUADRO 2: Volumen y Concentración de los eyaculados obtenidos.

Raza	Volumen		Concentración	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Pastor Alemán	15.0	7.0	27,250,000.0	8,593,700.0
Basset Hound	10.0	3.0	204,296,875.0	5,9375,000.0
Basset Hound	5.0	2.0	281,250,000.0	29,687,500.0
Rottweiler	10.0	8.0	320,703,125.0	65,625,000.0
Poodle	16.0	9.0	176,562,000.0	58,461,600.0
Ganadero Australiano	10.0	7.0	248,437,500.0	91,796,875.0
Criollos	4.0	2.0	6,250,000.0	12,100,21.0
Criollos	8.0	4.0	86,756,000.0	10,697,532.0
Criollos	8.0	4.0	25,781,250.0	12,890,625.0
Criollos	3.0	0.0	8,203,125.0	0.0

El valor más alto en cuanto a volumen y concentración que se obtuvo es 16.0 ml en un eyaculado y un mínimo de 0.0 y la concentración máxima es 320703125.0 millones por ml^3 y un mínimo de 0.0.

Estos valores muestran que los eyaculados varían en cada raza y 5 de ellos son los se encuentran en el rango de 100 a 200 millones $\times 10^6$ por mm^3 . Cifra que se necesita para obtener una buena Inseminación Artificial.

Los otros 5 se encuentran debajo de los 100 a 200 $\times 10^6$ espermatozoides totales, estos coincidieron con baja motilidad progresiva. Ya que factores como Raza, Tamaño, Edad, Peso, Reserva Espermática y la Frecuencia de Eyaculación, lo cual nos muestra diferencias significativas en cada uno de ellos.

VIII. DISCUSIÓN

Se obtuvo un volumen seminal promedio de 11.7 ± 2.88 ml, colectando las tres fracciones de eyaculados. Este valor es similar a lo descrito por Boucher y col. (1958) y England y Allen (1989). Cabe señalar que el plasma seminal afecta negativamente la viabilidad de los espermatozoides preservados a temperatura ambiente.

El porcentaje de espermatozoides vivos fue similar a los reportados por England y Allen (1992a y 1992b). Esta característica fue la que presentó menor variabilidad (coeficiente de variación 20.90%). Díaz y Arancibia (1971) indican que valores sobre 75% de espermatozoides vivos permiten estimar a un eyaculado como de buena calidad.

La concentración espermática promedio registrado en este estudio es de $147.265 \times 10^6 \pm 99.181 \times 10^6$ espermatozoides por ml, cifra que se encuentra dentro del rango normal para perros adultos (Feldman y Nelson, 1996; Farstad, 1998). Según Feldman y Nelson (1996) un perro de tamaño medio con menos de 200×10^6 espermatozoides totales por eyaculado es sospechoso de problemas de fertilidad.

Se encontraron 5 eyaculados que presentaron valores inferiores a 200×10^6 espermatozoides totales y estos coincidieron con baja motilidad progresiva. Esta variable seminal fue la que presentó el mayor coeficiente de variación (20.90) lo que se podría explicar por el efecto de factores como raza, tamaño testicular, reserva espermática extragonadal, frecuencia de eyaculación y edad (Olar y col., 1983; England, 1999).

IX. CONCLUSIONES

Podemos confirmar que la concentración en un perro joven de la Comarca Lagunera, es semejante antes de comenzar a usarlo como semental, con los resultados obtenidos de algunos de ellos que presentan buena concentración espermática.

Aunque varía mucho la calidad de semen de cada uno de ellos, ya que se presentan varios factores como la raza, edad, tamaño, peso, y la actividad sexual de cada uno, en el promedio se puede comparar la concentración espermática de cada uno de ellos.

El método de evaluación realizado en este trabajo de investigación es una opción para conocer la calidad de semen de un macho destinado a la reproducción, que nos permite estimar las probabilidades de éxito en la utilización del mismo para realizar la Inseminación Artificial con semen fresco o monta natural, así mismo para la criopreservación del esperma en un criadero.

