



Universidad del Sureste

**Licenciatura en medicina
veterinaria y zootecnia**

Septimo cuatrimestre

**Zootecnia de pequeñas
especies**

“Tarea 2 3er parcial”

Profesor: José Luis Flores Gutiérrez

Alumna: Alejandra Morales López

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. A 11 de noviembre de 2021.

Fracciones del eyaculado del macho canino, de donde vienen que contienen y para qué sirven

El volumen del eyaculado canino varía de acuerdo al tamaño de los reproductores, y fluctúa entre 1 y 40 ml. Presenta tres fracciones, siendo la primera y la tercera de origen prostático y la segunda es la fracción rica o espermática que contiene a los espermatozoides.

El macho inicia su estimulación como consecuencia del olor de las feromonas producidas por la vagina y las glándulas anales de la perra. Se inicia la erección del pene y el macho monta a la hembra e introduce el pene dentro de la vagina (penetración) mediante movimientos rítmicos que llamamos acometida. Durante este periodo se eyacula la primera fracción de semen o fracción uretral, líquido claro libre de espermatozoides. A continuación el perro se gira, lo que conocemos como volteo, momento en el que se completa la erección. La compresión venosa del pene produce la expansión del glande y Después el perro desmonta, quedando unido a la perra en sentidos opuestos. Es el abotonamiento y en esta fase tiene lugar la emisión de la tercera fracción del eyaculado (fracción prostática) que es clara y pobre en espermatozoides. Esta fase puede durar entre 20 y 60 minutos hasta que el glande se relaja y el perro se desabotona.

Como se realiza la evaluación micro y macro del semen

Para realizar la valoración final del semen se establecen los parámetros según dos grupos, En el primero se encuentran los parámetros con los cuales se valora principalmente la fecundidad del macho y el segundo grupo lo conforman las características adicionales.

Parámetro	Valor
Espermatozoides totales	>200x10 ⁶ por eyaculado
Movilidad espermática	>70% con avance progresivo hacia adelante
Morfología de los espermatozoides	>70% de formas normales
Defectos primarios	<10% de los espermatozoides
Defectos secundarios	<20% de los espermatozoides

Evaluación Macro:

La primera evaluación a realizar es la macroscópica, que consta de los siguientes pasos: Volumen: se observa directamente sobre el tubo graduado, teniendo en cuenta que un toro mayor de 2 años debe tener un eyaculado de no menos de 4ml. El volumen puede variar entre 2 y 12ml. Color: se consideran normales los colores que van del blanco al amarillento, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso. Densidad: la densidad del semen varía desde un semen acuoso, lechoso, lechosocremoso, hasta un cremoso, estando directamente relacionada con la concentración.

MB = Cremoso, espeso 750.000 esp/mm³

B = lechoso, 400 a 750.000 esp/mm³

R = leche aguachenta, 250 a 400.000 esp/mm³

P = traslucido, menos de 250.000 esp/mm³

M.M.Ma (Motilidad en Masa Macroscópica): se evalúa observando el tubo de recolección y detectando la presencia o no de movimiento masal o de remolinos. Se considera como positiva o negativa.

Ph: se evalúa extrayendo una gota de semen del tubo y colocándola sobre una tira indicadora de pH. Se considera un pH normal, entre 6.2 y 6.8. Nota: no introducir la tira dentro del tubo para no alterar el semen con el reactivo de la misma.

Cuerpos Extraños: se evalúa observando el fondo del tubo para detectar la presencia de algún cuerpo extraño, se considera como positivo o negativo.

Schalm Test: se realiza para detectar la presencia de leucocitos, pero sólo en casos que se sospeche la presencia de los mismos. No se hace de rutina en cada evaluación.

