



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EL CICLO ESTRAL Y ASPECTOS REPRODUCTIVOS EN LA PERRA

SERVICIO PROFESIONAL

QUE PRESENTA:

YENY ALEJANDRA VARGAS TÉLLEZ

PARA OBTENER TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

Médico Veterinario Zootecnista. José Fidel Valencia Ezequiel

Morelia, Michoacán. Mayo 2014



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECA

EL CICLO ESTRAL Y ASPECTOS REPRODUCTIVOS EN LA PERRA

SERVICIO PROFESIONAL

QUE PRESENTA:

YENY ALEJANDRA VARGAS TÉLLEZ

PARA OBTENER TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Mayo 2014

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres

Miguel e Isabel

Que han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, que con todo esto y sus consejos me han ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles. Y que detrás de todo este logro esta su apoyo, comprensión, confianza y cariño. Gracias por darme la oportunidad de hacer realidad este sueño y por alentarme a hacer lo que quiero.

A mis hermanos

Vero, Juan, Migue y Adrián

Por ser una parte importante de mi vida. Vero por brindarme todo su apoyo incondicional, por ser un ejemplo de estudio, desarrollo profesional y por ser un gran apoyo a lo largo de mi carrera. Juan, Migue y Adi por llenar mi vida de grandes momentos compartidos.

A mis sobrinos

Dany y Kim

Que son una de las personas más bonitas que me ha regalado la vida y no hay palabras que exprese un sentimiento tan grande, ya que su presencia, travesuras y ocurrencias causan alegrías.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, sobre todo a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me abrió las puertas a sus aulas llenas de sabiduría en las cuales pase momentos de emociones, nerviosismos y alegrías.

A todos los Médicos, Doctores y Maestros que formaron parte del cuerpo de profesores que durante toda mi carrera profesional me han transmitido sus amplios conocimientos y sus sabios consejos

Al MVZ José Fidel Valencia Ezequiel al que agradezco su apoyo, experiencia, orientación, paciencia amabilidad y disposición ya que ha sido una parte esencial de mi formación.

Al MVZ. José Farías Mendoza por su amabilidad, disposición, paciencia y por el tiempo que dedico para que este trabajo culminara satisfactoriamente, mi agradecimiento sincero.

Al MVZ. Jorge Antonio Mariño Solís por la amabilidad, disposición, paciencia, y tiempo que dedico para que este trabajo culminara exitosamente, mi agradecimiento sincero.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Pubertad	3
1.2. Anatomía del Aparato Reproductor de la Perra	3
1.2.1. Vulva	4
1.2.2. Clítoris.....	5
1.2.3. Vestíbulo	5
1.2.4. Unión vestíbulo-vaginal.....	5
1.2.5. Vagina.....	6
1.2.6. Cuello del útero o cérvix.....	7
1.2.7. Útero	7
1.2.8. Trompas uterinas	8
1.2.9. Ovarios.....	8
1.2.10. Estructuras de sostén, nervios y riego sanguíneo	9
1.3. Ciclo Estral de la Perra	9
1.4. Características del Ciclo Estral	12
1.4.1. Fase folicular o estrogénica	12
1.4.2. Fase luteínica o progestacional	13
1.5. Etapas del Ciclo Estral	14
1.5.1. Etapa de proestro	14
1.5.2. Etapa de estro.....	16
1.5.3. Etapa de diestro.....	19
1.5.4. Etapa de anestro.....	21
1.6. Citología Vaginal Exfoliativa (CVE)	22
1.6.1. Características de las células epiteliales.....	23
1.6.1.1. <i>Células basales</i>	24
1.6.1.2. <i>Células parabasales</i>	24
1.6.1.3. <i>Células intermedias</i>	25
1.6.1.4. <i>Células superficiales nucleadas</i>	26
1.6.1.5. <i>Células superficiales anucleadas o escama</i>	27
1.7. Técnica de la CVE	27

