

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTOS DEL EXTENSOR COMERCIAL DE SEMEN
PORCINO BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION),
SOBRE SEMEN CANINO**

JAIRO OVIDIO MONZÓN ZETINO

Médico Veterinario

GUATEMALA, MARZO DE 2018

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTOS DEL EXTENSOR COMERCIAL DE SEMEN PORCINO
BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION), SOBRE SEMEN
CANINO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

JAIRO OVIDIO MONZÓN ZETINO

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MARZO DE 2018

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO: Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II: Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III: Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV: Br. Brenda Lissette Chávez López
VOCAL V: Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.A. LIGIA ANAITÉ GONZÁLEZ QUIÑÓNEZ

M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado

EFFECTOS DEL EXTENSOR COMERCIAL DE SEMEN PORCINO BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION), SOBRE SEMEN CANINO

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS: Por ser mi aliento y mi soporte, por brindarme tantas bendiciones en mi vida.

A MIS PADRES: Ovidio y Sofía, por ser un ejemplo de lucha y perseverancia y por todas sus enseñanzas que hicieron de mí, un hombre de bien, este triunfo también es de ustedes.

A MIS HERMANOS: Wilson, Marvin y Lester por ser ese apoyo incondicional, por mantener esa unidad tan especial que nuestros padres forjaron.

A MIS ABUELOS: Que creyeron en mí y me apoyaron siempre. Y en quienes siempre encontré palabras de amor, consejos y experiencia que me ayudaron a cumplir mis metas.

A MIS AMIGOS: Por todo el apoyo, confianza y solidaridad que me brindaron durante toda la carrera.

AGRADECIMIENTOS

**A LA UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA
Y A LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA:**

Por haberme formado como profesional.

A MIS PADRES:

Por el esfuerzo brindado para que pudiera culminar la carrera y la confianza para poder lograr esta meta.

A MIS ASESORES:

M.A. Ligia González y M.A. Jaime Méndez por haberme asesorado en mi trabajo de investigación.

A MIS PROFESORES:

Por todo lo enseñado y experiencias compartidas durante la carrera.

A:

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a mi formación y a culminar mi carrera.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS.....	2
III.	OBJETIVOS.....	3
	3.1. General:	3
	3.2. Específicos:.....	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	4.1. Inseminación artificial (IA)	4
	4.1.1 Ventajas de la IA.....	5
	4.1.2 Desventajas de la IA	5
	4.1.3Tipos de IA	6
	4.1.3.1 Inseminación intravaginal	6
	4.1.3.2 Inseminación intrauterina.....	7
	4.2. Ciclo estral de la hembra canina y citología vaginal	8
	4.2.1Ciclo estral de la hembra canina.....	8
	4.2.2Citología vaginal	9
	4.2.2.1 Ventajas de la citología.....	9
	4.2.2.2 Desventajas de la citología.....	10
	4.2.2.3 Técnica para realizar una citología vaginal.....	10
	4.2.2.4 Clasificación de las células.....	10
	4.2.2.5 Identificación de cada etapa del ciclo según la citología vaginal.....	11
	4.3. Semen.....	12
	4.4. Colecta de semen	13
	4.5. Evaluación del semen	14
	4.5.1Características macroscópicas	14
	4.5.1.1 Color	14
	4.5.1.2 Volumen.....	14
	4.5.2 Características microscópicas del semen	15
	4.5.2.1 Concentración.....	15
	4.5.2.2 Motilidad.....	15

	4.5.2.3 Vitalidad	15
	4.5.2.4 Morfología de los espermatozoides	16
	4.5.2.5 Presencia de neutrófilos y macrófagos	16
	4.5.2.6 Eritrocitos	16
	4.5.3 Característica bioquímica del semen	17
	4.5.3.1 Características del <i>pH del semen</i>	17
	4.6 Diluyentes	17
	4.6.1 Propiedades de diluyentes seminales.....	17
	4.6.3 BTS.....	19
	4.6.3.1 Composición en g/L del diluyente BTS	19
	4.6.3.2 Preparación del diluyente BTS.....	19
	4.7. Dilución del semen.....	20
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
	5.1 Localización	21
	5.2 Materiales y equipo.....	21
	5.2.1 Material humano	21
	5.2.2 Material biológico.....	21
	5.2.3 Materiales y equipo de laboratorio.....	21
	5.3 Metodología	22
	5.3.1 Colecta del semen	22
	5.3.2 Evaluación del semen.....	23
	5.3.3 Elaboración de los tratamientos.....	24
	5.3.4 Preparación de la muestra.....	24
	5.3.5 Conservación de las muestras.....	24
	5.3.6 Diseño experimental	25
	5.3.7 Variables a evaluar	25
	5.3.8 Análisis estadístico	25
	5.3.9 Análisis de costos	25
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
	RESULTADOS.....	26
VII.	CONCLUSIONES	28
VIII.	RECOMENDACIONES.....	29
IX.	RESUMEN	30

	SUMMARY.....	31
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
XI.	ANEXOS.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Composición del diluyente BTS.....	19
Cuadro 2 Promedios de porcentajes de motilidad de espermatozoides en diferentes horas post-dilución.	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cámara de Neubauer identificando la zona de conteo celular	24
--	----

I. INTRODUCCIÓN

La clínica de pequeñas especies es una práctica de la medicina veterinaria que ha tomado mucho auge en los últimos años, debido a que cada día, más personas se interesan en compartir con una mascota, creando así la demanda y la oportunidad de trabajo para los criadores de mascotas y Médicos Veterinarios de especies menores. Es de esta forma que los criadores de perros empiezan a tener la necesidad de ser más eficientes en sus actividades reproductivas, para cubrir una demanda creciente en el mercado actual.

La inseminación artificial es una práctica que ayuda a la reproducción canina, debido a que reduce los problemas por incapacidad física de machos con alto valor genético, elimina los riesgos de agresiones y reduce costos por desplazamientos de los animales, reduciendo así el estrés de los mismos, y optimiza el uso del eyaculado.

En Guatemala existen en el mercado gran variedad de diluyentes de semen para diferentes especies, pero con precios relativamente altos. Entre los diluyentes comerciales más económicos se encuentra el Bestsville Thawing Solution (BTS), utilizado y formulado específicamente como extensor de semen porcino. Este cuenta con las cualidades generales de un buen diluyente, ya que contiene nutrientes necesarios para preservar la vida de los espermatozoides alargando su tiempo de vida, mantiene un medio cómodo y estable que permite mantener la integridad de las células.