Evaluación Micro:

Finalizada la evaluación macroscópica, se continúa con la evaluación microscópica, que consta de los siguientes pasos: M.M.Mi (Motilidad en Masa Microscópica): se coloca una gota del semen puro sobre un portaobjetos atemperado a 36-37°C, sobre una platina térmica de microscopio, y se lo observa a 40 aumentos (lupa), evaluando la presencia de ondas omega. Se debe evaluar cerca del borde de la gota, donde la profundidad de la misma es menor y es más fácil de observar. La escala que se toma es de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Dentro de esos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo de aceptación 3 de MMMi. M.I. (Motilidad individual): para realizar esta evaluación se debe diluir el semen en Citrato de Na 2.92% (ver preparación en el apéndice). Se

coloca una gota gruesa de semen, de aproximadamente 30 ó 40 microlitros en un tubo con unos 2ml. de la solución de Citrato que debe estar a la misma temperatura del semen, ya en el Baño María. Una vez diluido el semen se extrae una gota de la dilución y se la coloca sobre un portaobjetos atemperado a 36-37°C y se coloca sobre ésta un cubreobjetos, también a la misma temperatura. Se observa al microscopio, siempre sobre la platina térmica, a 400 aumentos. Se debe observar un campo y valorar subjetivamente los espermatozoides que se mueven en forma rectilínea progresiva, siendo éstos los que atraviesan el campo de observación. Los espermatozoides que giran en círculo o avanzan en forma oscilatoria, se consideran que tienen movimientos anormales. El porcentaje que se indica es el de los espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo del total de espermatozoides aceptados, siendo el valor mínimo aceptable del 50 %.

MB = 80-100% de células móviles.

B = 60-79% R = 40-59%

P = menos de 40%

Vigor: se evalúa el vigor, al mismo tiempo que la MI, teniendo en cuenta la velocidad con la que éstos espermatozoides atraviesan el campo. La escala que se utiliza es de 0 a 4, evaluando como 0 los espermatozoides inmóviles y como 4 los que avanzan rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente. Dentro de estos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo aceptable un vigor de 3.

Concentración: para evaluar la concentración, se debe preparar previamente una solución salina formolada 2%(ver preparación en el apéndice). Se colocan 10 microlitros de semen puro en 2ml. de solución salina formolada (1/200) y se homogeniza invirtiendo el tubo varias veces. Una vez homogeneizado, se toman aproximadamente 14 microlitros y se carga la Cámara de Newbawer por capilaridad, en ambos retículos, teniendo en cuenta de cargar otros 14 microlitros para el segundo retículo volviendo a homogeneizar entre una carga y otra. Nota I: para preparar la Cámara, se deben humedecer los bordes de ésta antes de colocar el cubrecámara y luego se debe presionar ejerciendo una leve fricción para que el cubrecámara quede fijo y al invertir la Cámara no se caiga. Una vez cargada, se debe dejar reposar unos minutos para permitir que todos los espermatozoides decanten y se ubiquen en un mismo plano para poder contarlos. Luego se procede a ubicar el retículo de glóbulos rojos a 100 aumentos, y una vez localizado, se pasa a 400 aumentos para realizar el conteo. Se cuentan todos los espermatozoides que se encuentren en las 4 cuadrículas de las puntas y la central (5 en total) teniendo en cuenta de incluir también los espermatozoides que se encuentren sobre 2 de las triples líneas de cada cuadrícula, ya sean la superior y derecha ó la izquierda e inferior. Se cuentan los retículos de ambos lados de la cámara y se saca el promedio. Al número de espermatozoides que conté, lo multiplico por 10.000(*) y así obtengo la cantidad de espermatozoides por milímetro cúbico de semen. Se

considera como valor aceptable, una concentración de no menos de 750.000 espermatozoides por milímetro cúbico para aceptar el eyaculado para congelación. La concentración mínima aceptable para toro de rodeo general es de 500.000 espermatozoides por milímetro cúbico. Nota II: la medición de la concentración se puede realizar al final de toda la evaluación, ya que el semen se puede conservar hasta el otro día en la solución formolada. (*)Factor de corrección que obtengo de multiplicar la inversa de la dilución por la inversa de la profundidad de la cámara por el total de cuadrículas pequeñas que posee el retículo, dividido el número de cuadrículas pequeñas que cuento en las 5 cuadrículas grandes. $10 \times 200 \times 400 / 80 = 10000$

Frotis: para completar la evaluación se deben realizar los siguientes frotis: Coloración Vital, Morfología y Acrosomía, pudiéndose evaluar éstos dos últimos en el mismo frotis, con la tinción adecuada. a)

