



UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“CRIOCONSERVACION DE SEMEN EN PERROS DOMESTICOS (*Canis Lupus Familiaris*),
EN LA CLINICA ANIMAL KINGDOM.”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista

Autora:

Acurio Aguiar Adriana Gabriela

Tutor:

Dr. Mg. Armas Cajas Jorge Washington

LATACUNGA- ECUADOR

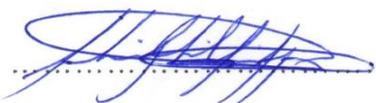
Agosto 2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

“Yo ACURIO AGUIAR ADRIANA GABRIELA, con C.C. 060295601-3 declaro ser autor (a) del presente proyecto de investigación “CRIOCONSERVACION DE SEMEN EN PERROS DOMESTICOS (*Canis Lupus Familiaris*), EN LA CLINICA ANIMAL KINGDOM.”, siendo Dr. Mg. Jorge Washington Armas Cajas. Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

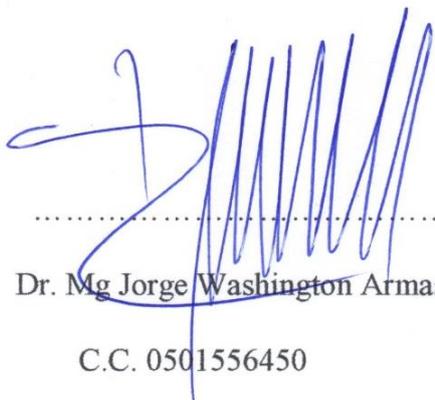
Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

22 de julio del 2019



Adriana Gabriela Acurio Aguiar

C.C. 060295601-3



Dr. Mg Jorge Washington Armas Cajas

C.C. 0501556450

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte Acurio Aguiar Adriana Gabriela, identificada/o con C.C. N° 060295601-3, de estado civil **soltera** y con domicilio en Riobamba, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA/EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Crioconservación De Semen En Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), En La Clínica Animal Kingdom.**” la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- Septiembre 2013 – Agosto 2019

Aprobación HCD.- 4 de abril del 2019

Tutor.- Dr. Mg. Jorge Washington Armas Cajas.

Tema: “Crioconservación De Semen En Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), En La Clínica Animal Kingdom.”

CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA.- Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA.- El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA.- El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.- Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.- LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

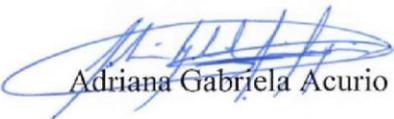
CLÁUSULA NOVENA.- El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA.- En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA.- Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 22 días del mes de julio del 2019.


Adriana Gabriela Acurio Aguiar

EL CEDENTE

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

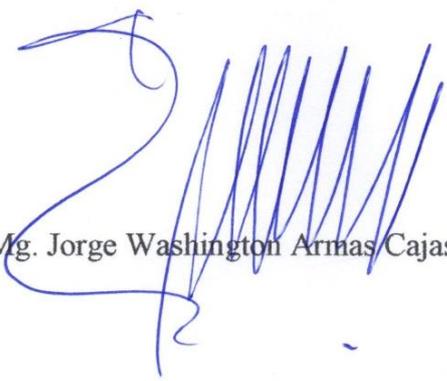
EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“Crioconservación De Semen En Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), En La Clínica Animal Kingdom.”, de Acurio Aguiar Adriana Gabriela, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

22 de julio de 2019


Dr. Mg. Jorge Washington Armas Cajas

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Lectores del Proyecto de Investigación con el título:

“Crioconservación De Semen En Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), En La Clínica Animal Kingdom.”, de Acurio Aguiar Adriana Gabriela, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

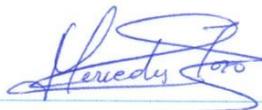
22 de julio del 2019



Lector 1 (Presidente/a)
Dra. Elsa Janeth Molina Molina. Mg
CC: 050240963-4



Lector 2
Dra. Mg Nancy Margoth Cueva Salazar
CC: 050161635-3



Lector 3 (Secretario/a)
Dra. Blanca Mercedes Toro Molina. Mg
CC: 050172099-9

AGRADECIMIENTO

En primera instancia quiero agradecer a Dios, porque sin él no sería nadie; en segundo lugar agradezco a mis padres por estar siempre conmigo, apoyándome, dándome aliento y su amor incondicional, a mis tíos y abuelos por todo el apoyo brindado, a mis hermanas; Anita, Dome; gracias por estar conmigo siempre que les necesito, a pesar de cualquier diferencia que tengamos siempre puedo contar con ustedes, a mis primos; Aleja y Emilio; ustedes me llenan de alegría con sus sonrisas y abrazos; a mi sobrino Toñito quien es mi cómplice en las aventuras de mi vida y a mis demás familiares por brindarme su apoyo en todo momento y no dejarme sola cuando sentía que ya no tenía la fuerza para seguir adelante.

Gracias de todo corazón a mis amigas; Elizabeth, Victoria, Nicole; por demostrarme que la verdadera amistad se encuentra en las peores circunstancias de la vida.

De igual manera quiero agradecer a todos los que forman parte de la Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas, agradezco a los doctores de la Carrera de Medicina Veterinaria, en especial a la doctora Mercedes Toro, doctora Janeth Molina, doctora Nancy Cueva y al Doctor Jorge Armas, por guiarme en todo momento, por compartir sus conocimientos conmigo y por ser parte de esta nueva etapa de mi vida.

DEDICATORIA

El siguiente trabajo se lo dedico a mis tres angelitos del cielo; Danielito, Toño y Gabichito, aunque no estén presentes físicamente, siempre me acompañan. Al doctor Eduardo Sambache, por brindarme su ayuda en todo momento. A mis padres; Fabián y Paulina, que siempre han velado por mí y han estado conmigo en cada paso de mi vida. A mis hermanas, Anita y Dome, y a mi sobrino Toñito, siempre sigan adelante y nunca se detengan por más difícil que este el camino.

Adriana Gabriela Acurio Aguiar

UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “Crioconservación de Semen en Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), en la Clínica Animal Kingdom.”

RESUMEN

La finalidad del proyecto fue determinar las características microscópicas del semen canino crioconservado en diferentes tiempos de evaluación, basándose en los parámetros fundamentales de motilidad y vitalidad de muestras espermáticas que determinan la viabilidad del semen crioconservado, proponiendo así implementar otras técnicas de reproducción con el fin de brindar bienestar animal y evitar el contagio de enfermedades sexuales a las mascotas. Las muestras que se utilizaron fueron recolectadas por el método de extracción manual de 5 machos caninos de raza Schnauzer Miniatura con edades comprendidas entre 2.5 a 3 años, tras los análisis correspondientes se elaboró tres pajuelas de cada ejemplar, las cuales fueron almacenadas a una temperatura de -196°C en nitrógeno líquido en tiempos comprendidos de 15, 30 y 45 días de congelación respectivamente. Los datos obtenidos de cada una de las muestras realizadas fueron evaluados, procesados y analizados. Se obtuvo un promedio de 87.2% de motilidad espermática a los 15 días post congelamiento, 86.4% de motilidad espermática a los 30 días post congelamiento y 86.2% de motilidad espermática a los 45 días post congelamiento; y una vitalidad espermática del 83.8% a los 15 días post congelamiento, vitalidad espermática del 83% a los 30 días post congelamiento y una vitalidad espermática del 83% a los 45 días post congelamiento, indicando a la descongelación a los 15 días como el mejor resultado, siendo valores aceptables en cuanto a la calidad de semen se refiere. Los resultados obtenidos en esta investigación generan información para dar inicio a próximas investigaciones, evidenciándose en los resultados obtenidos y así aportar conocimientos al desarrollo de técnicas de biotecnología de la reproducción canina en el Ecuador.

Palabras clave: Motilidad Espermática, Vitalidad Espermática, Crioconservación Seminal, Canino.

ABSTRACT

Determining the microscopic characteristics of cryopreserved canine semen at different evaluation times was the main objective of this research, through the fundamental parameters of sperm samples motility and vitality that determine from cryopreserved semen viability, thus proposing to implement other reproduction techniques in order to provide animal welfare and prevent the spread of sexual diseases to pets. The samples they will use were collected by the manual extraction method of 5 canine males of the Schnauzer, Miniature breed between 2.5 and 3 years old, after the corresponding analysis, three straws of each specimen were prepared, which were stored at a temperature of -196°C in liquid nitrogen in times of 15, 30 and 45 days of freezing respectively. The data obtained from each of the samples made were evaluated, processed and analyzed. An average of 87.2% sperm motility was obtained at 15 days post freezing, 86.4% sperm motility at 30 days post freezing and 86.2% sperm motility at 45 days post freezing; and a sperm vitality of 83.8% at 15 days post freezing, sperm vitality of 83% at 30 days post freezing and a sperm vitality of 83% at 45 days post freezing, indicating defrosting at 15 days as the best result, being acceptable values as far as semen quality is concerned. The results obtained in this research updated information to initiate future research, evidencing the results obtained and thus contributing knowledge to the development of biotechnology techniques of canine reproduction in Ecuador.

Keywords: Spermatic Motility, Spermatic Vitality, Seminal Cryopreservation, Canine

BIBLIOGRAFIA

1.	INFORMACIÓN GENERAL	1
1.1	Título del Proyecto:	1
1.2	Fecha de inicio:	1
1.3	Fecha de finalización:	1
1.4	Lugar de ejecución:	1
1.5	Facultad que auspicia:	1
1.6	Carrera que auspicia:	1
1.7	Proyecto de investigación vinculado:	1
1.8	Equipo de Trabajo de investigación:	1
1.9	Área de Conocimiento:	1
1.10	Línea de investigación:	1
1.11	Sub líneas de investigación de la Carrera:	1
2	JUSTIFICACION	2
3	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3

3.1	DIRECTOS	3
3.2	INDIRECTOS	3
4	PROBLEMÁTICA	3
5	OBJETIVOS:	4
5.1	Objetivo general	4
5.2	Objetivos Específicos	4
6	FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	4
6.1	Anatomofisiología del aparato reproductor del canino	4
6.1.1	Pene	5
6.1.2	Testículos:	5
6.1.3	Escroto	6
6.1.4	Túbulos seminíferos	6
6.1.5	Epidídimo	7
6.1.6	Conducto deferente.	7
6.1.7	Próstata	7
6.1.8	Uretra	8
6.1.9	Prepucio	8
6.2	Espermatogénesis	8
6.2.1	Termorregulación testicular	10
6.3	Eyaculación	10
6.4	Evaluación del semental canino	11
	Anamnesis	11

Historia clínica	12
6.5 Recolección del semen canino	13
6.6 Métodos de extracción de semen	13
6.6.1 Vagina artificial	13
6.6.2 Técnica manual	14
6.6.3 Electro eyaculador	14
6.7 Características del semen	14
6.7.1 Características macroscópicas	14
6.7.1.1 Color	14
6.7.1.2 Olor	15
6.7.1.3 Volumen	15
6.7.1.4 pH	15
6.7.2 Características microscópicas	16
6.7.2.1 Motilidad	16
6.7.2.2 Vitalidad	18
6.7.2.3 Morfología	18
6.8 Concentración espermática	20
6.9 Factores que afectan las características del semen	20
Pubertad	20
Frecuencia de eyaculación	21
Tamaño y patología de la próstata	21
Tamaño testicular.	21
6.10 Crioconservación de semen	21

6.11	Diluyentes para semen congelado	21
6.12	Características de un buen diluyente	22
6.12.1	Composición	22
6.13	Agentes crioprotectores	23
6.14	Diluyente comercial triladyl	23
6.14.1	Preparación del diluyente	24
6.15	Yema de huevo	25
7	VALIDACION DE LA HIPOTESIS	25
8	METODOLOGIA	25
8.1	Métodos	25
8.2	Localización y duración del proyecto	25
8.3	Unidades experimentales	26
9	DISEÑO DEL EXPERIMENTO	26
9.1	Análisis de las características macroscópicas de la muestra seminal	26
9.2	Análisis de las características microscópicas de la muestra seminal	26
10	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	28
10.1	Preparación del semen con el diluyente	28
10.2	Preparación de las pajuelas	28
10.3	Crioconservación del semen	29
10.4	Descongelamiento de pajuelas	29
11	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	30
12	IMPACTOS (TECNICOS, SOCIALES)	34
13	CONCLUSIONES	34

14	RECOMENDACIONES	35
15	BIBIOGRAFIA	36
16	ANEXOS	43
	Anexo 1	43
	AUTORA	43
	Anexo 2	44
	Hoja de vida del tutor	44
	Anexo 3	45
	ESCANEO DEL CERTIFICADO ORIGINAL DEL AVAL EMITIDO POR “REPROGENES”	45
	Anexo 4	46
	Fichas clínicas	46
	ANEXO 5	48
	TOMA DE MUESTRAS DE SEMEN CANINO	48
	ANEXO 6	49
	Análisis de características del semen	49
	Anexo 7	50
	Tabla de resultado de evaluación de semen fresco	50
	ANEXO 8	51
	Adición de la yema de huevo al diluyente	51
	ANEXO 9	52
	Llenado de pajuelas de 0.5	52
	ANEXO 10	53
	Crioconservación de las pajuelas	53

ANEXO 11	54
Descongelamiento de pajuelas y análisis post congelamiento	54

INDICE DE IMAGENES	16
Tabla 1 Motilidad Individual.....	16
Tabla 2 Calificación de Motilidad Masal	17
Tabla 3 Clasificación de las anomalías espermáticas.....	19
Tabla 4 Calificación de Motilidad Masal	26
Tabla 5 Calificación de Motilidad Individual	27
Tabla 6 Análisis del color del semen canino	29
Tabla 7 Análisis del pH del semen canino	29
Tabla 8 Análisis de Motilidad Masal	30
Tabla 9 Análisis de la Vitalidad Espermática	33

INDICE DE IMAGENES

Imagen 1 Aparato reproductor del perro	4
Imagen 2 Túbulos seminíferos	6
Imagen 3 Representación esquemática de la espermatogénesis en caninos	9

1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1 Título del Proyecto:

Crioconservación de Semen en Perros Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*), en la Clínica Animal Kingdom.