Esta investigación describe los efectos del diluyente comercial BTS, sobre el semen canino, como una alternativa de conservación seminal de bajo costo, para convertirse así, en una herramienta más, para los médicos veterinarios que trabajan en el campo de reproducción de especies menores.

II. HIPÓTESIS

Existe diferencia significativa entre la motilidad individual progresiva del semen nativo y semen extendido con el diluyente BTS en la especie canina.

III. OBJETIVOS

3.1. General:

- Contribuir al estudio de extensores para la preservación y uso de semen en caninos.

3.2. Específicos:

- Evaluar el efecto del extensor BTS como extensor de semen canino, sobre la sobrevivencia de los espermatozoides.
- Evaluar el movimiento individual progresivo espermático y su duración en horas.
- Calcular costos de la utilización del extensor de semen porcino (BTS), como extensor de semen en caninos.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Inseminación artificial (IA)

Es la deposición de semen en el tracto reproductivo femenino, sin que se produzca un apareamiento natural. La primera inseminación con éxito en caninos fue realizada por el fisiólogo italiano Abbe Lázaro Spanzallani en el siglo XVIII (Lucas, 2011).

Dentro de la inseminación artificial canina se utiliza la inseminación con semen fresco y la inseminación artificial con semen congelado, siendo la inseminación con semen fresco una asistencia a la monta, asistencia que se puede llegar a requerir por diferentes causas (Dumon, 1989).

Causas de incapacidad de monta en la especie canina:

- Hembras de carácter nervioso o con problemas de comportamiento (rehúsan monta o agresividad).
- Hembras dominantes con respecto al macho elegido, que no permiten la monta.
- Alteraciones anatómicas a nivel vulvo-vaginal que dificultan la penetración y provocan dolor.
- Machos que presentan debilidad o alteraciones del tercio posterior y/o columna.
- Machos de comportamiento sumiso, libido disminuido o con alteraciones de la erección.
- Momento inoportuno.
- Incompatibilidad entre el tamaño de la hembra y el del macho (Lucas, 2011).

4.1.1. Ventajas de la IA

La mayor ventaja que presenta la IA es que, al ser necesaria la extracción seminal, permite realizar una valoración de la calidad espermática, mientras que en el caso de la monta natural se asume que el semental es potencialmente fértil (Alamo, 2007).

Por otro lado, es muy factible que se pueda inseminar a más de una hembra con un mismo eyaculado optimizando el material genético. Otro aspecto fundamental es que la IA permite obtener descendencia de individuos incapaces de aparearse de forma natural. En general, esta situación puede producirse debido a problemas de tipo psicológico, físico o patológico que dificulte el apareamiento, o bien se trate de una característica racial que impida la monta natural. Además, la IA disminuye notablemente el estrés al que se ven sometidos los animales debido al hecho de viajar, así como también es una técnica apropiada para evitar la transmisión de enfermedades de tipo sexual. Permite utilizar el semen de ejemplares de diferentes regiones geográficas, eliminando así las distancias entre individuos (Alamo, 2007).

4.1.2. Desventajas de la IA

Requiere de personal calificado para la realización de la IA, que garantice una alta probabilidad de éxito. Además, deben realizarse pruebas que determinen el momento del ciclo sexual en que se encuentra la hembra, tales como frotis vaginales para analizar el patrón celular que nos revela el estado del ovario o bien, mediante la determinación de los niveles de progesterona en plasma o suero. Otras desventajas son: la contaminación del equipo, errores humanos y fallas en la detección del celo (Eilts, 2005).

4.1.3 Tipos de IA

En el proceso natural de cópula el macho realiza la eyaculación dentro de la vagina de la hembra, mientras que en la IA el depósito del esperma puede realizarse tanto intra-vaginalmente (IA intravaginal), como dentro del cuerpo del útero (IA intrauterina), dependiendo de la calidad del semen, del uso de semen fresco, refrigerado o congelado, y de los equipos disponibles. Cuanto más al interior del tracto genital sea realizada la IA, menos espermatozoides son necesarios para lograr la fertilización. La IA intrauterina puede realizarse de forma quirúrgica o no quirúrgica (transcervical). En un estudio realizado con 422 hembras caninas se obtuvo una tasa de preñez del 84.4% mediante servicio natural, mientras mediante IA con semen fresco se obtuvo un porcentaje de preñez de 83,8 % (Betancur, Araque & García, 2009).

4.1.3.1 Inseminación intravaginal

La técnica consiste en depositar el semen en el interior de la vagina utilizando una pipeta rígida de plástico, con una longitud adecuada en función del tamaño de la hembra. A esta pipeta se le adapta una jeringuilla de 2-5 ml, preferiblemente sin émbolo de goma que puede resultar tóxico para los espermatozoides, incluso se describe el uso de jeringuillas de cristal. Para evitar el reflujo, no es conveniente depositarse más de 3 ml de semen en hembras grandes o de 2 ml en las pequeñas.

El primer paso consiste en la exploración y desinfección de la zona genital externa. Se eleva ligeramente la vulva con el dedo índice y se avanza lentamente con el catéter por el interior de la vagina hasta el cervix; en este momento se eleva la parte exterior del catéter para conseguir que el semen fluya por la pared dorsal de la vagina sin que se introduzca en el meato urinario. El semen debe depositarse lentamente y, a continuación, se elevan los cuartos traseros de la hembra durante unos 10-15 minutos aproximadamente, realizando un ligero

masaje vulvar que ha demostrado ser beneficioso porque favorece las contracciones uterinas y el transporte del semen. Asimismo, debe evitarse que en los primeros 15 minutos tras la inseminación, la hembra miccione o adopte posturas que puedan favorecer la salida del semen desde la vagina. Mediante la inseminación intravaginal profunda, se obtiene un 60-90% de gestaciones positivas y la concentración mínima que se debe aplicar es de 200×10^6 espermatozoides (Alamo, 2007).