1.7.1.	Toma de muestra.....	27
1.7.2.	Extensión	28
1.7.3.	Fijación y tinción	29
1.7.3.1.	<i>Tinción nuevo azul de metileno</i>	29
1.7.3.2.	<i>Tinción de Wright-Giemsa</i>	30
1.7.3.3.	<i>Tinción de Harris-Schorr</i>	30
1.7.4.	Interpretación	31
1.7.4.1.	<i>Células presentes durante el proestro</i>	31
1.7.4.2.	<i>Células presentes durante el estro</i>	32
1.7.4.3.	<i>Células presentes durante el diestro</i>	32
1.7.4.4.	<i>Células presentes durante el anestro</i>	33
1.8.	Alteraciones y Variaciones del Ciclo Estral	34
1.8.1.	Prolongación del estro y anestro.....	34
1.8.2.	Estro silencioso.....	36
1.8.3.	Estro dividido	36
1.9.	Reproducción.....	37
1.10.	Anatomía del Aparato Reproductor del Perro	38
1.10.1.	Prepucio	39
1.10.2.	Pene	39
1.10.3.	Escroto	39
1.10.4.	Testículos	40
1.10.5.	Epidídimo.....	40
1.10.6.	Conducto deferente	40
1.10.7.	Cordón espermático	41
1.10.8.	Próstata	41
1.10.9.	Uretra.....	42
1.11.	Monta Directa.....	42
1.12.	Fertilidad	44
1.13.	Inseminación Artificial (IA)	44
1.13.1.	Ventajas y desventajas de la I.A.....	45
1.14.	Colección del Semen	46

1.14.1.	Manipulación digital o colección manual.....	48
1.14.2.	Vagina artificial	49
1.14.3.	Electroeyaculación.....	50
1.15.	Evaluación del Semen	50
1.15.1.	Evaluación macroscópica	51
1.15.1.1.	<i>Volumen</i>	51
1.15.1.2.	<i>Color</i>	51
1.15.1.3.	<i>Ph</i>	52
1.15.1.4.	<i>Olor</i>	52
1.15.2.	Evaluación microscópica	52
1.15.2.1.	<i>Concentración</i>	52
1.15.2.2.	<i>Morfología</i>	53
1.15.2.3.	<i>Motilidad</i>	54
1.15.2.4.	<i>Mortalidad</i>	55
1.15.2.5.	<i>Integridad y funcionalidad de membrana</i>	55
1.16.	Conservación del Semen Canino.....	56
1.16.1.	Métodos de conservación y diluyentes utilizados	56
1.16.2.	<i>Proceso de refrigeración</i>	58
1.16.3.	<i>Proceso de congelación o criopreservación</i>	59
1.16.4.	<i>Proceso de descongelación</i>	60
1.17.	Técnicas de Inseminación	60
1.17.1.	Inseminación intravaginal	61
1.17.2.	Inseminación intrauterina	63
1.17.2.1.	<i>Método quirúrgico</i>	63
1.18	Fertilidad	64
2.	CONCLUSIONES.....	66
3.	BIBLIOGRAFÍA.....	67

ÍNDEICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra.....	4
Figura 2: Niveles hormonales durante el ciclo estral de la perra	11
Figura 3. Esquema de la distribución de los distintos tipos de células en el epitelio vaginal.....	24
Figura 4. Célula parabasal.....	25
Figura 5. Ejemplo de las células intermedias.	26
Figura 6. Ejemplo de las células superficiales nucleadas.....	26
Figura 7. Ejemplo de las células superficiales anucladas.....	27
Figura 8. Técnica para toma de muestra de la CVE	28
Figura 9. Técnica de extensión de la muestra	29
Figura 10. Citología vaginal al inicio (izquierda) y final (derecha) del proestro.....	31
Figura 11. Las células epiteliales sin núcleo, con presencia de algunas células con núcleo picnótico.....	32