1.2 Fecha de inicio:

Marzo 2019

1.3 Fecha de finalización:

Agosto 2019

1.4 Lugar de ejecución:

Clínica Animal Kingdom, Cantón Riobamba, Provincia Chimborazo – zona 3

1.5 Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

1.6 Carrera que auspicia:

Carrera de Medicina Veterinaria

1.7 Proyecto de investigación vinculado:

GERBANK “Establecimiento de un Banco de Semen”

1.8 Equipo de Trabajo de investigación:

Acurio Aguiar Adriana Gabriela (anexo 1)

Dr. Mg. Armas Cajas Jorge. (Anexo 2)

1.9 Área de Conocimiento:

Agricultura

SUB ÁREA

□ 64 VETERINARIA

1.10 Línea de investigación:

Salud Animal

1.11 Sub líneas de investigación de la Carrera:

Fisiología Animal y Reproducción.

2 JUSTIFICACION

El siguiente proyecto se realizó con el fin de demostrar la eficacia de la crioconservación del semen canino evaluando la motilidad y vitalidad de los espermatozoides durante el proceso de post congelación, manteniendo así las características fenotípicas y genotípicas de un ejemplar, ya que el constante desarrollo de la Biotecnología de la Reproducción en diferentes especies brinda resultados óptimos en cuanto a estos parámetros se refiere.

La crioconservación es una de las técnicas que aportan grandes beneficios en el área de la Medicina Veterinaria tanto en especies mayores como menores, sin embargo en pequeñas especies como es el caso de caninos, es considerada una práctica poco frecuente debido a que esta técnica es más ocupada en el ámbito de producción, lo que se convierte en un limitante en su difusión. Entre los aportes que brinda la técnica mencionada anteriormente se ha podido encontrar que la congelación espermática es una herramienta esencial para conservar material genético ya que la refrigeración de las muestras, el transporte hasta laboratorios y su posterior congelación es la única opción para preservar los genes de un animal. De esta manera se evita posibles complicaciones como la incompatibilidad de los dos individuos por ejemplo en cuanto al comportamiento entre macho y hembra, la presencia de alguna enfermedad de transmisión sexual o patología que imposibilita la reproducción como cualquier tipo de infertilidad u otro origen como la artrosis en el macho, problemas de sobrepeso u obesidad; caninos que por su altura no alcanzan a la hembra o perros braquiocefálicos, que poseen problemas de respiración por su anatomía, impidiendo que el aire fluya con normalidad, provocando así problemas respiratorios y cardiopulmonares e impidiendo la monta natural y tomando como un problema frecuente la consanguinidad.

Por lo expuesto con anterioridad se distingue como beneficiarios del proyecto a propietarios de mascotas, clínicas veterinarias, investigadores y estudiantes de Medicina Veterinaria con afinidad por especies pequeñas.

3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 DIRECTOS

- Propietarios de caninos de distintas razas en el Ecuador.

3.2 INDIRECTOS

- Médicos Veterinarios con afinidad en especies menores.
- Estudiantes de la cátedra de reproducción.

4 PROBLEMÁTICA

La crioconservación de semen canino es un procedimiento muy minucioso de realizar en la práctica de la Medicina Veterinaria debido a la falta de protocolos estandarizados para pequeñas especies, a diferencia de especies mayores (1); otro de los factores asociados a la dificultad de esta técnica en caninos es que esta biotecnología se encuentra apenas desarrollándose a nivel mundial.

Factores como los cambios de sensibilidad específica de los espermatozoides ante procesos de congelación y descongelación al igual que las alteraciones de membrana disminuyen la longevidad espermática, relacionadas directamente con el uso de criopreservantes. (2)

En lugares como Europa y Estados Unidos se han realizado estudios que comparados con los existentes en especies mayores solo representa el 15%. (3) Mientras que en América Latina en países como Perú, Venezuela, Argentina y Brasil se cuenta con el 5% de estudios experimentales de conservación de semen realizados en caninos, los cuales se han analizado con diluyentes de especies mayores para comprobar su eficacia. (4)

Las entidades permitidas para congelar y almacenar el semen de perros, generalmente son Escuelas y Facultades de Medicina Veterinaria. Los estudios realizados en nuestro país no han generado los datos suficientes acerca de los parámetros que se deben tener en cuenta al realizar los procedimientos de crioconservación de muestras seminales en caninos limitando así su uso en la Biotecnología de la Reproducción, encontrando porcentajes extremadamente bajos, es decir menos del 1% a nivel nacional; como el caso de las investigaciones existentes en la Universidad Central del Ecuador y la Universidad Técnica de Ambato. (5)

5 OBJETIVOS:

5.1 Objetivo general

- Ejecutar la crioconservación de semen de perros domésticos mediante el uso de pajuelas para preservar las características del ejemplar.

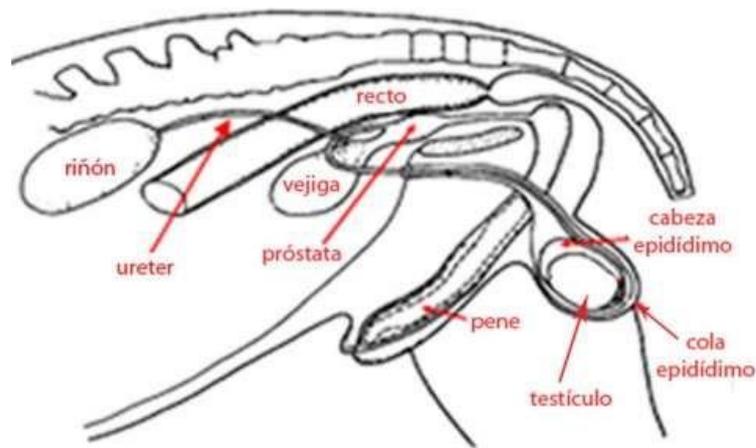
5.2 Objetivos Específicos

- Valorar las características macroscópicas del semen canino
- Analizar la motilidad espermática luego del proceso de crioconservación
- Evaluar la vitalidad espermática de las muestras procesadas

6 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

6.1 Anatomofisiología del aparato reproductor del canino

Imagen 1 Aparato reproductor del perro



Fuente: (6)

El aparato reproductor del canino está conformado por diversos órganos, tanto internos como externos; en los externos se encuentra el pene, testículos y escroto, en la parte interna están los túbulos seminíferos, epidídimo, conducto deferente, próstata, uretra, vesículas seminales, glándulas de Cowper.

6.1.1 Pene

El pene del perro es considerado de tipo vascular debido a que los cuerpos cavernosos y esponjosos deben de llenarse de sangre para su erección y brindar la rigidez requerida para la

penetración. En el interior del mismo se puede encontrar el os penis o hueso peneano en su interior se encuentra la uretra, este hueso también ayuda a la rigidez del pene. (6)

La porción más sensible del glande es el bulbo ubicado cerca de la base del pene, por lo cual al recibir un estímulo de temperatura y presión se produce la eyaculación, dato que necesita ser recordado al momento de la estimulación para la toma de muestra. (7)

Función: El pene es encargado de transportar la orina al exterior del organismo, de igual manera es responsable de depositar el semen en la vagina de la hembra ya que es el órgano copulador. (8)

6.1.2 Testículos:

También llamados gónadas masculinas, es un órgano par de forma ovoide, desde la gestación se encuentran ubicados en la zona intra-abdominal al mismo nivel que los ovarios en las hembras. Con el crecimiento, aproximadamente a los seis meses de edad cuando alcanzan la pubertad se desplazan para alojarse en el escroto ubicándose en la región inguinal. Los testículos están conformados por estructuras enrolladas denominados túbulos seminíferos donde se producen los espermatozoides. (9)

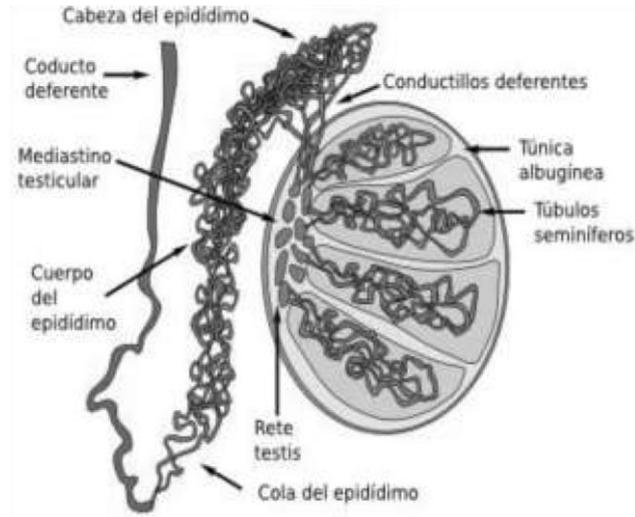
Función: Los testículos cumplen con dos funciones importantes en la reproducción animal, una función endocrina y una exocrina. La endocrina se encarga de la producción de los andrógenos que son hormonas sexuales masculinas, la función exocrina consiste en la producción de los gametos (espermatozoides); ambas funciones están dominadas por las gonadotropinas hipofisarias FSH y LH. (10)

6.1.3 Escroto

Está conformado de vainas musculares finas conocidas con el nombre de musculo cremáster, posee glándulas sudoríparas y sebáceas, presenta piel ligeramente gruesa, posee un surco exterior separándole en dos. (6)

Función: la función del escroto es de proteger a los testículos, y mantenerlos a una temperatura de 2°C inferior a la corporal para no afectar en la espermatogénesis, con ayuda del músculo cremáster acerca al testículo a la pared abdominal cuando la temperatura ambiente esta baja.(11)

6.1.4 Túbulos seminíferos

Imagen 2 Túbulos seminíferos

Fuente: (8)

Están formados por varias capas de células superpuestas, las células de Sertoli y las células germinales en diferentes grados de maduración; estos constituyen un aproximado del 80% de masa testicular; externamente se encuentran limitados por el tejido intersticial y las células de Leydig, productoras de testosterona.(12)

Función: Los túbulos seminíferos son encargados de la producción de espermatozoides. Como ya se mencionó anteriormente los túbulos están compuestos por dos células, las espermatogonias encargadas de originar los gametos masculinos, y las células de Sertoli que, además de servir como sostén también brindan elementos nutritivos al desarrollo inicial de las espermatogonias. (13)

6.1.5 Epidídimo

Posee la forma de un tubo largo enrollado, se encuentra localizado en la porción lateral y superior de los testículos y se divide en tres partes; la primera es la cabeza del epidídimo que se encuentra firmemente unido en el extremo proximal del testículo, el cuerpo del epidídimo está fijado por medio del meso epidídimo y la cola que se encuentra fijada al testículo mediante el ligamento propio del testículo. (14)

Función: La parte de la cabeza del epidídimo recoge los espermatozoides provenientes de los túbulos seminíferos, los espermatozoides terminan de madurarse en el conducto del epidídimo para luego ser almacenados en la cola del epidídimo hasta su eyaculación. (15)

6.1.6 Conducto deferente

Se difunde desde la cola del epidídimo hasta el cuello de la vejiga; se encuentra ubicado en posición medial con relación al epidídimo, posee una túnica de músculo liso muy desarrollada, está compuesto por una membrana mucosa interna originaria de la uretra y una membrana externa fibrosa. (16)

Función: Cumple la función de transportar los espermatozoides hasta depositarlos en la uretra, ya que el conducto deferente junto con los conductos de las glándulas forma el conducto eyaculador. (17)

6.1.7 Próstata

Es una glándula bilobulada por medio de un tabique longitudinal, contenida dentro de una capsula, es un órgano aplanado dorsalmente y redondeado central y lateralmente, se encuentra localizada sobre el cuello de la vejiga y el comienzo de la uretra, abrazándola. Su tamaño varía de una raza a otra, de manera que en todos los perros terrier (como es el caso de los schnauzer) es más grande que en otros de similar tamaño sin que sea un problema para el perro. (18)

Función: La próstata secreta un líquido alcalino de aspecto lechoso rico en lípidos, hexosas, espermína, fosfatasa ácida y prótidos dándole al eyaculado la capacidad de proteger y nutrir a los espermatozoides. (19)

6.1.8 Uretra

La uretra es un conducto común entre el aparato urinario y el aparato reproductor, posee una longitud diferente a la de las hembras, y es más estrecha ya que pasan por el hueso peneano, posee tres porciones, la primera denominada porción pre-prostática está localizada antes de la próstata desde el orificio interno de la uretra hasta el colículo seminal y es la porción más pequeña de la uretra; la segunda porción se denomina pélvica porque transcurre por esa región, y la tercera parte se denomina entra pélvica o porción esponjosa ya que posee tejido esponjoso.(20)