X. LITERATURA CITADA

1. Adams DR. Anatomía canina. Estudio sistémico. Zaragoza (España): Acribia; 1998.
2. Allen E. Fertility and obstetrics in the dog. Oxford (England): Blackwell Scientific publications Limited; 1992.
3. Birchard SJ & Sherding RG. Manual Clínico de pequeñas especies. Vol. 2; DF (México): McGraw-Hill, 1996:1044-52.
4. Burgess CM; Bredl JC, Plummer JM, England GC. Vital and ultrastructural changes in dog spermatozoa during cryopreservation. J reprod Fétil Suppl 2001; 57:357-63.
5. Corona CG. Evaluación del semen. Colegios de Médicos Veterinarios Zootecnistas Profesionales en Especies Menores de la Comarca Lagunera, A.C. V congreso Anual; 2001 Mayo 3-5; Torreón, Coah. México; 2001.
6. Cunningham JG. Fisiología veterinaria. 2da ed. DF (México): McGraw-Hill Interamericana; 1999.
7. Davol PA. Canine Reproduction. Reproduction and the Male Dog. Part 4. 2001. Available in: URL: <http://www.labbies.com/reproduction4.htm>.

8. England, G., W. Allen. 1992b. Factors affecting the viability of canine spermatozoa. II. Effects of seminal plasma and blood. *Theriogenology* 37: 373 – 38171.
9. England G & Lofstedt R, Canine Reproduction Seminar. Canada: Atlantic Veterinary College 2000 Sep: 8-13, 15-23.
10. Esquivel LC y Páramo RM. Reproducción Zootecnia: Diplomado a Distancia en Medicina, Cirugía y Zootecnia en Perros y Gatos. 4ta Ed. Mod. DF (México): UNAM; 2001 p.225 225-3306.
11. Evans LE Uses of frozen semen in the dog. In: Nebraska Veterinary Biomedical Science Newletter, University of Nebraska 2001May; 30 (5): 6.
12. Farstad W. Assisted reproductive technology in canid species. *Theriogenology* 2000 Jan 1:53 (1):175-86.
13. Farstad W. Semen cryopreservation in dogs and foxes. *Animal Reproduction Science* 1996; 42:251-60.
14. Feldman, E., R. Nelson. 1996. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. W. B Saunders Co., Philadelphia, USA.
15. Fayrer HF. Canine Theriogenology Notes (Male). IAM 1996. Available from: URL:<http://lam.vet.uga.edu/LAM/LM000030.HTML#VII.%20%20Sex%20hormone%20alopecias>.

16. Fontbonne A. Recolección y examen del semen del perro. En: Jornadas sobre manejo de la reproducción canina; 1996; Facultad de Veterinaria Madrid, España; 1996. Disponible en: URL:
<http://www.redvya.com/veterinarios/especialidades/Reproduccion/perros/Gatos/Especialista/Articulo01.htm>.
17. Foster R & Smit M. Artificial Inseminatigon (IA). Peteducation.com.; 2001. Available from: URL:
<http://www.peteducation.com/repro/AI.htm>.
18. García PJ. Manual de Endocrinología Veterinaria. D.F. (México): UNAM; 1998.
19. Sirivaidyapog S, Ursem P, Bevers MM & Colenbrander B. Effect of prostatic fluid on motility, viability and acrosome integrity of chilled and frozen-thawed dog spermatozoa. J Reprod Fétil Suppl 2001; 57:383-6.
20. Sisson S, Grossman JD y Getty R. Anatomía de los animales domésticos. 5ª edición, tomo II. D.F. (México): Salvat; 1993.
21. Stornelli MA, Stornelli MC, Arauz MS, Sauvignone CA, García M y De la Sota L. Effects of two different temperatures and three different Extenders on survival and longevity of chilled canine semen. In: Wheeler MB & Smit L (Eds). Proceedings Annual Conference of the internacional Embryo Transfer Society. THGNBO 2002^a; 57(1): 423.
22. Kraft Helmut, Schillinger Dieter. Métodos de laboratorio clínico en medicina veterinaria de mamíferos domésticos. 3ª edición (Española): Zaragoza 1998; Editorial Acribia; 239, 246.