Figura 12. Células epiteliales parabasales e intermedias.....	33
Figura 13. Frotis de epitelio vaginal en etapa de anestro, donde las células parabasales muestran un núcleo grande.	34
Figura 14. Anatomía del aparato reproductor del macho.	38
Figura 15. Comportamiento durante la monta	43
Figura 16. Extracción y colección del semen canino.....	49
Figura 17. Movimientos evaluados en la prueba de motilidad.....	55
Figura 18. Inseminación intravaginal.....	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tinción de Harris-Schorr	30
Cuadro 2. Parametros para evaluar la fertilidad	44
Cuadro 3. Características del semen del perro.	46
Cuadro 4. Características de las diferentes fracciones del eyaculado del canino. ...	47
Cuadro 5. Variacion en el volumen del eyaculado según el tamaño de perro	51
Cuadro 6. Clasificación morfológica del espermatozoide canino.....	54
Cuadro 7. Porcentaje de efectividad en la inseminacion artificial.	65



RESUMEN

La primera información de la inseminación artificial en caninos fue realizada en 1887 por Lazzaro Spallanzini quien utilizó semen fresco; aparte de estos antecedentes, se han realizado un sin número de investigaciones para satisfacer las necesidades de los criadores caninos. El uso de la inseminación en esta especie se ha incrementado considerablemente, ya que brinda diferentes opciones como el cruzar variedades y razas en todo el mundo sin la necesidad de la presencia física del macho propiciando el aumento de la variabilidad genética. La reproducción de la hembra inicia con la pubertad siendo el periodo durante el cual se vuelven funcionales los órganos reproductivos, iniciando en la perra entre los 4 y 18 meses dependiendo de la raza. El ciclo estral de la perra se caracteriza por los cambios que ocurren en el organismo periódicamente y consiste en una serie de procesos evolutivos e involutivos del aparato reproductor. Este ciclo está dividido en cuatro etapas: proestro, estro, diestro y anestro, teniendo las cuatro una duración entre 6 a 8.5 meses; aun que se pueden llegar a presentar alteraciones en cada una de las etapas, unas de estas pueden ser: prolongación de estros y anestros, anestros persistentes, estros silenciosos y estros cortados o divididos. En el ciclo estral la citología vaginal exfoliativa es una herramienta importante teniendo el objetivo de determinar el tipo y cantidad de células que se presentan en las diferentes etapas del ciclo; y así mismo determinar el momento óptimo que el macho lleve a cabo la monta o se realice la inseminación artificial.

Palabras clave: Reproducción, Ciclo estral, Citología Vaginal Exfoliativa, Inseminación Artificial.

ABSTRACT

The first information of artificial insemination in dogs was conducted in 1887 by Lazzaro Spallanzini who use fresh semen; apart from this background, there have been a number of investigations to meet the needs of dog breeders. The use of AI in this species has increased considerably, as it provides different options like crossing varieties and races throughout the world without the need for the physical presence of the male resulting in greater genetic variability. Reproduction of female puberty starts with being the period during which the reproductive organs become functional, starting in the bitch between 4 and 18 months depending on the breed. The estrous cycle of the bitch is characterized by changes that occur in the body periodically and consists of a series of evolutionary processes and devolving reproductive tract. This cycle is divided into four stages: proestrus, estrus, diestrus and anestrus , taking four a duration between 6 to 8.5 months; even that could contain alterations in each of the stages , some of these include: prolonged estrus and anestrus , persistent anestrus, estrus silent estrus and cut or divided. In the estrous cycle exfoliative vaginal cytology is an important tool considering the objective of determining the type and number of cells that arise at different stages of the cycle; and likewise determine the optimum time to perform the male mating or artificial insemination is performed.

Keywords: Reproduction, Estrous Cycle, Exfoliative Vaginal Cytology, Artificial Insemination.