Función: La uretra cumple una función mixta al transportar orina desde la vejiga y líquido seminal al momento del eyaculado. (21)

6.1.9 Prepucio

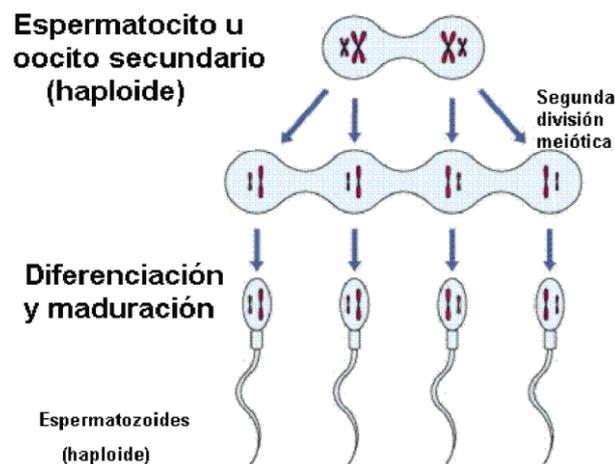
Es una vaina tubular que se origina y es continuación de la piel del abdomen. Posee una mucosa interna lisa y una capa de piel externa cubierta de pelos que confluyen en el orificio prepucial. (6)

Función: La función primordial del prepucio es cubrir y proteger el pene, pero también secreta un líquido de color verdoso que es denominado esmegma el cual lubrica el pene y que es completamente normal. (22)

6.2 Espermatogénesis

Se denomina espermatogénesis a la serie de procesos o cambios que sufren las espermatogonias para dar lugar al almacenamiento, maduración y formación de los espermatozoides. Este proceso inicia cuando el animal alcanza su pubertad hasta culminar su vida reproductiva, debido a que esta conducido por las gonadotropinas hipofisarias y los andrógenos. (23)

Imagen 3 Representación esquemática de la espermatogénesis en caninos



Fuente (25)

La edad en la que el perro comienza su pubertad dependerá de la raza, por lo general las razas más pequeñas inicia a partir de los seis meses de edad, en el caso de las razas medianas aproximadamente a partir de los ocho a diez meses de edad, en las razas grandes y gigantes a

partir de los quince meses de edad ya que a partir de este momento el macho comienza a producir espermatozoides fértiles; pero debido a que recién empieza el proceso de maduración no es recomendable usar estos perros como sementales hasta que estén completamente maduros sexualmente, el perro empieza la pubertad al momento en el que este empieza a levantar su pata al rato de orinar. (24)

En la espermatogénesis las células germinativas de tipo A_1 se dividen en 16 células transformándose en espermatogonias latentes o también denominadas de tipo A_2 por una división mitótica gracias a la hormona GH. Después estas células migran hacia las células de Sertoli las cuales les nutre mientras se desarrollan en espermatocitos primarios y secundarios, produciendo la primera división meiótica, luego se da otra división meiótica formando cuatro espermátides. (25)

Las espermátides durante algunos días sufren una serie de cambios que se basan en la pérdida de una parte del citoplasma, la reestructuración de la cromátida nuclear, la recolección del material citoplasmático, y la formación de la cola. En el tiempo en que este proceso se realiza las espermátides se mantienen cerca de las células de Sertoli, por la importancia vital que estas realizan, además de las ya mencionadas también tienen una capacidad de síntesis enzimática y esteroidogénica, permitiendo que se realice una adecuada maduración espermática. (26)

Estas células mediante la acción de FSH, producen la proteína fijadora de andrógenos (ABP), encargada de “sujetar” a la testosterona en los túbulos seminíferos y así garantizar la apropiada concentración de dicha hormona. Cabe mencionar que la LH promueve la síntesis de testosterona mediante la estimulación de las células de Leydig. (27)

6.2.1 Termorregulación testicular

Para que se realice la espermatogénesis de forma adecuada la temperatura de los testículos debe ser 2 grados menor a la del organismo en la mayoría de los mamíferos, esto se lleva a cabo por cuatro sistemas de los testículos. (23)

- 1) Ocurre en el plexo pampiniforme, donde la vena y la arteria testicular están profundamente vinculadas, produciendo que la sangre arterial con temperatura igual a la del organismo se enfríe gracias a la sangre venosa proveniente del testículo que se encuentra a menor temperatura. (25)

2) La constante contracción y relajación del músculo cremáster hace que el sistema vascular funcione correctamente provocando que la temperatura corporal se encuentre controlada. (11)

3) La termorregulación esta contribuida por la propagación de la temperatura al exterior por medio de la túnica dartos que se encuentra íntimamente relacionado con las túnicas vaginales parietal y visceral. (15)

4) Las glándulas sudoríparas permiten que se disminuya la temperatura cuando existe elevación de la misma a nivel corporal o escrotal gracias al hipotálamo que al detectarlo incita la sudoración escrotal. (6)

6.3 Eyaculación

La eyaculación no es más que la expulsión del fluido biológico hacia el exterior por medio de un reflejo donde se contraen los elementos que conforman el aparato reproductor. Existen diferentes tipos de eyaculación que dependerá de la especie animal, en el caso del perro, este presenta un eyaculado trifásico, es decir que se compone de tres fracciones con una duración total de 22 minutos aproximadamente. (28)

- **La primera fracción** la fracción pre espermática es llamada “uretral”, sin duda mal llamada, ya que su origen consiste en la función prostática para lubricar, es de consistencia acuosa, transparente y no se encuentran espermatozoides, ocurre al iniciar la erección por lo que es rápida y corta. Corresponde al 2% o 3% del volumen total. (29)

En esta primera fracción: Denominada pre espermático el tiempo de emisión varía entre 30 y 50 segundos (30)

- **La segunda fracción** proviene del epidídimo es más retardada y lenta; posee un color que varía entre blanco lechoso y gris ya que contiene a los espermatozoides, por lo que su consistencia es más viscosa que la anterior; coincide con los gestos de monta del animal. (31)
- **La tercera fracción o fracción prostática** es la más abundante y se libera de forma lenta durante varios minutos la secreción es de consistencia acuosa, se da luego de la fracción

espermática, de color transparente se adiciona cuando los animales se encuentran enlazados en direcciones contrarias. Esta fracción representa el 90% del volumen total eyaculado. (32)

6.4 Evaluación del semental canino

Para un chequeo adecuado se debe evaluar por lo menos dos veces por año al macho, o después de que este haya sufrido algún accidente, lesión o enfermedad; se debe tener en cuenta que pequeñas lesiones o patologías en el macho como son los procesos febriles afectan los procesos reproductivos, es decir que pueden afectar la espermatogénesis. (33)

Se debe realizar un plan de exploración clínica general del macho canino reproductor que consta de:

Anamnesis

Toda anamnesis debe empezar con un conversatorio rutinario con el propietario sobre el problema o los problemas de lo que le ocurre al paciente, al momento que está conversando no se le debe de interrumpir para no ocasionar que se le olvide o cambie la forma en la que se estaba expresando, de la misma manera se deben evitar las preguntas que brinden respuestas monosílabas (si o no), se debe de tener en cuenta a todas estas pautas para tener una idea clara y poder realizar un historial clínico más acertado. (34)

Historia clínica

Son fichas de identificación individuales de los pacientes que deben tener ciertas características como son:

1 Reseña del animal

Proporcionan información clave sobre factores que pueden estar asociados con la raza, edad, sexo, color. (35)

2 Constantes fisiológicas

Las constantes fisiológicas son parámetros que se encuentran establecidos que nos ayudan a determinar si el organismo de un paciente se encuentra en normalidad o sufre de alguna

alteración. En este punto se evalúa temperatura, llenado capilar (C.C), ritmo cardiaco (R.C), frecuencia respiratoria (F.R), peso. (36)

3 Estado general

Se evalúan las condiciones en las que se encuentra el animal, actitud, condición corporal, estado de hidratación, mucosas. (37)

4 Examen andrológico

El examen andrológico consiste en la revisión del aparato reproductor del macho desde lo más externo hasta lo más interno es decir: escroto, testículos, epidídimo, prepucio, pene y próstata en busca de afecciones o alteraciones como inflamación, trauma, nódulos, adherencias y neoplasias. (38)

Al examinar el escroto por medio de la inspección y palpación se debe de evaluar color de la piel, presencia o no de lesiones y la elasticidad. En el caso de los testículos se debe evaluar el número, la localización, consistencia y sensibilidad. Estos en estado normal son firmes y turgentes, es decir que al momento de sujetarles debe regresar a su forma natural. En el caso de que estos se sientan planos al pueden indicar hipoplasia, y cuando se encuentran muy duros pueden presentar signos de fibrosis. En el glande Se evalúa su anatomía, si existen secreciones anormales, presencia de lesiones o tumores. Y por último en el prepucio se observa que cubra totalmente al pene, se inspecciona que no existan erosiones ni laceraciones y que permita la salida y entrada normal del pene. Es normal observar una secreción purulenta media verduzca, esto se debe a la renovación celular de la mucosa del prepucio. (39)

6.5 Recolección del semen canino

La recolección del semen se realiza para la evaluación de exámenes reproductivos, diagnóstico de diversos trastornos, inseminación artificial con semen fresco, congelación o crioconservación del mismo. (40)

Si el semental canino hace más de un mes que no ha sido valorado, se recomienda no coger la primera expulsión por ser de muy mala calidad, la eyaculación que servirá para estudiar debe

ser a partir de la segunda muestra, en caso contrario se aconseja una abstinencia sexual de 5-7 días antes de la recogida (41).

Al momento de la colección de semen el animal debe estar en un ambiente tranquilo y relegado, donde no haya aromas fuertes, vistas y sonidos, que distraigan al ejemplar para obtener un eyaculado apropiado. (42)

6.6 Métodos de extracción de semen

6.6.1 Vagina artificial

Esta técnica consistente en aplicar suaves masajes ejerciendo una ligera presión sobre el cuerpo del pene y especialmente sobre el bulbo cada cuatro segundos, hasta conseguir una erección parcial, luego se retrae el prepucio y se sujeta el bulbo con la vagina artificial ejerciendo una presión constante sobre el mismo, para lograr una total turgencia y reflejo pélvico; cuando el perro levanta alguna de sus extremidades posteriores, se dirige el pene hacia atrás para coleccionar el eyaculado. (43)

La vagina artificial o manga consiste en un frasco tipo embudo de látex, para generar presión y temperatura adecuada. Este método brinda al animal la sensación de estar con una hembra, sin embargo para la persona le resulta un poco dificultoso al momento de dirigir el miembro hacia atrás. (44)

6.6.2 Técnica manual

Esta técnica es parecida a la anterior pues de la misma manera se emplean masajes con un movimiento rápido y rítmico de atrás hacia delante sobre la zona del bulbo, Cuando este se comienza a agrandar, se desliza el prepucio hacia la base, y se desvaina el pene y el bulbo, cuando esté completamente erecto y el perro levante alguno de sus miembros posteriores, se hace un movimiento de 180°, enseguida se coloca el frasco donde se va a recolectar cerca del mismo y haciendo presión se recoge la muestra. Si el desvainamiento del pene fracasa, por lo regular se obtiene una erección pobre y la eyaculación no se logra o es incompleta, como consecuencia del dolor. (45) **6.6.3 Electro eyaculador**

Esta técnica consiste en proporcionar cargas bajas de corriente eléctrica al animal solo se usa con fines de investigación , para lo cual debe estar previamente anestesiado para evitar algún accidente tanto para el animal como para la persona, posteriormente se le coloca en un soporte

que lo mantenga parado en sus cuatro patas con la cabeza un poco más baja al resto del cuerpo, se lubrica el ano y se inserta la probeta rectal la cual debe verificarse periódicamente para asegurar que los electrodos estén dirigidos ventralmente durante todo el proceso electro eyaculatorio. El perro recibe un total de 240 estímulos eléctricos, divididos en 4 conjuntos de 60 estímulos y un voltaje de 6 V, el intervalo entre estímulos es de 3,0 segundos. (46)

6.7 Características del semen

6.7.1 Características macroscópicas

6.7.1.1 Color

Presenta un color blanco acuoso o aperlado en condiciones normales, aunque puede variar ligeramente el color de un semental a otro debido a que está severamente relacionado con la concentración espermática, también puede variar por el tipo de alimentación. (47)

Alteraciones en la coloración:

- El semen incoloro: puede ser indicativo a la ausencia de espermatozoides
- Coloración amarillenta: presencia de pus u orina.
- Coloración Rojiza: por presencia de sangre
- Coloración amarillo Verdosa: presencia de pus o por Pseudomona aerugin

8.7.1.2 Olor

Por lo general tiene un olor proteico neutro, característico de la especie, puede ser difícil de detectar por lo cual se busca que no presente olor pútrido, o urinoso. (48)

6.1.3 Volumen

El volumen va a variar en función de distintos factores como es la raza, el tamaño del animal, la edad, tipo de alimentación, excitación, experiencia, entre otras; y está constituido por las secreciones de las glándulas que conforman el aparato reproductor. (49)

La gran variación del volumen de eyaculado se debe a la cantidad recolectada de la tercera fracción. Por lo tanto el eyaculado debe ser evaluado sin excluir ninguna de sus fracciones para cálculo de la concentración espermática. (50)