4.1.3.2 Inseminación intrauterina

Aunque es una técnica menos utilizada, también es posible realizar la deposición del semen directamente en el útero. Para realizar esta técnica, se introduce el catéter de inseminación a través de la vulva y se avanza por el interior vaginal; simultáneamente se va realizando una palpación trans-abdominal de la trayectoria del catéter hasta localizar el cuello del útero; la duración de este proceso debe ser inferior a 1 minuto. Durante el estro, el cuello permanece bastante abierto; esta circunstancia unida a que su trayectoria es recta, favorece que se pueda atravesar con facilidad, sin que los pliegues presentes en la mucosa sean un impedimento. En general, no es una técnica molesta, por lo que no suele ser necesario sedar o tranquilizar a la hembra. Esta técnica evita el impedimento mecánico que representa el paso de los espermatozoides a través del cuello uterino; asimismo, no es necesario elevar los cuartos traseros del animal después de depositar el semen. El porcentaje de gestaciones obtenido con esta técnica es superior al observado en la inseminación intravaginal profunda y la dosis de inseminación recomendada es de 100×10^6 espermatozoides.

Otro procedimiento más tecnificado, es la realización de una IA intrauterina por vía transcervical, con la ayuda de un fibroendoscopio que permita visualizar el orificio cervical. Una vez localizado el cérvix, se inserta un catéter a través del cuello uterino y se inyectan las dosis seminales; si el catéter se ha insertado correctamente, no se produce reflujo de semen. El porcentaje de gestaciones

utilizando este procedimiento con semen fresco o refrigerado oscila entre un 80 y 100% (Alamo, 2007).

4.2. Ciclo estral de la hembra canina y citología vaginal

4.2.1 Ciclo estral de la hembra canina

El éxito de la IA es el control del periodo fértil de la hembra. La perra presenta un ciclo estral diferente con respecto al resto de las especies domésticas. Se ha establecido que la perra ovula entre el primer y quinto día del estro; sin embargo, esta especie se caracteriza por la gran variabilidad en la duración de las distintas fases del ciclo estral. Por lo que es muy complicado establecer una fecha predeterminada de la ovulación. Por ello se ha establecido el día del pico de la hormona leutinizante LH (Día 0) como el día fijo a partir del cual se debe de “cronometrar” los eventos normales de un ciclo estral. Aproximadamente dos días después del pico de LH se produce la ovulación siendo necesarias aún 48 h más para que los ovocitos sean capaces de ser fecundados por los espermatozoides ya que estos se encuentran aún en Metafase I. A este periodo en el cual los ovocitos han completado su maduración meiótica y están preparados para ser fecundados se denomina periodo de fecundación y es de relativa corta duración entre tres a siete días después del pico de LH (Lucas, 2011).

La citología vaginal ha sido el método más extendido para determinar de manera indirecta este periodo, hoy en día el método más eficaz y útil que existe para determinar el día cero es la medición de las concentraciones en suero de la progesterona (P4), ya que en esta especie se ha comprobado que existe un incremento de las concentraciones de esta hormona desde sus valores basales íntimamente relacionado con la liberación del pico de LH (luteinización preovulatoria). Desde el punto de vista práctico, el protocolo normal sería aquel que comprende la realización de citologías vaginales seriadas cada dos a tres días (a partir del día cuatro a cinco del proestro) hasta que se supere un 60% de

queratinización celular; a partir de este momento se puede complementar con la toma de muestras sanguíneas seriadas (24-48 h) para determinar los niveles de P4 en suero. Así, de forma general se considerará que el día cero corresponderá a una P4 media de 2.02 ± 0.18 ng/ml, siendo valores indicativos de ovulación aquellos comprendidos entre 4-10 ng/ml. A partir de este momento se establecerán las IA dependiendo del tipo del semen, del número de IA a realizar y del tipo de técnica. Es importante recordar que las tomas sanguíneas siempre deben de ser realizadas por la mañana aproximadamente a la misma hora (Lucas, 2011).

4.2.2 Citología vaginal

La citología vaginal permite determinar en qué etapa del ciclo estral se encuentra una perra. Esto permite emplear la inseminación artificial precisando el momento más adecuado para llevar a cabo dicha técnica ya que la ovulación ocurre al inicio del estro y, por lo tanto, es importante identificar esta etapa (Ochoa & Torres, 2012).

4.2.2.1 Ventajas de la citología

- Útil en la reproducción canina, junto con la observación de la conducta, brinda una excelente valoración del ciclo estral.
- Es fácil de realizar y económica.
- No es dolorosa.
- Resulta sin importar la presencia o ausencia de secreción vaginal (Ochoa. & Torres, 2012).

4.2.2.2 Desventajas de la citología

- No se puede identificar el día preciso de la ovulación.
- No se puede determinar preñez (Ochoa. & Torres, 2012).

4.2.2.3 Técnica para realizar una citología vaginal

- Con un hisopo, introducir por la comisura dorsal de la vulva hasta alcanzar el conducto pélvico. Después girar la torunda en ambas direcciones y retirar.

El proceso debe tomar sólo unos segundos y rara vez se produce dolor. La perra puede estar intranquila si no hay secreción vaginal. Por tanto, debe humedecerse el algodón con dos o tres gotas de solución salina estéril, como lubricante, si la secreción vaginal no es obvia.

- La punta de algodón se gira con suavidad de un extremo al otro del portaobjeto unas dos o tres veces en líneas separadas.
- Preparar dos o tres portaobjetos con un hisopo. Los portaobjetos con las células deben secarse al aire.
- Luego teñir y observar al microscopio (Ochoa. & Torres, 2012).

4.2.2.4 Clasificación de las células

Parabasaes: Estas células son redondas o un poco ovales y tienen un núcleo vesiculoso grande y cantidades relativamente pequeñas de citoplasma.

Intermedias: Este cambio en la morfología refleja el primer paso en la muerte celular, las células parecen más grandes, tienen cantidades relativamente mayores de citoplasma y muestran núcleos más pequeños.

Superficiales: Son las células muertas típicas, son las más grandes que se identifican en la citología. Tienen bordes citoplasmáticos angulares, planos y nítidos, además de núcleos pequeños, picnóticos y atenuados o no muestran núcleo, se subdividen en:

- Nucleadas
- Intermedias
- Anucleadas

(Ochoa. & Torres, 2012).

4.2.2.5 Identificación de cada etapa del ciclo según la citología vaginal

Metaestro: Por lo general son células vaginales intermedias grandes que parecen tener uno o más neutrófilos contenidos en el citoplasma.