1. INTRODUCCIÓN

La primera información de Inseminación Artificial en caninos fue realizada en 1887 por Lazzaro Spallanzani quien utilizó semen fresco; aparte de estos antecedentes, se han realizado un sin número de investigaciones para satisfacer las necesidades de los criadores caninos, implementando bancos germoplásmicos, para conservar las diferentes razas caninas en el futuro y mantener la capacidad fecundante del semen congelado en caninos, obtener una tasa de preñez y camadas satisfactorias (Ocho y Torres, 2012)

El uso de la inseminación artificial en caninos (IA) se ha incrementado considerablemente, ya que brinda diferentes opciones como el cruzar variedades y razas en todo el mundo sin la necesidad de la presencia física del macho proporcionando el aumento de la variabilidad genética (Bonilla y Ballesteros, 2007). Para realizar esta técnica es importante detectar el momento óptimo del estro y de la ovulación, para esto se aplica la citología vaginal Exfoliativa en la cual mediante las células que se encuentran presentes en cada una de las etapas se puede saber con certeza el momento en que la perra se encuentra en estro.

Otros aspectos importantes que hay que tomar en cuenta son, las características que debe presentar el semen y el manejo desde el momento de la colecta hasta el de la IA, ya que si la técnica se realiza con semen fresco, esta debe ser realizada en el mismo momento de la colección, siendo que si el semen tarda largo tiempo a temperatura ambiente pierde su viabilidad y si es con semen congelado o refrigerado debe manejarse de una manera adecuada desde el proceso de congelación o refrigeración añadiendo diluyentes que ayuden a su conservación y mantener su viabilidad.



Teniendo en cuenta esto mencionado y aplicando de manera adecuada la técnica de IA se puede tener una respuesta favorable en la fertilidad.

Actualmente se ha mostrado un creciente interés en la reproducción de los perros, aunque para esto es necesario conocer aspectos muy importantes que esto implica como es la anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra y el macho, los aspectos del ciclo estral, así como de sus posibles alteraciones, ya que si alguna de estas se presentan esto, puede llegar a complicar la reproducción.

El presente trabajo está basado en una revisión bibliográfica teniendo como objetivo el recopilar la información necesaria de la biología reproductiva y las biotecnologías que permitan manipular la reproducción de la especie canina, en un documento que tenga acceso a la consulta de manera práctica de estudiantes, criadores y profesionales que interesen por la reproducción de esta especie animal.



1.1 Pubertad

Mcdonald (1978), Frandson (1995), Sorribas (2000) y Páramo (2012), explican que la pubertad es el periodo durante el cual se vuelven funcionales los órganos de la reproducción, en el caso de la hembra el primer estro va acompañado con ovulación. Esta suele aparecer en las perras entre los 4 y 18 meses, siendo más temprana en perras de razas pequeñas. Mientras que para Feldman y Nelson en el 2000, las perras muestran su primer ciclo varios meses después de que alcanzan la talla y el peso corporal de un adulto; Sin embargo, hay variaciones considerables aun dentro de la misma raza. Para la aparición de la pubertad existen diversos factores que pudiesen modificarla, como son: los factores climáticos, genéticos, raciales, enfermedad, estrés, sexuales y nutricionales, ya que teniendo alimentación adecuada y una buena calidad corporal, permite el desarrollo total y armónico del individuo.