Según varios estudios realizados en los diferentes tamaños de razas se ha determinado que en canes de tallas pequeñas como son el chihuahua, pekinés, pinchers, schnauzer miniatura, etc. el volumen es aproximadamente de 1.5 a 5.0 ml; en canes de talla mediana como el husky, bóxer, dálmata, pit Bull, Pastor Alemán, etc. el volumen aproximado es de 4 a 10 ml; y en los canes de talla gigante como el san Bernardo, gran danés, Lobero Irlandés, es aproximadamente de 20 a 48 ml; se debe de tener en cuenta estos datos al momento de examinar el eyaculado. (51)

6.1.4 pH

El pH del semen canino es de 6.5 a 7, para así poder neutralizar el pH ácido de la vagina de la hembra y puede estar determinado en gran parte por el fluido prostático. Una de las razones para que exista una variación de pH suelen ser por problemas inflamatorios y puede llegar a disminuir la motilidad de la muestra. (52)

6.7.2 Características microscópicas

El examen microscópico del semen es la parte más importante para valorar, por lo cual se debe tener las precauciones necesarias para que exista un buen manejo y no alterar los resultados o dar resultados erróneos, por lo cual es necesario que todo el material de vidrio se encuentre a 37°C (frasco de recolección, porta objetos, pipetas, etc.), ya que esa es la temperatura en la que se encuentran los espermatozoides (53)

6.7.2.1 Motilidad

Es el porcentaje de la capacidad motora que tienen los espermatozoides, debe de ser un movimiento flagelar productivo en progresión rápida y lineal. (54)

6.7.2.1 Motilidad Individual

Los espermatozoides deben presentar un movimiento progresivo y avanzar con rapidez para considerarle normal, se evalúa colocando una gota de semen entre un portaobjetos y un cubreobjetos previamente calentado, se le lleva al microscopio en objetivo de 400x. (54)

Se le clasifica de acuerdo al porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva como:

Tabla 1 Motilidad Individual

Calificación	Porcentaje
muy buena	80-100%
Buena	60-79%
Regular	40-59%
Pobre	<40%

Fuente: (55)

La motilidad en semen fresco debe oscilar entre los 70-95 % para que sea considerado de buena calidad y la motilidad seminal post-congelación se describen valores superiores a 50% para considerar que tiene buena calidad. (55)

Se toma en cuenta el total de espermatozoides que se encuentran en un campo y el número de espermatozoides móviles. Hay que tener en cuenta que los espermatozoides que presentan movimientos ondulatorios no se contabilizan como móviles ya que generalmente reflejan defectos morfológicos. (56)

Motilidad Masal

Se determina la motilidad que posee la reunión de todos los espermatozoides de la muestra, considerando la presencia de “oleadas”, colocando una gota de muestra en un portaobjetos pre calentado a 37°C, y se evalúa en el microscopio con un objetivo de 10x. (49)

La motilidad masal se clasifica en una puntuación de 0-5 con porcentajes de acuerdo al movimiento, como:

Tabla 2 Calificación de Motilidad Masal

Puntos	Calificación	Porcentaje	Descripción
5	Muy bueno	90%	Ondas rápidas
4	Bueno	70-85%	Movimiento vigoroso
3	Regular	45-65%	Bajo movimientos en las
2	Pobre	20-40%	Ausencia de ondas
1	Muy pobre (10%)	10%	Solo el 10% muestra vitalidad
0	Muertos	0%	No existe actividad de ningún espermatozoide

Fuente: (49)

La observación depende de la experiencia del observador por lo cual la calificación de normal o no es subjetiva, salvo en el caso de la ausencia total de movimientos; siendo 4-5 los valores aceptados. (57)

Los espermatozoides pueden verse agrupados unos a otros y con otras células (células epiteliales o macrófagos); se desconoce la importancia de este hecho en el perro, aunque a no ser que afecte a la totalidad de la muestra no es probablemente un síntoma con pronóstico malo, el valor adecuado de espermatozoides móviles en semen fresco debe ser de 150 millones para obtener tasas de fertilidad. Al usar semen congelado se recomiendan que exista una cantidad de espermatozoides móviles de 200 millones. (58)

6.7.2.2 Vitalidad

Para evaluar la vitalidad se realiza a través de técnicas de tinción vital con eosina-nigrosina al 2% donde se pueden apreciar los espermatozoides vivos y los muertos ya que las células que presentan una membrana plasmática funcional no permiten el paso del colorante, mientras que si está a sufrido alguna alteración el colorante se introduce en el interior de la célula y aparece teñida. (59)

Para este procedimiento se debe teñir el semen con eosina-nigrosina al 2% posteriormente se lleva a baño María a 37°C por 10 segundos, luego se procede a mezclar dos gotas de eosina más una gota de semen; se realiza un frotis en el portaobjetos, cuando la placa este seca, se evalúa los espermatozoides con el objetivo de 100x; se cuenta un aproximado de 100 espermatozoides totales en diferentes campos y se obtiene un promedio. Con este paso también se puede verificar las anomalías que pueden presentar los espermatozoides. (60)

El semen fresco es considerado de buena calidad cuando tiene un 90 a 95% de vitalidad, mientras que, el semen crioconservado debe de poseer mínimo un 80% de vitalidad para ser aceptable. (61)

6.7.3 Morfología

La morfología espermática nos permite determinar cuáles son las muestras idóneas para garantizar resultados exitosos en la reproducción asistida, debido a que las anomalías tienen gran relación con la infertilidad. (48)

Un semen normal presenta más del 70% de espermatozoides con morfología normal, a mayor porcentaje de espermatozoides anormales, menor fertilidad. (57)

Se emplean colorantes vitales para la observación, una de las tinciones más utilizada es la de eosina-nigrosina al 2% aunque también se pueden emplear otras técnicas de tinción como la de Azul de metileno, posteriormente se realiza una dilución de 1:1, para evaluar la morfología espermática se debe de tomar en cuenta dos tipos de anomalías; las primarias que son anomalías producidas en el testículo durante la espermatogénesis y las secundarias son a causa de errores de manipulación del semen por parte del examinador al momento de la obtención del mismo o durante el tránsito a través del sistema ductal. (62)

- **Primarias:** el porcentaje normal de malformación es del 10-15%. malformaciones de la cabeza, de la pieza intermedia y del flagelo. (53)
- **Secundarias:** el porcentaje normal de malformación es del 10-20%. persistencia de la gota citoplasmática, flagelos doblados, ruptura del acrosoma. En la especie canina la presencia de un flagelo doblado no tiene efecto sobre la fertilidad, sin embargo en caso de la gota citoplasmática proximal se ha determinado que si afecta a la fertilidad. (63)

Tabla 3 Clasificación de las anomalías espermáticas

Clasificación de las anomalías espermáticas		
Anormalidades Primarias	Cabeza	Microcefalia
	Cuello	Macrocefalia
		Doble Cabeza
		Cabeza deformada
		Edema
		Gota Proximal
Anormalidades secundarias	Cola	Muy Enrollada
		Gota distal
		Acrosoma Desprendido
		Colas dobladas, enrolladas, enredadas

Fuente: (48)

6.8 Concentración espermática

La concentración espermática es el número de espermatozoides existentes en el semen, Se calculan los millones de espermatozoides por mililitro de semen eyaculado. Para el conteo de espermatozoides se utiliza la cámara Neubauer, la cámara se llena con la suspensión de espermatozoides y el recuento se lleva a cabo usando un microscopio de luz.

El diluyente de la fracción seminal utilizada debe detener el movimiento y prevenir el agrupamiento de las células; se trabaja con una solución de suero fisiológico formulado con cloruro de sodio 9 gr; formaldehído al 40% (3ml); y agua destilada (1000ml). (66)

La concentración de espermatozoides normal es de 100 – 500 x 10⁶/ml; para una inseminación se necesita 200 millones de espermatozoides. (50)

Para el cálculo se aplicó la siguiente fórmula. (67)

$$\text{Esp. /mm}^3 = (A \times B \times C \times D)$$

A: número de espermatozoides contados

B: tamaño del cuadrado (400mm^3)

C: dilución realizada 1 ml

D: se multiplica por 10 para que el resultado quede expresado en mm^3

E: número de cuadros contados

6.9 Factores que afectan las características del semen

Pubertad

Cuando recién un perro inicia su pubertad los espermatozoides no están completamente formados ya que aún no han alcanzado todo su proceso de maduración, por esta razón los eyaculados del mismo son pobres, obteniendo baja concentración espermática, espermatozoides deformes o muertos, en las eyaculaciones posteriores estos defectos van a ir desapareciendo. (68)

Frecuencia de eyaculación

La frecuencia de eyaculación tiene gran importancia en cuanto a volumen y concentración espermática se refiere, a causa de tener una actividad sexual frecuente los espermatozoides no se regeneran por completo y no puedan acumularse en los epidídimos, por lo cual dichos parámetros tienden a bajar. (69)

Tamaño y patología de la próstata

Existe una íntima relación ente el tamaño prostático, sus patologías como la hiperplasia prostática glandular con el volumen seminal total por eyaculado. (28)

Tamaño testicular.

Tanto la producción espermática como la concentración de espermatozoides por eyaculado aumentan a medida que el tamaño testicular se incrementa. (9)

6.10 Crioconservación de semen

La crioconservación es un método de congelación y almacenamiento de espermatozoides por el cual se puede conservar semen por un periodo indeterminado de tiempo, el cual requiere una manipulación especial del mismo. (70)

Para crioconservar una muestra primero debe ser evaluada la calidad espermática, para conocer si la muestra obtenida está apta para su posterior congelación, posteriormente se debe contar con un buen diluyente, debido a que ayuda a la protección y prolongación de vida del espermatozoide durante el congelamiento, también se debe contar con un tanque de nitrógeno el cual debe mantenerse siempre con un volumen constante para no afectar las muestras. (71)

El semen antes de ser congelado se lo debe refrigerar a 5°C para estabilizar la temperatura y luego se reevalúa la calidad de semen para saber si se encuentra apto para congelar. (68)

6.11 Diluyentes para semen congelado

Los diluyentes son unas sustancias que se añaden a la muestra seminal, para cumplir con varias funciones con el fin de resguardar la viabilidad de los espermatozoides, sin importar el tiempo que estos estén congelados. (72)

6.12 Características de un buen diluyente

Para ser considerado un buen diluyente, deberá cumplir con los siguientes requisitos en cuanto a su función se refiere como son:

1. Debe evitar el shock térmico, el cual puede afectar al espermatozoide, para esto en algunos diluyentes se le añaden ciertas sustancias para ayudar a potenciar esta característica como es el caso de la yema de huevo. (73)
2. Brindar fuentes de energía y nutrientes ya que ambos son de vital importancia sobretodo en la motilidad de los espermatozoides (74)
3. Contar con reguladores de pH o tampón ya que los espermatozoides y las bacterias contenidas en el semen, producen algunos metabolitos como ácido láctico que pueden llegar a alterar y dañar la muestra. (75)
4. Tener electrolitos para mantener una adecuada presión osmótica y también deben de contener antibióticos cuya función es impedir la contaminación del semen, estos a su vez no deben dañar la calidad del semen. (73)

6.12.1 Composición

El diluyente debe poseer una variedad de componentes que obstruyan el deterioro de la muestra seminal. (72) Dichos componentes son:

- Agentes crioprotectores que garanticen la integridad celular ante los cambios de estado del agua penetrantes de la membrana.
- Agua bidestilada.
- Sustancias iónicas y no iónicas que aseguren el mantenimiento de la osmolaridad y pH del medio.
- Un energético capaz de atravesar la membrana plasmática
 - Macromoléculas protectoras de membranas.
- Aditivos, como enzimas, aminoácidos y otros compuestos.
- Azúcares no permeables a través de la membrana plasmática
 - Antibióticos, para evitar el crecimiento bacteriano (75)

6.13 Agentes crioprotectores

Son sustancias hidrosolubles y de baja toxicidad, que reducen el punto eutéctico de una solución dada, es decir que disminuye la cristalización de la muestra, el descenso de este punto implica que se alcanzará una concentración dada de solutos a una temperatura menor, de forma que la célula estará más deshidratada y el gradiente osmótico al que estará sometido será menor (71)

Bioquímicamente es posible distinguir tres tipos de crioprotectores, como son los azúcares (glucosa, lactosa, sucrosa, sacarosa), alcoholes (metanol, etanol, propanol, 1-2 propanediol y glicerol), y el dimetil sulfóxido. (73)

Los crioprotectores pueden clasificarse también en agentes penetrantes y no penetrantes de acuerdo a la permeabilidad celular.