Proestro: El frotis vaginal de una perra en proestro temprano es similar al de una en anestro, con las siguientes diferencias: El proestro suele detectarse por sangre dentro de la vagina que proviene de un endometrio en rápido desarrollo, además de eritrocitos, el frotis vaginal suele contener numerosas células epiteliales parabasales e intermedias, grandes y pequeñas, en el fondo del frotis a menudo es granular o de aspecto sucio, debido a la presencia de secreciones viscosas cervicales y vaginales que captan una pequeña cantidad de colorante y en etapas finales del proestro, el frotis vaginal no contiene neutrófilos (Ochoa. & Torres, 2012).

Estro: Durante el estro, la citología vaginal se mantiene relativamente sin cambios. Ninguna característica de la citología vaginal identifica el día de la secreción máxima de LH, la ovulación o el momento de la fecundación.

Las células superficiales constituyen más del 80% del total de las células vaginales y a menudo alcanzan el 100%, en un periodo de 24 a 48 horas al

término del estro, el porcentaje de células superficiales disminuye a casi el 20% y la mayor parte son intermedias, parabasales o de ambos tipos (Ochoa. & Torres, 2012).

Diestro: Después de los días iniciales de diestro, los frotis de citología vaginal de esta fase, simulan los del anestro: puede o no haber leucocitos, no hay eritrocitos o se encuentran en cifras pequeñas y las células epiteliales, son intermedias pequeñas y parabasales (Ochoa. & Torres, 2012).

Anestro : Se observan sobre todo células epiteliales parabasales e intermedias, puede o no haber neutrófilos, pero no eritrocitos, pueden o no observarse bacterias, si se presentan, suelen representar a la flora normal. El aspecto del fondo después de la tinción puede ser claro o granuloso (Ake-Lopez, Martínez & Centurion, 2012; Ochoa & Torres, 2012).

4.3 Semen

En la especie canina, el semen obtenido tras estimulación manual suele conservarse en baño María a 37 °C, el semen fresco puede mantener su viabilidad hasta 24 horas tras la colecta. En el caso de que se suplemente con un diluyente junto con antibióticos, puede aumentar su vida media hasta 4-5 días siempre que se conserve a 37 °C. Si no es posible mantener la muestra atemperada, se recomienda utilizar en un plazo máximo de 15 minutos, para evitar que se enfríe con demasiada rapidez, ya que se produce un detrimento importante de su calidad (Alamo, 2007).

El semen eyaculado contiene tres fracciones. La primera fracción es un fluido de poco volumen, pobre en espermatozoides, que representa entre el 2-3% del eyaculado total y procede de las glándulas periuretrales. Esta primera fracción generalmente es expulsada mientras el perro intenta montar a la hembra o al realizar los movimientos pelvianos. La segunda fracción es llamada espermática por ser muy rica en espermatozoides, proviene de la cabeza y cola del epidídimo, y representa un 6-7% del eyaculado total. La tercera fracción proviene de la

próstata, gracias a los movimientos pulsátiles de la uretra y aporta cerca del 70-90% del eyaculado total. El eyaculado total tiene un volumen que puede oscilar entre los 20 y 50 cm³ dependiendo de la actividad sexual del reproductor. El fluido prostático generalmente no se colecta cuando se va a conservar como semen refrigerado o congelado, debido a que aporta poca concentración espermática, mientras que sí puede ser utilizado cuando la inseminación es realizada con semen fresco, cumpliendo las características de ser claro, transparente y de no mostrar signos de patología. Esta última fracción es importante ya que sirve como medio protector de semen y aumenta su volumen. (Butirica, Villanueva & Hernández, 2009).

4.4 Colecta de semen

Antes de iniciar la colecta del semen, el animal debe ser higienizado en su región abdominal y prepucial con abundante agua. Posteriormente, se debe secar el área con el fin de evitar la contaminación y alteración de la muestra seminal a evaluar y/o preservar. La técnica utilizada en caninos para obtener muestra seminal, es la masturbación manual o la técnica de la mano enguantada realizando un masaje prepucial. Esta práctica puede ser facilitada estimulando al macho con un hisopo vaginal impregnado de secreciones vulvares de hembras en celo o con la aplicación de feromonas sintéticas (metil-p-hidrobenzoato); para mejorar el estímulo suele aplicarse en la región perineal de una hembra estimuladora (no en celo); sin embargo, en algunos casos con el simple masaje prepucial puede ser suficiente para la eyaculación (Betancur et al, 2009).

Hay dos métodos artificiales eficientes para la colecta de semen en caninos para analizar y evaluar la calidad espermática: condones de látex o polipropileno y teteros de recolección. Los condones de látex deben estar libres de sustancias espermicidas o lubricantes que puedan alterar las propiedades físico-químicas del semen. El operario se debe ubicar a un lado del reproductor sujetando firmemente el pene con toda la palma de la mano, para facilitar un mejor manejo y

masturbación del canino. Se debe iniciar con un masaje prepucial suave, con el fin de estimular el bulbo del pene. Antes de que ocurra la erección total, se debe retraer el pene hacia atrás, debido al dolor que ocasionaría la presión que ejerce el bulbo peneano contra el prepucio, lo que impediría la erección total y la posterior eyaculación. Después de retirar el prepucio, se realiza una presión sostenida en la parte caudal del bulbo, para posteriormente fijar el recipiente y coleccionar la muestra seminal, la cual deberá ser preservada en oscuridad a una temperatura de 37 °C (Butirica et al., 2009).

4.5 Evaluación del semen

4.5.1 Características macroscópicas

4.5.1.1 Color

Un semen de buena calidad presenta un color blanco lechoso. Si se observara un color amarillento denotaría la presencia de orina, mientras que si es rojo o marrón sería indicativo de presencia de sangre fresca o hemolizada. Este parámetro se evalúa mediante la observación directa (Alamo, 2007; Betancur et al., 2009).

4.5.1.2 Volumen

El volumen del eyaculado se valora mediante observación directa en el tubo colector graduado (Butirica et al., 2009).

Los valores medios para un perro de raza mediana serían de 1-2 mL para la primera fracción, la segunda presentaría de 1-2 mL y finalmente unos 4-8 mL para la tercera. Sin embargo, lo más frecuente es que en función de la raza y el perro, se obtengan volúmenes de 0.1-2 mL de primera fracción, 0.2-4 mL para la segunda y 1-30 mL de tercera fracción (Alamo, 2007; Betancur et al., 2009).