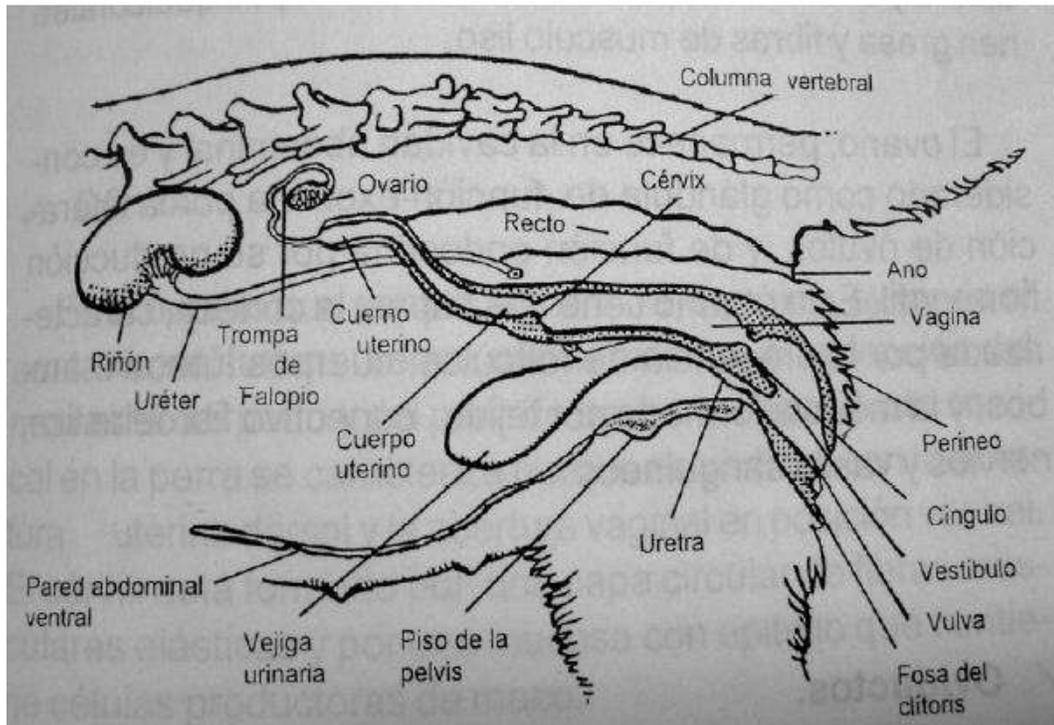
Procesos en el desarrollo ovárico que se relacionan con la pubertad son: la oogénesis que es el desarrollo del ovulo derivado de una célula sexual primitiva, la ovulación y la formación de cuerpo lúteo. Estos procesos influyen en otras partes del aparato reproductor dando inicio al ciclo estral (Frandson, 1995).

1.2. Anatomía del Aparato Reproductor de la Perra

El aparato reproductor de la perra consta de órganos externos e internos, como son: vulva, clítoris, vestíbulo, unión vestíbulo vaginal, vagina, cuello del útero, útero, trompas uterinas, ovarios y estructuras de sostén como son el ligamento ancho (mesoovario, mesosalpinx, y mesometrio), ligamento suspensorio, bolsa ovárica ligamento propio del ovario, nervios y riego sanguíneo.



Figura 1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra.



(Pérez, 2008)

1.2.1. Vulva

Allen (1993), Sisson y Grossman (2001), definen que la vulva es una abertura del aparato genital de la hembra, se encuentra rodeado por los labios mayores y menores, se localiza en posición ventral al suelo de la pelvis, su tamaño va a depender de la raza y de la fase del ciclo estral que se encuentre. La mucosa que recubre a la vulva es lisa y de color rojo, presenta una prominencia a causa de los folículos linfáticos. Existen dos músculos circulares estriados que conectan el vestíbulo y la vulva.



1.2.2. Clítoris

Este es homólogo del pene, su cuerpo es pequeño y plano, mide aproximadamente de 3 a 4cm de longitud, dependiendo de la raza. Está localizado en el piso del vestíbulo cerca de la vulva y cuenta con dos porciones:

Cuerpo: este se encuentra formado por grasa.

Glande: es una estructura pequeña que está constituida por tejido eréctil cubierto por epitelio escamoso estratificado y una gran cantidad de terminaciones nerviosas. Se localiza en la fosa del clítoris, siendo esta porción la homóloga al pene (Ávila, 2009).