- Los crioprotectores permanentes son de bajo peso molecular y permeable a través de la membrana celular; como son: el glicerol, el dimetilsulfoxido (DMSO) y propanediol (PROH). Cuya acción crioprotectora se atribuye principalmente a su habilidad de prevenir acumulación excesiva de electrolitos y otras sustancias durante el proceso de

congelamiento, y la formación de cristales de hielo que rompen la estructura de la membrana, su bajo peso molecular permite la entrada rápida través de la membrana celular, modula la estabilidad y fases de la bicapa de los fosfolípidos, así como también afecta los procesos de solvatación de agua. (75)

- Los crioprotectores no permanentes; poseen alto peso molecular, son efectivos a velocidades altas de congelación, ejerciendo su acción crioprotectora promoviendo la rápida deshidratación celular y suelen usarse asociados a los agentes penetrantes; los más utilizados son: sacarosa, glucosa, dextrosa y dextrano. (73)

6.14 Diluyente comercial triladyl

Es un diluyente concentrado que necesita la adición de yema de huevo para cumplir con las características óptimas para la crioconservación de semen. (76)

Composición

- TRIS
- Ácido cítrico
- Azúcar
- Tampones
- Glicerina
- Antibióticos
- Agua de extrema pureza
- 100 ml del diluyente
- Tilosina 5,7 mg

- Gentamicina 28,6 mg
- Espectinomicina 34,3 mg
- Lincomicina 17,2 mg

6.14.1 Preparación del diluyente

Para la preparación del diluyente primero se debe realizar una solución madre, para esto, se vierte el concentrado de triladyl en un matraz graduado, posteriormente se añade 750 ml de agua pura estéril agregando en varios pasos, dicha solución es viable alrededor de 7 días a temperatura de 5°C. (77)

La solución madre para poder utilizarse debe ser mezclada con 250ml de yema de huevo, para lo cual primero se separa la yema de la clara de huevo sin romper la yema, con el fin de asegurarse que la yema no contenga residuos de clara, se pasa por un papel filtro haciéndola rodar; luego se envuelve en el papel y se presiona para abrir la membrana, una vez realizados estos procedimientos se coloca la solución madre a la yema de huevo homogenizándole constantemente. (70)

6.15 Yema de huevo

La yema de huevo es un ingrediente que ha sido adicionada en los diluyentes para la congelación del semen gracias a que cubre y protege la membrana plasmática, salvaguardando la motilidad de la membrana; esta capacidad de protección se adjudica a las lipoproteínas, fosfolípidos y lecitinas que esta posee. Además de proteger también actúa como una fuente proteica para la célula y es un buffer osmótico. (78)

7 VALIDACION DE LA HIPOTESIS

H₀= No existe diferencia significativa en la vitalidad y motilidad espermática entre el tiempo de descongelamiento.

Basándose en los resultados obtenidos luego de la evaluación de las características microscópicas del semen canino; se acepta la hipótesis nula (**H₀**), debido a que al culminar la

investigación, se demostró que a pesar de los periodos de tiempo en los cuales se criopreservó las muestras, no existió diferencia significativa de motilidad y vitalidad espermática.

8 METODOLOGIA

8.1 Métodos

En la presente investigación se utilizó la técnica de observación, al registrar la información obtenida en cada muestra estudiada basándose en los parámetros de motilidad y vitalidad espermática para su posterior análisis.

Una vez recolectada la información, se aplicó el método cuantitativo y el método inductivo, los cuales ayudaron a determinar si existieron cambios en las muestras descongeladas en los distintos tiempos de estudio.

8.2 Localización y duración del proyecto

La investigación se llevó a cabo en la Clínica Animal Kingdom en la provincia de Chimborazo cantón Riobamba ($1^{\circ}40'15.5''S$ $78^{\circ}38'49.6''$), en la zona urbana de la ciudad, parroquia Velasco, con una duración de 120 días.

8.3 Unidades experimentales

Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizaron las muestras seminales de 5 caninos previamente entrenados de raza Schnauzer miniatura de 2.5 y 3 años, obteniendo 3 pajuelas de cada uno a través de la técnica de extracción manual, las cuales fueron crioconservadas en nitrógeno líquido a $-196^{\circ}C$ en periodos de 15, 30 y 45 días.

9 DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Luego de la evaluación del semental y la toma del material seminal de cada ejemplar con el método de extracción manual, se proceden a analizar las muestras.

9.1 Análisis de las características macroscópicas de la muestra seminal

Los equipos y materiales se encontraban a 37°C para no causar un shock térmico al momento que se analizaron las muestras desde su recolección, se evaluó el olor con fines de no encontrar una esencia pútrida o urinosa, presentaron un color blanco acuso, posteriormente se colocó el fluido en un tubo graduado para determinar su volumen, se substrajo una gota de semen, la cual se colocó en el papel de pH, y se comparó con la escala de color.

9.2 Análisis de las características microscópicas de la muestra seminal

9.2.1 Motilidad

El análisis de la Motilidad masal se realiza colocando una gota de semen en un portaobjetos calentada anteriormente a 37°C y llevándolo al microscopio en el cual se valora con un objetivo de 10 x para motilidad masal observando las ondas y remolinos que presenten.

Según el movimiento de las ondas y remolinos se califica con una puntuación del 0 al 5 o con porcentajes como:

Tabla 4 Calificación de Motilidad Masal

puntos	Porcentaje	Descripción
5	90%	Ondas rápidas
4	70-85%	Movimiento vigoroso
3	45-65%	Bajo movimientos en las
2	20-40%	Ausencia de ondas
1	10%	Solo el 10% muestra vitalidad
0	0%	No existe actividad de ningún espermatozoide

Fuente: (49)

De la misma manera colocando una gota de muestra en un portaobjetos y adicionando un cubreobjetos, se lleva al microscopio con objetivo de 40x se valora en varios campos y se obtiene un promedio para valorar la motilidad individual.

Tabla 5 Calificación de Motilidad Individual

Calificación	Porcentaje
Pobre	<40%
Regular	40-59%
Buena	60-79%
muy buena	80-100%

Fuente (55)

9.2.2 Vitalidad

Se pre-calentó el colorante vegetal (eosina-nigrosina 2%) a 37°C por 10 segundos, posteriormente se homogenizo una gota de la muestra con 2 gotas del colorante; se colocó la muestra con el colorante vegetal al extremo del portaobjetos, con ayuda de otro portaobjetos a 45° sobre la gota de muestra y se realizó un frotis y se dejó secar un momento; se le llevo al microscopio con un objetivo de 100x, se contó un aproximado de 100 espermatozoides entre vivos y muertos para obtener la vitalidad.

10 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

10.1 Preparación del semen con el diluyente

1. Se Colocó la muestra biológica en un tubo graduado, luego se incorporó el diluyente con una relación de 1:2 y se mezcló ligeramente para homogenizar

10.2 Preparación de las pajuelas 1

Identificación de las pajuelas.

2 Se introdujo la pajuela de 0.5 en un micro aspirador y se recogió la muestra.

3 Al llenar la pajuela se dejó una burbuja de aire de aproximadamente 0.5 cm.

4 Una vez aspirada la muestra se selló con las bolitas selladoras.

5 Se obtuvieron tres pajuelas de cada ejemplar.

10.3 Crioconservación del semen

1 Se situaron las pajuelas en una gradilla y se les refrigeró por 4 horas intercambiando de lugar hasta alcanzar los 5°C.

2 La primera hora se le dejó a 30°C en la puerta abierta del refrigerador.

3 La segunda hora se posicionó en la parte interna del refrigerador con una temperatura de 20°C se mantuvo la puerta del refrigerador abierta.

4 En la tercera hora se colocó a una temperatura de 10°C con la puerta del refrigerador cerrada.

5 La cuarta hora se le dejó a una temperatura de 5°C con la puerta cerrada.

6 Las muestras se colocaron en vapores de nitrógeno líquido por 10 minutos con una temperatura de -120°C.

7 Una vez culminado los 10 minutos las pajuelas se sumergieron en el tanque de nitrógeno a una temperatura de -196°C .

10.4 Descongelamiento de pajuelas

1 Con cuidado se alzó la canastilla y se tomó una pajuela.

2 Se colocó en baño María a 37°C por un minuto.

3 Para analizar la muestra se realizó un corte en la parte posterior de la pajuela y un segundo corte en la mitad.

11 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Análisis y discusión de características macroscópicas

Tabla 6 Análisis del color del semen canino

COLOR		
Reproductor	PRE CONGELACION	POST CONGELACION
	Semen fresco	todos los tiempos
Canino 1	blanco acuoso	amarillento
Canino 2	blanco acuoso	amarillento
Canino 3	blanco acuoso	amarillento
Canino 4	blanco acuoso	amarillento
Canino 5	blanco acuoso	amarillento

Fuente: directa

Tabla 7 Análisis del pH del semen canino

pH		
Reproductor	PRE CONGELACION	POST CONGELACION
	Semen fresco	todos los tiempos
Canino 1	7.0	7.0
Canino 2	7.0	7.0

Canino 3	6.8	6.8
Canino 4	7	7
Canino 5	6.7	6.7

Fuente: directa

Hernández George (2013) afirma que el color de las muestras post descongelamiento pueden variar según el tipo de crioprotector utilizado en el diluyente como es el caso de la yema de huevo, por otra parte un buen diluyente debe contar con sustancias reguladoras de pH o sustancias tampón generando que este se mantenga constante. Corroborando con lo anterior se evidencio que el color de las muestras recolectadas en semen fresco es blanco acuoso, mientras que post descongelación presentaron un color amarillento propio de la yema de huevo, con un pH constante en todas las muestras analizadas. (Tabla 6 y 7)

Análisis y discusión de Motilidad Masal

Tabla 8 Análisis de Motilidad Masal

Reproductor	Pre congelación		Post congelación		
	Semen Fresco	Día 0	Día 15	Día 30	Día 45
Canino 1	95%	86%	85%	85%	85%
Canino 2	95%	88%	88%	87%	87%
Canino 3	90%	85%	85%	84%	84%
Canino 4	98%	89%	88%	88%	87%
Canino 5	96%	90%	90%	88%	88%
TOTAL	94.8%	87.6%	87.2%	86.4%	86.2%

Fuente: directa

Atencio Víctor (2017) indica que al momento de procesar el semen para la crioconservación existe una variación del porcentaje en las características de los espermatozoides entre el semen fresco y el crioconservado ocasionado por el estrés osmótico y shock térmico que se producen al adicionar un crioprotector, o por el efecto mismo de la congelación en el cual algunas células no resistieron. Podemos evidenciar el cambio sufrido en el presente trabajo al tener un total de motilidad masal del 94.8% en semen fresco; tras la descongelación horas después de haber realizado el proceso se evidenció un porcentaje del 87.6% de motilidad masal, pudiendo confirmar lo que Atencio indica.

Portón Ana y Lagos Johana (2014) manifiestan que la crioconservación detiene completamente a los espermatozoides, lo cual hace que se mantengan constantes las características espermáticas a pesar del paso de los días, obteniendo así en su investigación resultados de una motilidad de 84,37% post descongelación a los 15 días y una motilidad de 84,37% a los 60 días post congelación. Sin embargo el porcentaje de las características de las muestras crioconservadas disminuyen en el análisis por errores del ejecutor al causar shock térmicos ya sea por equipos que no se encuentran a 37°C, por dejar mucho tiempo al descongelar las pajuelas en baño María o por el ambiente del laboratorio. Caso similar ocurrió en el presente proyecto en el cual se obtuvo un promedio del 87.2% de motilidad espermática a los 15 días post congelamiento, 86.4% de motilidad espermática a los 30 días post congelamiento y 86.2% de motilidad espermática a los 45 días post congelamiento.

Estas alteraciones podemos evidenciar en cada muestra de los caninos estudiados como en el caso del canino 2 donde a los 15 días se obtuvo una motilidad masal del 88% y en el día 30 y 45 existió una motilidad masal del 87%; en el canino 5 podemos apreciar que fue más notorio los cambios sufridos ya que al día 15 se consiguió una motilidad del 90% y los días 30 y 45 se produjo un descenso al 88% de motilidad producido por factores predisponentes que pudieron afectar en la realización de la practica causando un shock térmico.

Análisis y discusión de la Motilidad Individual

Tabla 8 Análisis de Motilidad Individual

Reproductor	Pre	Post congelación			
	Semen Fresco	Día 0	Día 15	Día 30	Día 45
Canino 1	81%	80%	80%	79%	79%
Canino 2	82%	81%	79%	78%	75%
Canino 3	80%	79%	78%	76%	75%
Canino 4	83%	80%	79%	77%	77%
	Canino 5	85%	85%	84%	79%
TOTAL	82,20%	81,00%	80,20%	78,80%	77,00%

Fuente: directa

Escudero Luis (2015) Asegura que la motilidad individual varía según el estímulo del espermatozoide al cambio de temperatura, siendo una característica propia de cada célula, sin embargo se debe tener en cuenta que una muestra es aceptable cuando al descongelar el promedio de toda la muestra es superior al 60% de motilidad individual. Lo cual se puede constatar con los datos obtenidos en el presente proyecto en el que se obtuvo un promedio del 82.20% de motilidad individual en semen fresco, el cual fue variando en los días analizados por lo antes mencionado pero se mantuvieron dentro de las calificaciones adecuadas, adquiriendo valores promedios en motilidad individual del 80.20% a los 15 días, 78.80% a los 30 días y el 77% a los 45 días post congelamiento.

Análisis de la Vitalidad Espermática

Tabla 9 Análisis de la Vitalidad Espermática

Reproductor	Pre congelación	Post congelación			
	Semen Fresco	Día 0	Día 15	Día 30	Día 45
Canino 1	90%	85%	85%	83%	80%
Canino 2	98%	87%	87%	85%	85%
Canino 3	97%	78%	78%	78%	78%
Canino 4	97%	90%	90%	88%	88%
Canino 5	98%	87%	87%	85%	85%
TOTAL	96,00%	85,40%	85,40%	83,80%	83,20%

Fuente: directa

Carpio Samantha (2015) asegura que cuando se maneja adecuadamente los parámetros de descongelación y utilizando un buen diluyente, se pueden alcanzar altos porcentajes de vitalidad post congelación obteniendo en su análisis el 82,5% de vitalidad; estos datos varían por errores técnicos al momento de procesar las muestras. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican la vitalidad espermática se encuentran sobre el 70%, lo cual nos indica que la crioconservación es un método totalmente eficaz para preservar muestras seminales caninas.