4.5.2 Características microscópicas del semen

4.5.2.1 Concentración

Se calcula realizando una dilución de la muestra de semen con solución salina. Para la determinación de la concentración, se toma una muestra de esta dilución y se coloca en una cámara de Neubauer, para finalmente observarse en un microscopio óptico con objetivo 40x. El número total de espermatozoides se calcula en función de la concentración y el volumen.

En el perro hay descritos valores de concentración que oscilan entre 300-2000 x 10⁶ espermatozoides/mL (esp/mL), considerándose normal para un perro de tamaño mediano 300 x 10⁶ esp/mL. Se considera que la concentración mínima aceptable que debe presentar un semen para utilizarse en una inseminación en fresco sería de 100 x 10⁶ esp/mL (Alamo, 2007; Betancur et al., 2009).

4.5.2.2 Motilidad

Se evalúa con una gota de semen que se deposita en un porta objetos y se observa el movimiento de los espermatozoides, generando así una película fina que permita determinar el porcentaje de células móviles presentes en la muestra. El microscopio a utilizar debe poseer una platina térmica (Alamo, 2007; Ochoa & Torres, 2012).

El valor normal de la motilidad del semen fresco en la especie canina oscila entre 85-95%. Se considera que un valor por debajo del 80% de motilidad en semen fresco sería indicativo de una reducción de la fertilidad. No obstante, la mayoría de los autores considera que un semen presenta una buena motilidad cuando presenta valores entre 70-90% (Alamo, 2007; Butirica et al., 2009).

4.5.2.3 Vitalidad

Técnicas de tinción vitales permiten diferenciar los espermatozoides vivos de los muertos debido a la permeabilidad de la membrana plasmática a los

colorantes vitales; por lo tanto, aquellas células que presentan una membrana plasmática funcional no permiten el paso del colorante, mientras que si está alterada el colorante penetra en el interior de la célula y aparece teñida. Se considera que un semen es de muy buena calidad cuando se observa un 90-95% de espermatozoides vivos en semen fresco (Alamo, 2007).

4.5.2.4 Morfología de los espermatozoides

Las tinciones ayudan a valorar la morfología de los espermatozoides, una de las más usadas es la de eosina-nigrosina. Hay que asegurar que la muestra no ha sufrido ninguna modificación tras la recolección (Alamo, 2007).

4.5.2.5 Presencia de neutrófilos y macrófagos

Por lo general, proceden de la flora que se sitúa sobre la pared del pene y el prepucio, aunque en ocasiones pueden provenir de la próstata. En el caso concreto de los macrófagos, pueden adherirse a los espermatozoides, mientras que los neutrófilos no suelen afectar a la movilidad de la muestra (Alamo, 2007).

4.5.2.6 Eritrocitos

En eyaculado de ejemplares mayores de 5 años, proceden de la próstata, siendo indicativo de una enfermedad clínica. La presencia de eritrocitos en el eyaculado también puede deberse a traumas accidentales que ocurren durante la monta natural o la recogida manual y que se encuentren afectando al pene o al prepucio. Se presentan cuando el animal es muy joven o en animales viejos que tengan alguna neoplasia testicular (Alamo, 2007).

4.5.3 Característica bioquímica del semen

4.5.3.1 Características del *pH del semen*

El pH de semen canino es más ácido que el de los rumiantes. La motilidad seminal se ve disminuida por variaciones en el pH, tanto con pH ácidos como básicos. Por lo tanto, este aspecto debe valorarse especialmente a la hora de preparar los diluyentes y las sustancias tampón que se utilizarán en los procesos de diluyo-conservación seminal, obteniendo los mejores resultados con rangos de pH de 6.9-7.1 (Alamo, 2007; Ochoa & Torres, 2012).

4.6 Diluyentes

4.6.1 Propiedades de diluyentes seminales

El semen de cada especie tiene características especiales que impide que se desarrolle un diluyente universal. A pesar de esto, el diluyente debe reunir una serie de componentes que impida el deterioro de la muestra como lo son los siguientes:

- Agua bidestilada o ultrapura, como disolvente para el resto de componentes.
- Sustancias iónicas y no iónicas que aseguren el mantenimiento de la osmolaridad y pH del medio. En el semen canino, las más usadas son: citrato sódico, leche desnatada en polvo, leche desnatada uperizada, lactosa, ácido cítrico, TRIS (tris hidroximetil aminometano), TES (N-TRIS hidroximetil-2-aminometano ácido sulfónico), piperazina etano ácido sulfónico (PIPES) e hidróxido potásico.
- Sustancias orgánicas que prevengan o amortigüen el shock térmico, como la yema de huevo o leche.
- Agentes protectores que garanticen la integridad celular amortiguando así la toxicidad del medio.

- Azúcares simples como fuente de energía para los espermatozoides, di- o trisacáridos como protectores adicionales.
- Aditivos, como enzimas (α y β -amilasa, β -glucuronidasa, catalasa), detergentes (SDS-dodecil sulfato sódico, STLS-trietanolamina laurel sulfato sódico), aminoácidos (alanina, prolina, glicina-betaína, glicina-betaína+prolina) y otros compuestos (cafeína, prostaglandinas) que pueden mejorar la fertilidad.
- Antibióticos, para evitar el crecimiento bacteriano.
(Alamo, 2007; Peña & Linde Forsberg, 2000)

4.6.2 Diluyentes caninos

Para la preservación y criopreservación de semen en la especie canina se han utilizado diversos diluyentes, algunos de los más habituales serían:

- Diluyente de Andersen: 240 mM TRIS, 63 mM ácido cítrico, 70mM fructosa, 8% glicerol, 20% yema de huevo y hasta 100 mL de agua destilada.
- Diluyente Upssala.
- Diluyente TRIS-fructosa: 2.4 g de TRIS, 0.36 g de ácido cítrico, 1.06 g de fructosa, 20% de yema de huevo, 8.8 mL de glicerol, 50000 UI de penicilina, 50 mg de estreptomina y hasta 100 mL de agua destilada. Este diluyente ha proporcionado buenos resultados cuando se congela en pajuelas de 0.5 mL.
- Seager.
- Diluyente TRIS-glucosa: 2.24 g de TRIS, 1.15 g de ácido cítrico, 0.96 g de glucosa, 20% de yema de huevo, 6.0 mL de glicerol, 50000 UI de penicilina, 50 mg de estreptomina y hasta 100 mL de agua destilada. Se han observado buenos resultados cuando se emplea este diluyente en semen envasado en tubos de aluminio de 5 mL.
- Tryladyl (Ake et al., 2012; Alamo, 2007; Peña & Linde Forsberg, 2000).