Coloración Vital: se realiza extrayendo una gota de aproximadamente 10 microlitros de semen puro y colocándola sobre la punta de un portaobjetos limpio y desengrasado atemperado a 36,-37°C sobre la platina térmica. Sobre esta gota se coloca una gota de aproximadamente 30 microlitros de eosina, que debe estar a la misma temperatura del semen, en un tubo dentro del Baño María. Se mezcla suavemente con la punta de la pipeta por aproximadamente 20 segundos. Se utiliza otro portaobjetos, también atemperado, y se apoya sobre el borde de la gota para que por capilaridad se distribuya sobre el portaobjetos, se levanta y se realiza el extendido en forma firme. (Nota I: no se realiza el extendido directamente de la gota gruesa dónde se mezcló para evitar que el frotis tenga un grosor excesivo y resulte dificultosa su lectura). Se deja secar sobre la platina térmica y se procede a su lectura. El fundamento de esta técnica es el siguiente: el colorante penetra la membrana de los espermatozoides muertos, dejando sin teñir los que se encontraban vivos al momento de realizar la tinción. Para sacar el porcentaje de espermatozoides vivos se procede a observar el frotis a 400 aumentos, contando en guarda griega todos los espermatozoides de cada campo evaluado, discriminando los que están teñidos, como muertos y los sin teñir como vivos. Se cuentan no menos de 100 células y se saca el porcentaje. Se considera como valor mínimo aceptable, el 70 % de espermatozoides vivos. (Nota II: la lectura del frotis de coloración vital se debe realizar el mismo día de la evaluación, ya que pasado el tiempo todos los espermatozoides pueden llegar a teñirse). b) Morfología y Acrosomía: se coloca una gota de aproximadamente 30 microlitros de semen diluido sobre un portaobjetos limpio y desengrasado y se realiza el frotis en forma firme y pareja. Se deja secar el frotis y se lo tiñe con una solución de Giemsa. Se dejan incubar con el colorante por 4 horas, se los retira se enjuagan y se los deja secar. La evaluación de la morfología y la acrosomía se realiza bajo aceite de inmersión a 1000 aumentos. Los espermatozoides se visualizan de color violáceo y en el caso de tener presente su acrosoma se puede apreciar de un violáceo más intenso, de estar ausente el mismo se observa la cabeza del espermatozoide de un color

homogéneo o con el tercio superior más claro. El valor mínimo tanto para rodeo general como para congelación es de 70% de acrosomas normales. También se puede evaluar por medio de contraste de fase con glutaraldehído al 0,2%. Si se desea ver sólo morfología se puede utilizar también Rosa de Bengala observándose a los espermatozoides de un color rosa intenso. Con respecto a las Malformaciones Espermáticas, se las puede clasificar siguiendo diferentes criterios: 1) Primarias y Secundarias Es la clasificación más usada en la bibliografía, pero no por ello la más exacta. Las malformaciones Primarias por definición, son aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y malformaciones Secundarias son aquellas que se originan dentro del epidídimo; cabe destacar que por definición se denota el origen y no la severidad del defecto. 2) Mayores y Menores Esta clasificación la propuso Bloom en 1977 y llamó malformaciones Mayores a aquellas que estaban asociadas con infertilidad y malformaciones Menores a aquellas que, al momento de crear el método de clasificación, no se encontraban relacionadas con la fertilidad en forma directa. 3) Compensables y No Compensables En 1994 Saacke y col. propusieron clasificar los defectos como Compensables a aquellos en los que el espermatozoide no llega a la vecindad del ovocito y no evita que otro espermatozoide realice la fertilización; por lo tanto si se aumenta la concentración de la dosis seminal, se podría llegar a compensar este tipo de malformación, tal es el caso de espermatozoides con problemas en el sistema de locomoción. Un defecto No Compensable es aquel en el cual el espermatozoide está perfectamente capacitado para llegar hasta el ovocito, realiza el bloqueo de la polispermia pero es incapaz de continuar el proceso de fertilización. Dicho defecto no se puede compensar aumentando la concentración de la dosis inseminante, ya que si una muestra posee un 20% de espermatozoides con este defecto, no habrá ninguna diferencia si hay 100, 1.000 o 10.000 en el oviducto, siempre tendríamos 20% de chances de que un espermatozoide con este tipo de defecto inicie la reacción acrosómica y bloqueo de la polispermia. Tal es el caso de espermatozoides con vacuolas nucleares (defecto de diadema).