Portón Ana y Lagos Johana (2014); manifiestan que la crioconservación detiene completamente a los espermatozoides, lo cual hace que se mantengan constantes las características espermáticas, permitiendo que las muestras sean almacenadas por tiempo indefinido, en su investigación se determinó una vitalidad del 77.13% a los 15 días post congelamiento y una vitalidad del 77% a los 60 días post congelamiento. Caso similar ocurre en el presente proyecto en el cual se obtuvo un promedio de vitalidad espermática del 85.4% a

los 15 días post congelamiento, el 83.80% a los 30 días post congelamiento y una vitalidad espermática del 83,20% a los 45 días post congelamiento.

12 IMPACTOS

12.1 Impacto Técnico

El presente trabajo tiene un impacto técnico, pues genera información para dar inicio a nuevas investigaciones, evidenciándose en los resultados obtenidos de los análisis microscópicos y la obtención de datos estadísticos en parámetros de motilidad y vitalidad espermática de semen crioconservado en distintos tiempos.

12.2 Impacto Social

El impacto social está comprendido en informar a los propietarios caninos, otros métodos de reproducción menos riesgosas para sus mascotas teniendo en cuenta el bienestar del animal, como la salud, cuidado y manejo, evitar la transmisión de enfermedades sexuales.

13 CONCLUSIONES

- La valoración de las características macroscópicas determinó que el color de las muestras seminales vario debido a la adición de la yema de huevo presentando un color amarillento, y el pH se mantuvo constante gracias a las características reguladoras de pH o sustancias tampón que presenta el diluyente.
- La evaluación de la vitalidad espermática se analizó por medio del conteo de espermatozoides vivos y muertos obteniendo valores de 83.8% a los 15 días de descongelarse, 83% a los 30 días de descongelarse, y 83% a los 45 días de descongelarse; presentando datos homogéneos en los distintos tiempos de valoración, indicando que la muestras se encuentran dentro de los rangos establecidos de vitalidad.
- El análisis de la motilidad espermática se realizó por observación directa manteniéndose dentro de los rangos establecidos en los distintos periodos de evaluación, con resultados de 87.2% a los 15 días de descongelado, 86.4% a los 30 días de descongelado, 86.2% a los 45 días de descongelado.

14 RECOMENDACIONES

- Regular poco a poco la temperatura al momento de refrigerar las muestras hasta alcanzar una temperatura de 5°C para evitar un shock térmico.
- En cuanto al mantenimiento del semen criopreservado, siempre debe controlarse el nivel de nitrógeno del termo de almacenamiento, evitando llegar a niveles críticos que podrían afectar a los espermatozoides.
- Comparar el diluyente triladyl con varios diluyentes para comparar los resultados y poder determinar cuál es el más óptimo para la conservación del semen canino.
- Manejar bien las medidas de las soluciones utilizadas, para no comprometer los resultados.

15 BIBIOGRAFIA

1. Stornelli A, Stornelli C, Arauz M, Sota R. Inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y congelado [Internet]. Sedici.unlp.edu.ar. 2001 [cited 16 March 2019]. Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11126>
2. Ramírez C. Semen Congelado en Caninos con el Kit Comercial CaniPro [Internet]. Repositorio.uaaan.mx. 2012 [cited 18 July 2012]. Available from: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3325/CARLOS%20FRANCISCO%20RAIREZ%20RODRIGUEZ.pdf?sequence=1>
3. Bohórquez R, De Ondiz A, Palomares R, Gallardo F. determinacion del protocolo de crio preservacion de semen canino: reporte preliminar. Revista cientifica [Internet]. 2005 [cited 19 July 2019];(5):15. Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/959/95915510.pdf>
4. Gobello C. Temas de reproducción de caninos y felinos por autores hispanoamericanos. 2nd ed. Argentina: Zoovet; 2004.
5. Vaca M. Supervivencia y viabilidad espermática canina usando diluyentes de semen y concentraciones crio protectoras en toda la cadena de criopreservacion de semen [Internet]. Dspace.udla.edu.ec. 2016 [cited 19 July 2019]. Available from: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/5578/1/UDLA-EC-TMVZ-2016-05.pdf>
6. barioglio, c. (2001). *diccionario de producción animal*. 1st ed. córdoba: brujas, p.279.
7. De alba, J. (1964). *reproducción y genética animal*. 1st ed. Costa Rica: sic, pp.28-29.
8. Iglesias, B. (2007). *Bases de la Fisiología - 2º Edición*. 2nd ed. Tebar, p.473.
9. Sadava, Heller, Orians, purves and hillis (2008). *vida la ciencia de la biologia*. 8th ed. Madrid: panamericana, p.907.
- 11 Garay, G. (2019). *Efecto de la centrifugación coloidal previo al proceso de crio conservación sobre la calidad seminal post descongelación en caninos*". magister. universidad de cuenca.
- 12 Páramo, R. and Balcazar, J. (2012). *manual de practicas en manejo reproductivo*. doctorado. Universidad Nacional Autonoma de Mexico.
- 13 Alvarez Díaz, C., Martín Hernández, M., Pérez Esteban, H., Quincosa Torres, J. and Sánchez Puzo, A. (2009). *Fisiología animal aplicada*. 1st ed. La Habana: Editorial Félix Varela, p.83.

- 14 Urroz, C. (1991). *Elementos de anatomía y fisiología animal*. San José, C.R.: UNED, p.191.
- 15 Sampedro, G. and Piñuela, C. (1834). *Elementos de anatomía veterinaria general y descriptiva*. 2nd ed. Madrid: [Hijos de Doña Catalina Piñuela], p.288.
- 16 Casas de Mendoza, N. and Sampedro, N. (1830). *Tratado elemental completo de veterinaria*. Madrid: Don Ramon Verges, p.327.
- 17 Araiza, M., Bistner, S., Ford, R., Kirk, R., Orizaga Samperio, J. and Pérez Gómez, J. (2002). *Manual de terapéutica y procedimientos de urgencia en pequeñas especies*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- 18 Risueño, C., Piñuela, C. and Librería de Pérez (1829). *Diccionario de veterinaria y sus ciencias auxiliares*. 3rd ed. Madrid: librería de Pérez, p.353.
- 19 König, H., Liebich, H. and Bragulla, H. (2013). *Anatomía de los animales domésticos*. 2nd ed. Madrid: Ed. Médica Panamericana, p.118.
- 20 Campbell, M., Wein, A., Kavoussi, L. and Walsh, P. (2016). *Campbell-Walsh urology*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier, p.2693.
- 21 Casas de Mendoza, N. (1855). *Elementos de fisiología comparada de los animales domésticos*. 4th ed. Madrid: Librería de Don Angel Calleja, p.253.
- 22 Robert y Serrat, J. (1898). *Tratado de anatomía descriptiva de los animales domésticos*. Zaragoza: Tip. viuda C. Ariño, p.679.
- 23 Sisson, S. (2007). *Anatomía de los animales domésticos*. 7th ed. Barcelona: Salvat.
- 24 Wanke, M. and Gobello, C. (2006). *Reproducción*. 3rd ed. Buenos Aires: Inter-Médica.
- 25 Arciniega (2019). *Club de Caza :: Veterinaria*. [online] Club-caza.com. Available at: <http://www.club-caza.com/vet/articulos/107reprod.asp> [Accessed 15 Apr. 2019].
- 26 Root Kustritz, M. (2005). *Manual de reproducción del perro y del gato*. Sant Cugat del Vallés (Barcelona): Multimédica Ediciones Veterinarias.
- 27 Brusco H. *Histología médico-práctica*. 1st ed. Barcelona: elsevier; 2014.
- 28 Bustos Obregón, E. and Torres -Díaz, L. (2012). Reproducción Estacional en el Macho. *International Journal of Morphology*, [online] 30(4), pp.1266-1279. Available at: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000400004 [Accessed 18 May 2019].
- 29 Dumon (2011). frotis vaginales e inseminacion artificial en perras. *clivetpeqani*, [online] p.43. Available at:

- <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v9n3/11307064v9n3p119.pdf> [Accessed 18 Jul. 2019].
- 30 Pérez y Pérez, F. (1969). *Fisiopatología de la reproducción animal*. Barcelona: CientíficoMédica.
- 31 Illera Martín, M. and Illera del Portal, J. (1994). *Reproducción de los animales domésticos*. Madrid: Editorial Aedos.
- 32 Martí Angulo, S. (2011). *Reproducción y neonatología canina y felina*. 1st ed. Zaragoza: Servet.
- 33 Lucas, X. (2006). extraccion seminal en el perro. *clivetpeqani*, [online] pp.380-381. Available at:
<https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v26n4/11307064v26n4p380.pdf> [Accessed 16 Jun. 2019].
- 34 Ostrowski, J. (1979). *Theriogenologia I*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.**p.85-90**
- 35 Briones S F. Manual de medicina veterinaria homeopática. New Delhi: B Jain; 2001.
- 36 Houston, mayhew. Examen y diagnóstico clínico en veterinaria. Madrid: El Sevier Science; 2002
- 37 Ramírez B G. Manual de semiología clínica veterinaria. Manizales, Colombia: Editorial Universidad de Caldas, Ciencias Agropecuarias; 2005.
- 38 Ducoing Watty A. Estadística para veterinarios y zootecnistas. México: Newtow, Edición y Tecnología Educativa; 2016.
- 39 Reatiga O, Determinación del efecto de dos protocolos de criopreservación sobre la viabilidad de la célula espermática canina para la raza pastor belga mallinois. |Universidad la Salle [Internet]. Bogotá- Colombia: 2015. [cita 2018 Feb 10] Disponible en:
[http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18364/76122206_2015 .pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18364/76122206_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- 40 Velázquez, R.Examen y diagnóstico andrológico en el perro extracción de semen. Maracay-Venezuela. 2008
- 41 Palma G. Biotecnología de la reproducción. 1st ed. Argentina: paraíso; 2008.
- 42 Gobello C. Temas de reproducción de caninos y felinos por autores hispanoamericanos. 2nd ed. Argentina: Zoovet; 2004.

- 43 Radostits O.M., Examen y diagnostico Clínico en Veterinaria; Quinta edición; España, Elsevier; 2002
- 44 Sanz j. Archivos de Zootecnia: Editorial report 2009. 8th ed. España: Archivos de Zootecnia; 2010.
- 45 Villaverde S, Estes M, Moreno J. Obtención, almacenamiento y morfometría de espermatozoides aviares. 1st ed. Argentina: Dunken; 2012.
- 46 Universidad Nacional del Litoral. inseminacion artificial en caninos [Internet]. Fcv.unl.edu.ar. 2019 [cited 19 June 2019]. Available from: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/teriogenologia/informacion/110411/PDFs%20word/TP13.pdf>
- 47 Pineda M, Dooley M. Métodos para la recolección de semen en animales domésticos [Internet]. Derechoyhumanidades.uchile.cl. 1991 [cited 20 June 2019]. Available from: <https://derechoyhumanidades.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4622>
- 48 Zamora Galvis A. Inseminación artificial en caninos como alternativa para mejorar características genéticas [Internet]. Repository.unad.edu.co. 2016 [cited 19 June 2019]. Available from: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/8446>
- 49 Altamirano L, Pereira p. EVALUACION DE LA FERTILIDAD DEL SEMEN CANINO FRESCO Y CONGELADO, EN UN PERRO DE RAZA PITBULL TERRIER, UTILIZANDO 3 DILUYENTES EN LA CLINICA VETERINARIA LOS ANDES EN QUITO [Internet]. Dspace.ueb.edu.ec. 2011 [cited 19 June 2019]. Available from: <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/830/1/090.pdf>
- 50 Cunningham Jim; Fisiología Veterinaria; Tercera edición; Madrid – España; Elsevier Saunders editores; año 2008
- 51 Couto C., Nelson R.; Medicina Interna de Pequeños Animales; Primera edición, España; Elsevier; año 2005
- 52 Lavin S, Cuenca R, Marco I, Pastor J. exploracion clinica en animales domesticos (caballo,vaca,perro,gato) practicas de propedeutica clinica. Vol 1. 1ra ed. Barcelona España: servei; 2006.
- 53 Alamo Santana D. Crioconservación y viabilidad espermática en la Especie canina: utilización de nitrógeno líquido vs ultracongelador de -152° C. [tesis doctoral]. Universidad de las Palmas de Gran Canaria, 2007. [citado 12 abr 2019] Disponible en:

- <<http://acceda.ulpgc.es/bitstream/10553/1910/1/3031.pdf>>
- 54 Barragan I. EVALUACIÓN DEL EFECTO CRIOPROTECTOR DE DIFERENTES FUENTES DE ANTIOXIDANTES EN EL SEMEN BOVINO” [Internet]. Dspace.esPOCH.edu.ec. 2017 [cited 21 June 2019]. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7153/1/17T1470.pdf>
- 55 Ariagno J, Mormandi E. Guía práctica para la evaluación del semen. alba [Internet]. 2016 [cited 21 June 2019];:39-31. Available from: <http://file:///C:/Users/SYSTEMarket/Desktop/revista-aba-80-3-2016-guia-practica-para-laevaluacion-ariagno-y-col-web.pdf>
- 56 Escudero J. PRESERVACIÓN DE SEMEN OVINO MEDIANTE VITRIFICACIÓN Y CONGELAMIENTO LENTO, UTILIZANDO DIFERENTES DILUYENTES COMERCIALES [Internet]. Dspace.esPOCH.edu.ec. 2015 [cited 22 June 2019]. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5256/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>
- 57 Couto C., Nelson R.; Medicina Interna de Pequeños Animales; Primera edición, España; Elsevier; año2005
- 58 Feldman E., Nelson R., Endocrinología y Reproducción en perros y Gatos; Primera edición; McGraw-Hill/Intermedica; año2000
- 59 Buriticá E., Villanueva L. y Hernández L. 2009. ¿Cómo hacer una evaluación espermática en caninos? Revista Colombiana de Ciencia Animal. [internet] [citado 19 abr 2019]. Vol. 2, No. 2. Disponible en: revistas.ut.edu.co.
- 60 Gonzalez J, Avalos A, Vargas A. recolección y manipulación seminal in vitro [Internet]. 1st ed. Mexico: Universidad Autonoma Metropolitana; 2018 [cited 22 June 2019]. Available from: http://www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion_manipulacion.pdf
- 61 Jara R. ESTRES HIPEROSMOTICO DURANTE LOS PROCESOS DE CONGELACION DE SEMEN PORCINO [Internet]. Dspace.esPOCH.edu.ec. 2012 [cited 22 June 2019]. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2115/1/17T1100.pdf>
- 62 Tello E. EFECTO DEL DILUYENTE SOBRE LA VIABILIDAD ESPERMÁTICA PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN A DIFERENTES TEMPERATURAS EN CANINOS” [Internet]. Repo.uta.edu.ec. 2015 [cited 22 June 2019]. Available from:

<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22578/1/Tesis%2048%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20398.pdf>

- 63 Jurado, S.; Sarmiento, P. y Stornelli, A. 2008. La microscopía electrónica como herramienta en la evaluación de semen canino. *Analecta veterinaria.*, 28 (1): 7-14.
- 64 Gómez, M.; Girela, J.; Fernández, P. y Romeo, A. 2005. Estudio de las alteraciones morfológicas de espermatozoides humanos con microscopia electrónica de barrido (sem). *Rev. Iberoam. Fertil. Reprod. Hum.*, 22 (1): 59-66.
- 65 Radostits O.M., *Examen y diagnóstico Clínico en Veterinaria*; Quinta edición; España, Elsevier; 2002
- 66 Sorribas C., *Manual de Emergencia y Patologías Frecuentes del Aparato Reproductor*; Primera edición, México, D.F; Inter-medica; 2007
- 67 Bonilla C. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FECUNDANTE DEL SEMEN CANINO CONGELADO [Internet]. *Repository.lasalle.edu.co*. 2007 [cited 23 June 2019]. Available from:
<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6032/14002011.pdf?sequence=1>
- 68 VERSTEGEN J., Onclin K. & Iguer-Ouada M., Long-term Motility And Fertility Conservation Of Chilled Canine Semen Using Egg Yolk Added Tris-Glucose Extender: In Vitro And In Vivo Studies, *Theriogenology*, Vol. 64, No. 3, Elsevier, 2005.
- 69 PreserSemen. CRIOCONSERVACIÓN DE MUESTRAS DE SEMEN [Internet]. *Sefertilidad.net*. 2012 [cited 23 June 2019]. Available from:
<https://www.sefertilidad.net/docs/grupos/preservacion/PreserSemenCIgpreservacionSEF.pdf>
- 70 Carpio C. M, Cadillo C. J, Mellisho S. E. Efecto de dos métodos de congelación sobre la viabilidad espermática de semen de verraco [Internet]. *Scielo.org.pe*. 2008 [cited 23 June 2019]. Available from:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172008000100003
- 71 Gómez, M.; Girela, J.; Fernández, P. y Romeo, A. 2005. Estudio de las alteraciones morfológicas de espermatozoides humanos con microscopia electrónica de barrido (sem). *Rev. Iberoam. Fertil. Reprod. Hum.*,
- 72 Maqueada L. Conservación de la calidad del Semen: Diluyentes, Empaque, Temperatura y Transporte [Internet]. *Engormix*. 2009 [cited 23 June 2019]. Available from:

<https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/conservacion-semen-diluyentesempaquetetemperatura-y-transporte-t25879.htm>

- 73 Carballo D, Canseco R, Garcia R, Montiel F. comparacion de dos diluyentes comerciales para crioconservar semen bovino bajo condiciones de campo en el tropico humedo [Internet]. Uv.mx. 2009 [cited 24 June 2019]. Available from: <https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Comparacion-de-dos-diluyentescomerciales-para-preservar-semen-bovino.pdf>
- 74 Enríquez A. Características del diluyente de semen porcino | cidosa.net [Internet]. Cidosa.net. 2014 [cited 24 June 2019]. Available from: <http://cidosa.net/noticias/caracteristicas-del-diluyente-de-semen-porcino>
- 75 Pontón A, Lagos J, Efectos de la refrigeración y crioconservación sobre la motilidad y mortalidad de espermatozoides caninos. Universidad Central del Ecuador [Internet]. Quito-Ecuador: 2014: [cita 2018 Feb 11] Disponible en. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/12701/1/T-UCE-0014-0622014.pdf?fbclid=IwAR0R8aJgQeA1FuAKh6MgMUTdCO9g8_bU5RBStwFzf3BoH2KXdvySFzhHis
- 76 GmbH M. Triladyl®, 250 g [Internet]. 2019 [cited 25 June 2019]. Available from: <https://www.minitube.es/Productos/Bovino/Diluyentes-de-Semen/Triladyl-R-250-g>
- 77 TRILADYL & BILADYL [Internet]. Minitube.es. 2018 [cited 25 June 2019]. Available from: https://www.minitube.es/pdf/index/13500-1200_Leaflet-Biladyl_Triladyl_es_181113.pdf
- 77 Tabarez A. Optimización de protocolo de crioconservación de semen caprino de la raza autóctona en peligro de extinción Blanca de Rasquera [doctorado]. Universidad Autónoma de Barcelona; 2014.
78. Aguilar G, Amaro K, Hernández G. EVALUACIÓN DE DOS DILUYENTES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO: YEMA DE HUEVO VS LECITINA DE SOYA [Internet]. academia.edu. 2013 [cited 26 June 2019]. Available from: https://www.academia.edu/4366411/EVALUACION_DE_DOS_DILUYENTES_PARA_LA_CONSERVACION_DE_SEMEN_OVINO_YEMA_DE_HUEVO_VS_LECITINA_DE_SOYA



16 ANEXOS

Anexo 1

AUTORA

DATOS PERSONALES:

Nombre: ACURIO AGUIAR ADRIANA GABRIELA

Apellido Paterno Apellido Materno

Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Riobamba 01 de septiembre de 1992

Edad: 26 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria:

Chimborazo

Riobamba

Velazco

Provincia Cantón Parroquia

Laureles y Olivos

Teléfono(s): 032944459 Dirección 0992609383

Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: adriana.acurio3@utc.edu.ec**Cédula de Identidad o Pasaporte:** 0602956013**Tipo de sangre:**

O+

Estado Civil: Soltera**Personas con discapacidad:** N.º de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Referencia	Lugar (País y ciudad)
Segundo Nivel	Salesiano Santo Tomas Apóstol	General en Ciencias	54830	Ecuador

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Acurio Aguiar Adriana Gabriela.

Firma de la Autora

Anexo 2



Hoja de vida del tutor

DATOS PERSONALES:

Nombre: ARMAS CAJAS JORGE WHASHINGTON

Apellido Paterno

Apellido Materno

Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Latacunga 23 de abril de 1970

Edad: 49 años **Género:** Masculino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria:

Cotopaxi

Latacunga

La Matriz

Provincia

Cantón

Parroquia

Conjunto Los Rosales.

Teléfono(s): 032807619

Dirección

0998336900

Convencionales

Celular o Móvil

Correo electrónico: Jorge.armas@utc.edu.ec

Cédula de Identidad o Pasaporte: 0501556450

Tipo de sangre: A+

Estado Civil: Casado

Personas con discapacidad: N.º de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Tercer Nivel	Universidad Técnica de Cotopaxi	Doctor en Medicina Veterinaria	1020-05-591385	Ecuador
Cuarto Nivel	Universidad Agraria del Ecuador	Magister en Clínica y Cirugía de Caninos	1018-14-86045829	Ecuador

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Dr. Armas Cajas Jorge Washington Mg.

Firma del Tutor



Dirección: Vía Riobamba-Guano Km. 2.5	Telef: 032364098 Cel: 0999162564
RUC: 0603366873001	E-mail: g_villas@yahoo.es

Riobamba-Ecuador

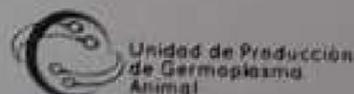
CERTIFICADO

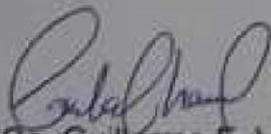
Yo, Guillermo Fernando Villa Samaniego portador de la cédula de identidad No. 060336687-3, GERENTE de "REPROGENES", certifico que **ADRIANA GABRIELA ACURIO AGUIAR**, portadora de la cédula de identidad 0602956013, desarrolló la práctica de su proyecto de Investigación "Crioconservación de Semen en perros Domésticos (*Canis lupus familiaris*), en la Clínica Animal Kingdom" en el laboratorio de Reprogenes, en el cual estuve en total vigilancia y supervisión de la realización de los procesos y resultados.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando a la portadora de este documento hacer uso en la forma que crea conveniente.

Riobamba, 17 de julio de 2019

Atentamente:




Ing. MGS. Guillermo F. Villa S. X.
GERENTE "REPROGENES"

Anexo 4

Fichas clínicas

Canino 1

1. RESEÑA DEL PACIENTE					
NOMBRE: Lucas		ESPECIE canina		RAZA schnauzer	
COLOR sal y pimienta	EDAD 3 años		FECHA DE NACIMIENTO 25/03/2016		
SEÑAS PARTICULARES ninguna					
2. CONSTANTES FISIOLÓGICAS					
TEMPERATURA 38.5°C	PESO 5 kg	C.C 2 seg	F.C. 120 lat./min	F.R 30 rsp/min	
3 ESTADO GENERAL					
ACTITUD	Alterado	Nervioso		Tranquilo X	
CONDICION CORPORAL	Ca quético	Delgado	Nor mal X	obeso	sobrepeso
ESTADO DE HIDRATAACION	Nor mal X	deshidratación 0-5%	6-7%	8-9%	+ 10%
4 EXAMEN ANDROLOGICO					
ESCROTO	COLOR DE LA PIEL	ELASTICIDAD		ALTERACIONES	
	Oscura	Normal		Ninguna	
TESTICULOS	FORMA	CONSISTENCIA		SENSIBILIDAD	
	Normal	Normal		Positiva	
GLANDE Y PENE	MUCOSAS		ALTERACIONES		
	Normales		Ninguna		
PREPUCIO	MUCOSAS	ORIFICIO PREPUCIAL		ALTERACIONES	
	Normal	Normal		Ninguna	

Fuente: directa

Canino 2

1. RESEÑA DEL PACIENTE					
NOMBRE: Matías		ESPECIE canina		RAZA schnauzer	
COLOR sal y pimienta	EDAD 3 años		FECHA DE NACIMIENTO 30/01/2016		
SEÑAS PARTICULARES ninguna					
2. CONSTANTES FISIOLÓGICAS					
TEMPERATURA 38.7°C	PESO 7 kg	C.C 2 seg	F.C. 130 lat./min	F.R 30 rsp/min	
3 ESTADO GENERAL					
ACTITUD	Alterado	Nervioso		Tranquilo X	
CONDICION CORPORAL	Ca quético	Delgado	Nor mal X	obeso	sobrepeso
ESTADO DE HIDRATAACION	Nor mal X	deshidratación 0-5%	6-7%	8-9%	+ 10%
4 EXAMEN ANDROLOGICO					
ESCROTO	COLOR DE LA PIEL	ELASTICIDAD		ALTERACIONES	
	Oscura	Normal		ninguna	
TESTICULOS	FORMA	CONSISTENCIA		SENSIBILIDAD	
	Normal	Normal		Positiva	
GLANDE Y PENE	MUCOSAS		ALTERACIONES		
	Normales		Ninguna		
PREPUCIO	MUCOSAS	ORIFICIO PREPUCIAL		ALTERACIONES	
	Normal	Normal		ninguna	