4.6.3 BTS

Es uno de los diluyentes más usados en reproducción porcina contando entre sus componentes con: glucosa, bicarbonato, citrato sódico, EDTA, Cloruro potásico y antibiótico. Lo que lo hace una buena opción para experimentarlo en otras especies (Preda, 2002).

4.6.3.1 Composición en g/L del diluyente BTS

Cuadro 1 Composición del diluyente BTS

Composición	g/L
Sustrato energético	
Glucosa	37
Sistema tampón	
Citrato Sódico	6
Bicarbonato Sódico	1.25
EDTA	1.25
Cloruro de Potasio	0.75
Antibióticos	
Penicilina G (Na)	0.6
Dihidrostreptomina	1
pH	7.2
mOsm	330

(Rueda, 2011).

4.6.3.2 Preparación del diluyente BTS

Se disuelve el contenido de sobre (50 gr) en un litro de agua destilada estéril a 30-40 °C. La solución preparada puede ser almacenada por dos días a una temperatura de 5 °C antes de ser utilizada. Si el empaque ha sido abierto

puede almacenarse en una bolsa sellada a una temperatura de 5 a 10°C, en un ambiente oscuro y seco. Para la aplicación, la temperatura del diluyente debe ser ajustada a la temperatura exacta del semen, para posteriormente diluir en semen fresco a una dilución de 1:3 a 1:10. El semen extendido debe ser almacenado y transportado a una temperatura de 16 a 18°C (Preda, 2002).

4.7. Dilución del semen

La tasa de dilución a la que debe ser sometida una muestra de semen viene determinada por la concentración final necesaria que deben presentar las dosis seminales para obtener una buena tasa de fertilidad.

En el caso concreto del semen canino, la mayoría de los autores coincide en que la concentración normal en fresco oscila entre 300-2000 x 10⁶ esp/mL. Con base a estas premisas, se han utilizado protocolos de dilución que permitan obtener una concentración final de 50-200 x 10⁶ esp/mL. La dilución depende del formato elegido para el envasado; en general, la mayoría de los autores sostiene que la concentración final debe ser de 100 x 10⁶ esp/mL, para garantizar >80% de fertilidad. En el perro, es frecuente realizar las diluciones iniciales a 37 °C o bien a temperatura ambiente para facilitar una equilibración fisiológica entre el semen y el diluyente (Alamo, 2007; Ochoa & Torres, 2012).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización

El experimento se realizó en el laboratorio del Instituto de Biotecnología en Reproducción e Inseminación Artificial de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2 Materiales y equipo

5.2.1 Material humano

- Un estudiante investigador
- Dos asesores profesionales

5.2.2 Material biológico

Se utilizaron 25 caninos de diferentes razas, comprendidos entre 3 y 9 años de edad, previo análisis de fertilidad.

5.2.3 Materiales y equipo de laboratorio

- Instituto de biotecnología en reproducción animal e inseminación artificial de la FMVZ.
- Microscopio de contraste de fases con platina térmica.
- Termómetro
- Papel pH
- Cámara de Neubauer
- Pipeta Pasteur
- Pipeta de 0.1 ml
- Solución Salina al 10%

- Contador
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Colorante Eosina
- Baño María
- Agitador magnético
- Jabón neutro
- Agua destilada
- Papel aluminio
- Papel kraft
- Guantes de látex
- Beaker de 500 ml y 100ml
- Calculadora
- Libreta de apuntes
- Diluyente BTS
- Probetas de 100ml y 10ml
- Viales de vidrio de 5ml

5.3 Metodología

5.3.1 Colecta del semen

La colecta de semen se realizó por el método manual, recogiendo únicamente la fracción rica de espermatozoides en un beaker debidamente atemperado a 37.5°C. Las colectas se realizaron entre las 7:00 a 9:30 am,

5.3.2 Evaluación del semen

Inmediatamente después de la colecta, se efectuó la evaluación para determinar la calidad del semen y su poder de fecundación. Los análisis realizados fueron los siguientes:

- Análisis macroscópico: volumen, color, pH, y olor.
- Análisis microscópico: movilidad individual progresiva, aglutinaciones, vivos y muertos, anormales y concentración.

Se depositó una gota del semen nativo el microscopio de contraste de fases con platina térmica, utilizando el campo 2, y la platina termina a 37°C, para evaluar motilidad individual progresiva (%), y aglutinaciones (+). Posteriormente se apagó la platina térmica y se cambió a campo H para analizar el frotis previamente elaborado y teñido con Eosina para hacer el conteo de espermatozoides vivos y muertos (%), así como anormalidades (%).

Para calcular la concentración (millones/ml), se requirió 4ml de solución salina formolada, se agregó 0.5ml de semen, se homogenizó y luego se llenó la cámara de Neubauer haciendo el conteo de todos los espermatozoides encontrados en la los recuadros E1, E2, E3, E4, y E5 en una sola cuadrícula y multiplicando el resultado por el factor (2,050,000). (Alamo, 2007)