1.2.3. Vestíbulo

Es un conducto que conecta la abertura de la vulva con la vagina, se localiza sobre la pared ventral, en posición craneal a la comisura vulvar ventral, el clítoris se encuentra suspendido en un pliegue transversal de la mucosa. La luz vestibular asciende en un ángulo de 60° hacia arriba desde la horizontal y posteriormente ocurre una corta distancia hacia adelante en la pelvis hasta la unión con la vagina (Allen, 1993).

1.2.4. Unión vestíbulo-vaginal

El vestíbulo vaginal es el que conecta la vagina y la entrada de la uretra con la abertura genital externa. La uretra se abre en este punto ventralmente, en perras que no han sido cubiertas existe un estrechamiento que indica la posición del vestigio del



himen. Este aparece total o parcialmente intacto en algunas perras, impidiendo así el apareamiento (Allen, 1993; Sisson y Grossman, 2001).

1.2.5. Vagina

Para Sisson y Grossman (2001), Hafez (2002) y Medicina I (2013), es una estructura relativamente grande ya que mide aproximadamente 10 cm de longitud y es estrecha cranealmente, no se distingue el fornix (fondo de saco vaginal), la pared vaginal consta de un epitelio superficial, con una capa muscular y una serosa este último se caracteriza por un extracto circular interno grueso y otro longitudinal externo delgado, y se continúa una distancia en el interior del útero; la capa muscular es rica en vasos sanguíneos, paquetes nerviosos, grupos de células nerviosas y tejido conectivo laxo y denso.

La vagina se encuentra dirigida cranealmente desde la unión vestíbulo-vaginal hasta el cuello uterino; este conducto potencial se estrecha cranealmente debido a un pliegue longitudinal dorso-medial de la mucosa. La boca del cuello del útero se sitúa a unos 0.5cm caudal al límite craneal de la vagina, sobre la superficie dorsal (Allen, 1993).

Su función es de órgano copulatorio, donde se deposita el semen. Los pliegues vaginales y la disposición romboide de la musculatura a manera de valla permiten la distensión del órgano durante el apareamiento y el parto. Funciona como conducto excretor de las secreciones del cuello uterino, endometrio y oviductos (Hafez, 2002).



1.2.6. Cuello del útero o cérvix

Allen (1993), Hafez (2002) y Ávila (2009), describen que es un órgano corto, de gruesas paredes, con una luz estrecha que conecta la vagina con el útero, es fibroso formado predominantemente por tejido conectivo con pequeñas cantidades de tejido muscular liso. La abertura vaginal se abre dorsalmente sobre la vagina. El canal cervical aparece abierto durante el final del proestro, estro, parto y periodo post partum; en otros momentos suele estar cerrado.

El cuello del útero tiene varias funciones: a) facilita el transporte de los espermatozoides por el moco cervical hacia la luz del útero, b) actúa como depósito de espermatozoides, c) participa en la selección de espermatozoides viables, d) cierre durante la gestación y e) abrirse al momento del parto (Hafez, 2002).

1.2.7. Útero

El útero tiene forma de “Y”, está dividido en cuernos, cuerpo y cuello. El cuerpo es corto y se conecta caudalmente con el cuello del útero y los extremos de los cuernos estos son largos y se encuentran ubicados junto a la pared abdominal, alojan al feto durante la gestación y se comunican con los oviductos cranealmente; la longitud y la anchura van a depender de los cambios patológicos como de los fisiológicos. Los ligamentos anchos contienen mucha grasa, musculo liso y suspenden al útero de la región sublumbar, el ligamento intercornual une ambos cuernos cerca del cuerpo del útero (Allen, 1993; Ávila, 2009).

El útero se compone de tres capas: 1) membrana serosa que es una prolongación del peritoneo; 2) miometrio, consta de tres capas de musculo, y 3) endometrio



compuesto del revestimiento epitelial de la luz, glándulas y tejido conectivo. Sus funciones son: a) transporte de espermatozoides desde el sitio de eyaculación hasta la fecundación en el oviducto; b) regulación del funcionamiento del cuerpo amarillo produciendo prostaglandina (PGF 2α); y c) inicio de la implantación, la preñez y el parto, alimenta al embrión y al feto (Bearden, 1982; Mcdonald, 1978; Hafez, 2002).