Fuente: directa

Canino 3

1. RESEÑA DEL PACIENTE						
NOMBRE: Aquiles		ESPECIE canina			RAZA schnauzer	
COLOR plata	EDAD 3 años		FECHA DE NACIMIENTO 12/05/2016			
SEÑAS PARTICULARES ninguna						
2. CONSTANTES FISIOLÓGICAS						
TEMPERATURA 38.5°C	PESO 8 kg	C.C 2 seg	F.C. 120 lat./min	F.R 25 rsp/min		
3 ESTADO GENERAL						
ACTITUD	Alterado		Nervioso		Tranquilo X	
CONDICION CORPORAL	Caquético	Delgado	Nor mal X	obeso	sobrepeso	
ESTADO DE HIDRATACION	Nor mal X	deshidratación 0-5%	6-7%	8-9%	+ 10%	
4 EXAMEN ANDROLOGICO						
ESCROTO	COLOR DE LA PIEL	ELASTICIDAD			ALTERACIONES	
	Clara	Normal			ninguna	
TESTICULOS	FORMA	CONSISTENCIA			SENSIBILIDAD	
	Normal	Normal			Positiva	
GLANDE Y PENE	MUCOSAS			ALTERACIONES		
	Normales			Ninguna		
PREPUCIO	MUCOSAS	ORIFICIO PREPUCIAL			ALTERACIONES	
	Normal	Normal			ninguna	

Fuente: directa

Canino 4

1. RESEÑA DEL PACIENTE						
NOMBRE: Huacho		ESPECIE canina			RAZA schnauzer	
COLOR sal y pimienta	EDAD 3 años		FECHA DE NACIMIENTO 01/01/2016			
SEÑAS PARTICULARES ninguna						
2. CONSTANTES FISIOLÓGICAS						
TEMPERATURA 38.5°C	PESO 6.76 kg	C.C 2 seg	F.C. 120 lat./min	F.R 30 rsp/min		
3 ESTADO GENERAL						
ACTITUD	Alterado		Nervioso		Tranquilo X	
CONDICION CORPORAL	Caquético	Delgado	Nor mal X	obeso	sobrepeso	
ESTADO DE HIDRATACION	Nor mal X	deshidratación 0-5%	6-7%	8-9%	+ 10%	
4 EXAMEN ANDROLOGICO						
ESCROTO	COLOR DE LA PIEL	ELASTICIDAD			ALTERACIONES	
	Oscura	Normal			ninguna	
TESTICULOS	FORMA	CONSISTENCIA			SENSIBILIDAD	
	Normal	Normal			Positiva	
GLANDE Y PENE	MUCOSAS			ALTERACIONES		
	Normales			Ninguna		
PREPUCIO	MUCOSAS	ORIFICIO PREPUCIAL			ALTERACIONES	
	Normal	Normal			ninguna	

Fuente: directa

Canino 5

1. RESEÑA DEL PACIENTE					
NOMBRE: Zapote		ESPECIE canina		RAZA schnauzer	
COLOR sal y pimienta	EDAD 2.años 9 meses		FECHA DE NACIMIENTO 22/09/2016		
SEÑAS PARTICULARES cola lar ga					
2. CONSTANTES FISIOLÓGICAS					
TEMPERATURA 38.5°C	PESO 7.92 kg	C.C 2 seg	F.C. 130 lat./min	F.R 30 rsp/min	
3 ESTADO GENERAL					
ACTITUD	Alterado	Nervioso		Tranquilo X	
CONDICION CORPORAL	Caq uético	Delgado	Nor mal X	obeso	sobrepeso
ESTADO DE HIDRATACION	Nor mal X	deshidratación 0-5%	6-7%	8-9%	+ 10%
4 EXAMEN ANDROLOGICO					
ESCROTO	COLOR DE LA PIEL	ELASTICIDAD		ALTERACIONES	
	Oscura	Normal		ninguna	
TESTICULOS	FORMA	CONSISTENCIA		SENSIBILIDAD	
	Normal	Normal		Positiva	
GLANDE Y PENE	MUCOSAS		ALTERACIONES		
	Normales		Ninguna		
PREPUCIO	MUCOSAS	ORIFICIO PREPUCIAL		ALTERACIONES	
	Normal	Normal		ninguna	

Fuente: directa

ANEXO 5

TOMA DE MUESTRAS DE SEMEN CANINO

Canino1

Canino2

Canino3

Canino4

Canino5



Extracción de muestras seminales por extracción manual en cada ejemplar

Fuente: directa

ANEXO 6

Análisis de características del semen

		
<p>colorantes vegetales utilizadas para la tinción (eosina-nigrosina)</p>	<p>Preparación de la muestra con eosina-nigrosina al 2%</p>	<p>Homogenización de la muestra</p>
		
<p>Colocación de la muestra en el portaobjetos para realizar el frotis</p>	<p>Llenado de la cámara de Neubauer con la muestra</p>	<p>Observación a través del microscopio de las características microscópicas de las muestras</p>

		
Analisis de la vitalidad espermatica	Evaluación de la motilidad individual con la cámara de Neubauer	Observación de la motilidad Masal de las muestras
		
Medición del pH		

Fuente: directa

Anexo 7

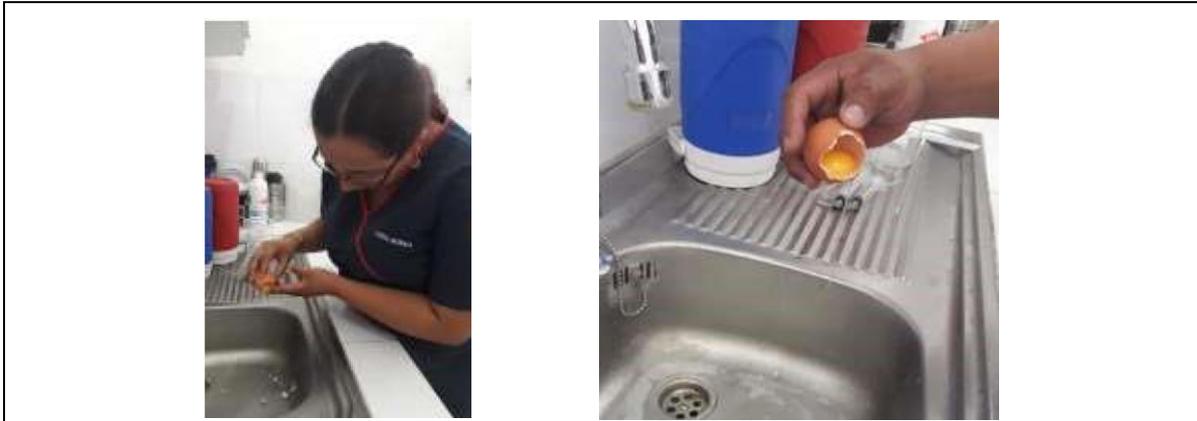
Tabla de resultado de evaluación de semen fresco

Característica	CANINOS SCHNAUZER				
	canino1	canino2	canino3	canino4	canino 5
Color	Blanco acuoso	Blanco acuoso	Blanco acuoso	Blanco acuoso	Blanco acuoso
Olor	Protéico neutro	Protéico neutro	Protéico neutro	Protéico neutro	Protéico neutro
pH	7.0	7.0	6.8	7	6.7
Volumen, mL	1.9	2.0	3	2.5	3
Motilidad Masal, %	98	97	97	98	96
Motilidad Individual %.	95	95	90	98	96
Anormalidades, %	5	3	6	5	5
Vitalidad, %	90	98	97	97	98
Concentración, Spz/mL	65000000	70000000	83000000	76000000	90000000
Espermatozoides/Eyaculado	123500000	140000000	249000000	190000000	270000000

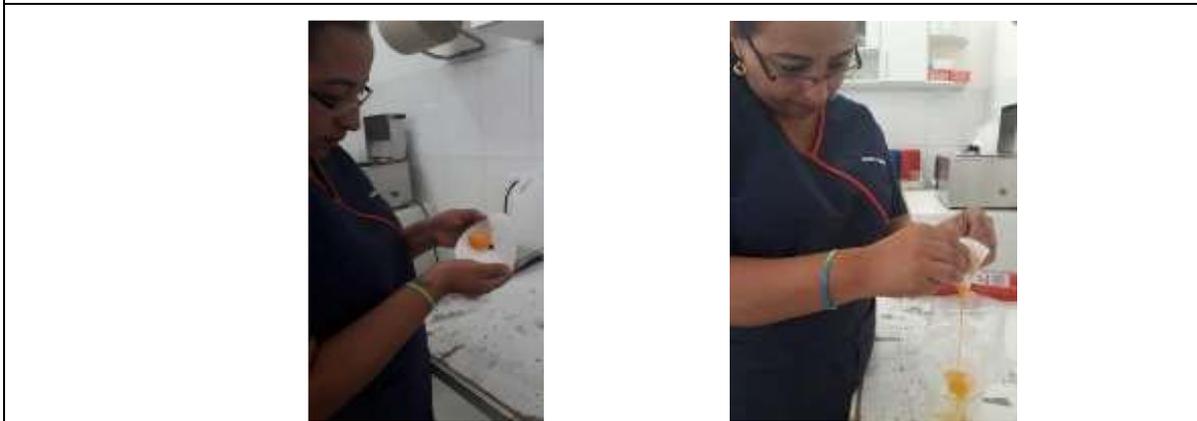
Fuente: directa

ANEXO 8

Adición de la yema de huevo al diluyente



Separación de la clara y la yema de huevo



Eliminación de residuos de clara de huevo por medio de papel filtro



Adición del diluyente a la yema de huevo

Fuente: directa

ANEXO 9

Llenado de pajuelas de 0.5



Homogenización del diluyente con la muestra seminal



Colocación de la pajuela en el micro aspirador
Llenado de las pajuelas



Llenado de las pajuelas



Analisis de la vitalidad espermatica

Verificación de las pajuelas

Fuente: directa

ANEXO 10

Crioconservación de las pajuelas



Refrigeración de las pajuelas

Preparación de vapores de nitrógeno



Colocación de las pajuelas en vapores de nitrógeno a -120°C



Sumersión de las pajuelas en el tanque de nitrógeno a -196°C

Fuente: directa

ANEXO 11

Descongelamiento de pajuelas y análisis post congelamiento

Día 15

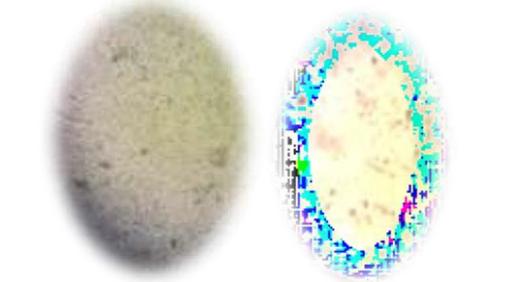


Extracción de la pajuela del tanque de nitrógeno



Descongelación de la pajuela a 37°C



Colocación de la muestra en el portaobjetos para el análisis	Observación de la muestra a través microscopio
	
Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 1	Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 2
	
Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 3	Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 4
	
Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 5	

Fuente: directa

Día 30

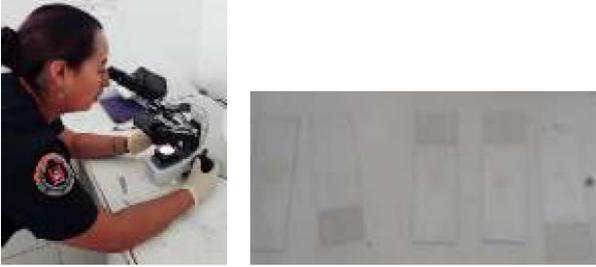
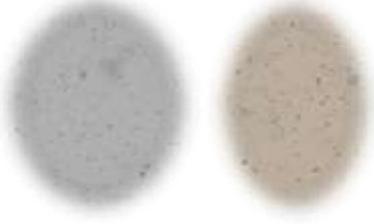
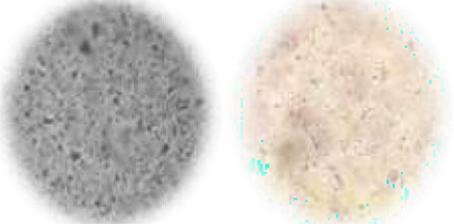
	
<p>Extracción de la pajuela del tanque de nitrógeno</p>	<p>Descongelación de la pajuela a 37°C</p>
	
<p>Colocación de la muestra en el portaobjetos para el análisis</p>	<p>Observación de la muestra a través del microscopio</p>
	
<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 1</p>	<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 2</p>

	
<p>Analisis de la motilidad y vitalidad espermatica en el canino 3</p>	<p>Analisis de la motilidad y vitalidad espermatica en el canino 4</p>
	
<p>Analisis de la motilidad y vitalidad espermatica en el canino 5</p>	

Fuente: directa

Día 45

	
<p>Extracción de la pajuela del tanque de nitrógeno</p>	<p>Descongelación de la pajuela a 37°C</p>

	
<p>Colocación de la muestra en el portaobjetos para el análisis</p>	<p>Observación de la muestra a través del microscopio</p>
	
<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 1</p>	<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 2</p>
	
<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 3</p>	<p>Análisis de la motilidad y vitalidad espermática en el canino 4</p>



Analisis de la motilidad y vitalidad espermatica en el canino 5

Fuente: directa

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma de Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que ; la traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por la señorita Egresada de la Carrera de **MEDICINA VETERINARIA** de la Facultad de **CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES; ACURIO AGUIAR ADRIANA GABRIELA** cuyo título versa “ **CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN EN PERROS DOMÉSTICOS (*Canis lupus familiaris*) EN LA CLÍNICA ANIMAL KINGDOM**” en el período Marzo – Agosto 2019 lo realizó bajo mi supervisión y cumple una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la peticionaria hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, julio de 2019

Atentamente



MG. LIDIA REBECA YUGLA LEMA
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0502652340