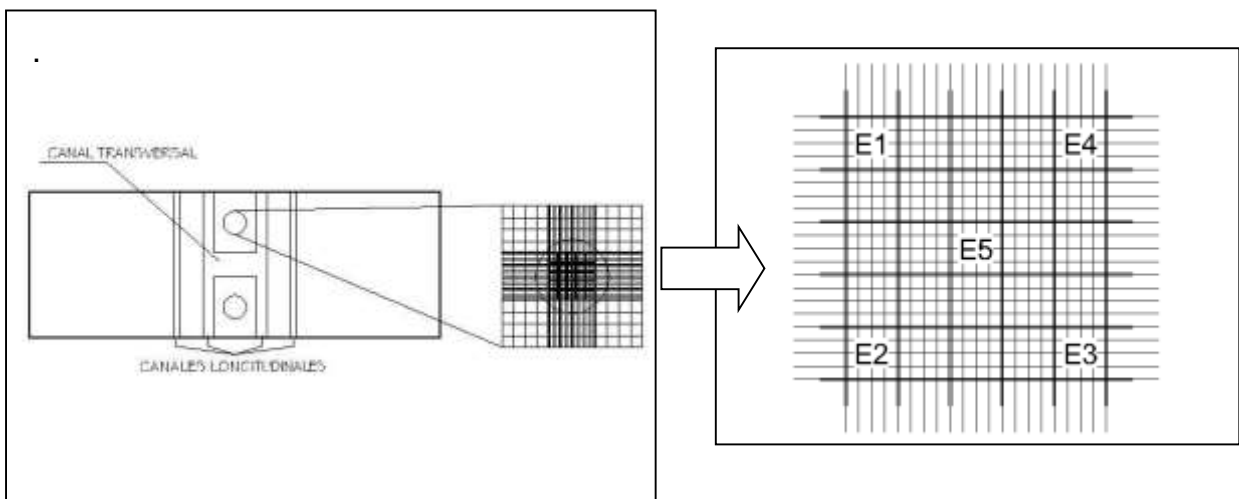


Figura 1. Cámara de Neubauer identificando la zona de conteo celular

Para preparar la solución salina formolada se mezcló 1.125g de NaCl en 125 ml de agua destilada y se agregó 1 ml de formol al 40%.

5.3.3 Elaboración de los tratamientos

Para el formar el tratamiento A se tomó un ml de semen nativo del total del eyaculado y se mantuvo en un vial de vidrio a una temperatura de 37°C.

Para formar el tratamiento B se elaboró una dilución con el extensor BTS a una concentración de 200×10^6 espermatozoides/dosis. Utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{No. de dosis} = \frac{\text{Concentración según cámara de Neubauer} \times \text{Volumen del eyaculado} \times 1 \times \text{motilidad individual}}{\text{Concentración deseada por dosis seminal}}$$

Volumen total (diluyente +eyaculado) = No. de dosis x 2 (Volumen de la dosis)

Diluyente Necesario = Volumen total – Volumen del eyaculado

5.3.4 Preparación de la muestra

Para el tratamiento A se separó 1 ml de semen nativo en un vial de vidrio.

Para el tratamiento B se preparó el diluyente según la especificación del fabricante de 50 mg por cada 1000 ml de agua destilada. Se procedió a la termorregulación del diluyente y el eyaculado a 37°C por medio del baño María. Al alcanzar ambos la misma temperatura se realizó la dilución según la fórmula anterior y se homogenizó.

5.3.5 Conservación de las muestras

Los dos tratamientos se mantuvieron en baño María a una temperatura de 37°C, y fueron sometidos a la evaluación de la motilidad individual progresiva espermática cada hora, hasta que la motilidad se redujo a cero.

Los resultados se anotaron en las hojas de registro. (Ficha No. 1, Anexo 1.)

5.3.6 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar, usando 2 tratamientos y realizando 25 repeticiones. La unidad experimental fue representada por viales de vidrio conteniendo 1 ml de semen nativo para el tratamiento A, y viales de vidrio conteniendo 2ml de dosis seminal, con 200×10^6 espermatozoides, las cuales contenían el semen canino más el diluyente (BTS) para el tratamiento B, sobre los cuales se realizaron las mediciones cada hora, monitoreando el % de motilidad individual progresiva.

Este proceso se repitió en 25 ocasiones y los resultados fueron anotados en la ficha No. 1, para su análisis estadístico.

5.3.7 Variables a evaluar

- Se evaluó la supervivencia espermática mediante la observación del porcentaje de motilidad individual progresiva en ambos tratamientos.

5.3.8 Análisis estadístico

La información se analizó utilizando estadística descriptiva con promedios y proporciones. El análisis del tiempo de supervivencia mediante el % de motilidad individual progresiva se realizó con la prueba de hipótesis para diferencia de promedio, utilizando la prueba de t de Student, para demostrar la existencia o no, de diferencia significativa entre ambos tratamientos.

5.3.9 Análisis de costos

Se realizó un cálculo de los costos incurridos de los materiales utilizados en la elaboración de las dosis seminales.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

Se pudo observar un descenso gradual de la motilidad individual progresiva espermática hasta llegar a 0, con mayor rapidez en las muestras de semen nativo, en comparación con las muestras que fueron diluidas con BTS (Ver cuadro No. 2).

Cuadro 2. Promedios de porcentajes de motilidad de espermatozoides en diferentes horas post-dilución.

Tiempo de la evaluación	% Motilidad del grupo A semen nativo	Desviación Standard	% Motilidad del grupo B semen+BTS	Desviación standard
1 hora	76.8	15.73	83.2	6.27
2 horas	50.4	22.26	64.8	11.22
3 horas	16.6	18.57	41.6	19.26
4 horas	1.8	5.01	16.1	17.28
5 horas	0	0	3.8	7.67
6 horas	0	0	0	0

El promedio de la duración de la motilidad individual progresiva espermática proporciona los datos para realizar el análisis estadístico, sometiendo los datos a la hipótesis de diferencia de promedios, utilizando la t de Student, se obtuvo una diferencia significativa entre ambos tratamientos, siendo mejor el tratamiento del grupo B manteniendo vivas más células espermáticas por más tiempo.

Para la variable de movimiento individual progresivo, en el estudio se trabajó con muestras con 96% de motilidad individual en promedio al momento de la colecta. Alamo (2007) reporta que una muestra apta para realizar dilución e inseminación debe estar entre 85-98%. Esto determina la eficiencia del semen para lograr la fecundación, ya que al momento de realizar una inseminación artificial, se debe obtener un 50% de motilidad individual como mínimo para alcanzar un índice de fecundación del 80% (Ake-Lopez, Martínez, & Centurion, 2012).

Se considera el diluyente BTS como un diluyente de corta duración apto para su uso en caninos en un tiempo no mayor a 2 horas, especialmente en animales con poco volumen de eyaculado, así como las razas pequeñas. También se convierte en una opción para el transporte de dosis seminales de forma más eficiente, manteniendo un mejor poder fecundante para una posterior inseminación artificial comparando con semen nativo.

El costo de los materiales consumidos para la elaboración de las 25 muestras fue de Q. 300.00, dando un costo total por dosis de Q. 12.00, lo que lo cataloga en una opción, práctica, barata y accesible.