1.2.8. Trompas uterinas

Son estructuras que van desde el extremo del cuerpo uterino hasta el ovario en el mesosalpinx y bolsa ovárica. Se divide en cuatro segmentos funcionales: *las fimbrias*, que tienen forma de holán, están unidas a las aberturas de las bolsas ováricas y conducen los óvulos fertilizados hacia el oviducto; *infundíbulo*, abertura abdominal en forma de embudo cerca del ovario; la *ampolla*, dilatada, y *el istmo*, la porción proximal estrecha del oviducto (Allen, 1993; Hafez, 2002).

1.2.9. Ovarios

En la perra los ovarios son ovoides, del tamaño de una avellana pequeña, de 1.5 x 0.7 x 0.5 cm aproximadamente, aunque su tamaño depende de la etapa del ciclo estral que se encuentre; Su superficie es lisa, aunque posterior a la preñez se tornan ásperos y nodulares. Estos están envueltos por una amplia bolsa ovárica y una capsula adiposa especialmente en la perra (Allen, 1993; Vatti, 1980).

Bearden (1982), Jones y Joshua (1984), describen que cada ovario contiene una medula central donde corren los vasos y una corteza que contiene dentro de su tejido conjuntivo numerosas células germinales y folículos en varias etapas de desarrollo. Su función es la producción de oocitos, estrógenos y progestágenos.



1.2.10. Estructuras de sostén, nervios y riego sanguíneo

El aparato reproductivo de la hembra descansa sobre el piso de la pelvis, el ligamento ancho es considerado la principal estructura de sostén ya que sostiene a los ovarios, oviductos y útero de ambos lados de la pared dorsal de la pelvis. Los vasos sanguíneos y nervios pasan a través del ligamento ancho del aparato reproductor, este está inervado por nervios autónomos; Sin embargo, se encuentran nervios sensoriales en la región de la vulva, en especial en el clítoris (Bearden, 1982).

Las arterias ováricas o arterias útero-ováricas, se ramifican e irrigan los ovarios y parte de los cuernos uterinos. Estas arterias son más grandes en el lado del ovario que presenta cuerpo lúteo activo. La arteria uterina media proporciona sangre al resto de los cuernos uterinos y al cuerpo lúteo, esta aumenta en la fase media y final de la preñez. La arteria hipogástrica se ramifica para irrigar al cérvix, vagina y vulva. (Bearden, 1982)

1.3. Ciclo Estral de la Perra

Lorenz (1987), Aguirre (2006) y Páramo (2012), definen que el ciclo sexual se caracteriza por los cambios que ocurren en el organismo de la perra periódicamente y consiste en una serie de procesos evolutivos e involutivos del aparato reproductor, que se interrumpe en forma definitiva cuando el animal llega a la vejez. Este tiene características anatómicas, fisiológicas y endocrinológicas, que la hacen diferente al de otras especies. Dicho ciclo da inicio entre los 4 y 18 meses de edad, presentándose una variación por las diferencias de tamaño en las razas, ya que en las pequeñas da inicio más pronto y en las razas grandes es más tardío.



El ciclo en la perra es distinto del de otras especies domésticas en algunos aspectos, como un anestro muy largo (meses frente a días o semanas), proestro y estro largos (de días a semanas frente a horas o días), la vida media del cuerpo lúteo sea independiente de que exista o no la gestación, la producción de oocitos inmaduros y la larga viabilidad de los oocitos y de los espermatozoides en el interior del aparato reproductor de la hembra (Nelson y Couto, 2010).