VII. CONCLUSIONES

- El extensor comercial de semen porcino BTS (beltsville thawing solution), puede ser empleado como extensor de semen canino, ya que no presenta efectos perjudiciales para la supervivencia del mismo.
- El extensor comercial BTS muestra capacidad de conservación al mantener los valores similares en viabilidad y motilidad individual progresiva en relación al semen nativo, por lo que se puede considerar como un conservante de corta duración.
- El extensor comercial BTS permite una extensión seminal de por lo menos 2 horas post-dilución con índice de motilidad individual progresiva espermática aceptable para una inseminación artificial (64.8%).
- El costo de la elaboración de cada dosis seminal utilizando BTS es de Q. 12.00, lo que aporta una opción viable y económicamente accesible para realizar extensión de semen canino, para su pronta utilización en inseminación artificial.

VIII. RECOMENDACIONES

- Utilizar diluyente BTS como extensor de semen en caninos en un tiempo no mayor a 2 horas post preparación, ya que su uso es práctico, económico y accesible en el mercado local.
- Evaluar el porcentaje de preñez en perras inseminadas utilizando BTS como extensor seminal.
- Evaluar los efectos de otros diluyentes de uso comercial existentes en el mercado guatemalteco comparados con el BTS para la conservación de semen en perros.

IX. RESUMEN

Se evaluó el efecto del diluyente comercial BTS formulado para semen porcino, como diluyente de semen canino, evaluando la motilidad individual progresiva espermática.

Se utilizaron 25 muestras pareadas de semen de caninos y fueron sometidas a dos tratamientos, A fue semen nativo y B, fue semen diluido con BTS. El volumen de cada muestra fue de 1 ml de semen nativo para formar el tratamiento A, y 2ml de semen diluido para el tratamiento B al cual se le añadió diluyente BTS conteniendo un mínimo de 200×10^6 espermatozoides por dosis. Los dos tratamientos se conservaron a una temperatura de 37°C en baño María y fueron evaluadas cada hora (hasta seis horas post-dilución) observando el porcentaje de motilidad individual progresiva.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando la prueba de t de Student, para diferencia de promedios, donde se demostró que sí existe diferencia significativa entre ambos tratamientos. La motilidad fue evaluada y el tratamiento B, demostró mantener un buen índice hasta transcurrir dos horas post-dilución (64.8%), por lo que el BTS se considera un diluyente de corta duración para su uso en caninos.

El costo de la dosis seminal fue de Q.12.00 por lo que se convierte en una alternativa, eficiente y accesible para la dilución y conservación de semen canino.

SUMMARY

The effect of the commercial BTS diluent formulated for porcine semen as a canine semen diluent was evaluated by evaluating the individual spermatic progressive motility.

A total of 25 paired samples were used, of which treatment A was native semen and treatment B was diluted semen with BTS. The volume of each sample was 1 ml of native semen to form treatment A, and 2 ml of diluted semen for treatment B to which BTS diluent containing at least 200×10^6 spermatozoa per dose was added. The two treatments were kept at 37°C in a water bath and were evaluated every hour. Observing the percentage of progressive individual motility. The obtained data were analyzed using Student's t-test, for difference of averages, where it was shown that there is a significant difference between both treatments. Motility was evaluated and demonstrated to maintain a good index until 2 hours post-dilution (64.8%), so the BTS is considered a short-term diluent for use in canines.

The cost of the seminal dose was of Q.12.00 reason why it becomes an alternative, efficient and accessible for the dilution and conservation of canine semen.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ake-Lopez, J., Martínez, E., & Centurion, F. (2012). Efecto de los diluyentes Triladyl y Seagear sobre la congelación de semen canino. *Bioagrociencias* 5, 29-33.
- Alamo, D. (2007). *Crioconservación y viabilidad espermática en la especie canina: Utilización de nitrógeno líquido vs Ultracongelador de -152 grados*. Tesis de Doctorado no publicada, Universidad de las Palmas, Gran Canaria, España.
- Betancur, G., Araque, N., & García, E. (2009). Criopreservación de semen canino y su aplicación en la inseminación artificial. *Revista CES*, 4, 119-129.
- Butirica, E., Villanueva, C., & Hernández, L. (2009). Como hacer una evaluación espermática en caninos. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 2, 69-72.
- Dumon, C. (1989). Frotis vaginales e inseminación artificial en perras . *Revista AVEPA*, 9, 35-47.
- Eilts, B. (2005). Theoretical aspects of canine cryopreserved semen evaluation. *Theriogenology*, 686-691.
- Lucas, X. (2011). Estado actual de las técnicas de inseminación artificial. *Centro Veterinario*, 46, 4-10.
- Ochoa., A., & Torres, L. (2012). Crioconservación de semen canino y evaluación de su viabilidad espermática a través de microscopía directa e inseminación artificial. Tesis de licenciatura no publicada, Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Peña, A., & Linde Forsberg, C. (2000). Effects of spermatozoal concentration and post-thaw dilution rate on survival after thawing of dog spermatozoa. *Theriogenology*, 703-718.



Preda, L. (2002). *Utilizacion de leche descremada fluida U.H.T. de bovino como extensor de semen fresco de verracos. Tesis de licenciatura*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala: Universitaria.

Rueda, M. (2011). Diluyentes para la conservación de semen porcino. *Revista computarizada de produccion porcina*, 18(1), 20-28.



XI. ANEXOS

Ficha No.1: Resultado del espermograma de los perros del experimento

(noviembre 2015- noviembre 2016)

Fecha:

Número de Repetición:

Evaluación Macroscópica	Descripción
Volumen total del eyaculado	
Color	
Olor	
Ph	

Evaluación Microscópica	Descripción
Movimiento individual progresivo%	
Aglutinaciones (+)	
Vivos / muertos (%)	
Anormalidades (%)	
Concentración (millones/ml)	

Observación de la motilidad individual progresiva%

Motilidad Individual %	1 horas	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	7 horas
A Semen nativo							
B Semen+BTS							

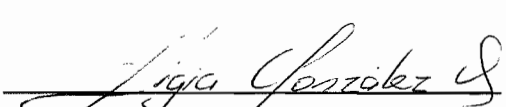

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA


**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**EFFECTOS DEL EXTENSOR COMERCIAL DE SEMEN PORCINO
BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION), SOBRE SEMEN
CANINO**

f. 

JAIRO OVIDIO MONZÓN ZETINO

f.  f. 
M.A. LIGIA ANAÍTE GONZÁLEZ QUINÓNEZ M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA
ASESOR PRINCIPAL ASESOR

f. 

M.Sc. Juan José Prem González
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. 

M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
DECANO