El ciclo estral está regulado por mecanismos endocrinos y neuroendocrinos; esto es, por hormonas hipotalámicas, gonadotropinas y esteroides secretados por los ovarios; la regulación de la secreción de gonadotropina durante el ciclo estral requiere un delicado equilibrio entre complejas interacciones hormonales (Hafez, 2002).

El factor liberador hipotalámico (GnRH) es de suma importancia en el ciclo estral; a nivel ovario el periodo estral se caracteriza por una elevada secreción de estrógenos a partir de los folículos de Graff preovulatorios, la adenohipofisis secreta hormonas que controlan la reproducción; las gonadotropinas como la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). La FSH y LH actúan en forma sinérgica en el desarrollo y ovulación de los folículos ováricos. La foliculoestimulante tiene gran importancia durante el crecimiento folicular y la LH en la maduración hasta la ovulación (Cunningham y Klein, 2009; Hafez, 2002)

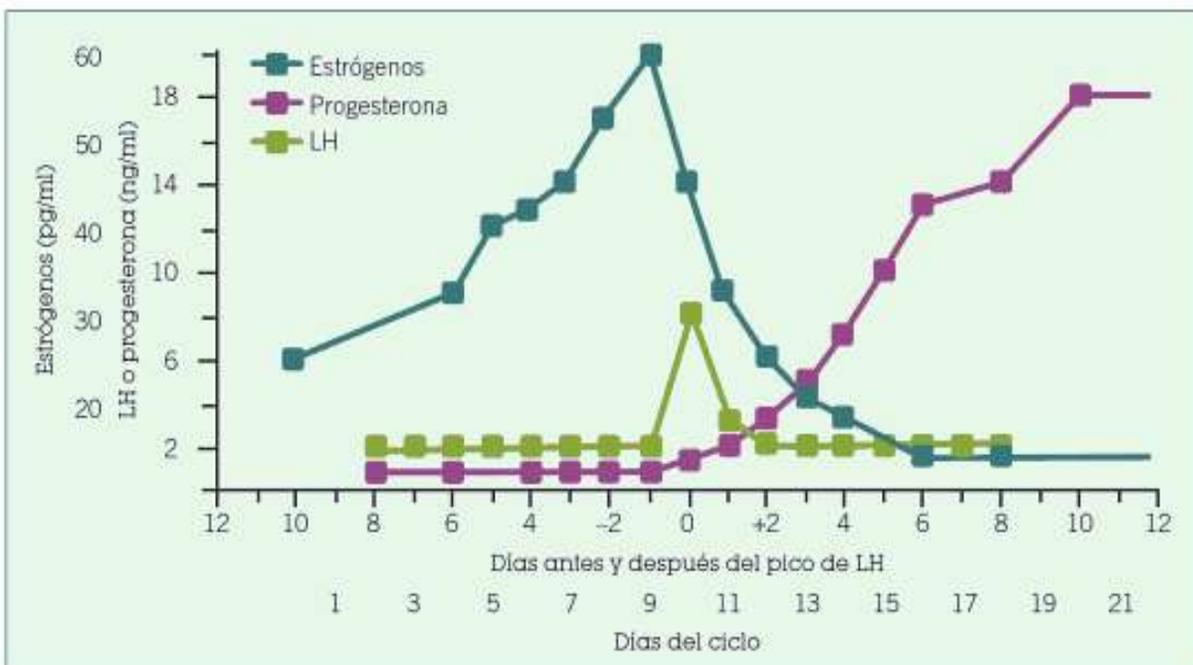
Para Cunningham y Klein (2009), el sistema generador de pulsos para la liberación de gonadotropinas se incrementa en la fase folicular y disminuye en la fase luteínica del ciclo estral. Los estrógenos disminuyen la amplitud del pulso y la progesterona disminuye la frecuencia de secreción de gonadotropinas, lo que significa que durante la fase folicular la frecuencia del pulso aumenta por la ausencia de progesterona, mientras que su amplitud disminuye por la presencia de estrógenos. Esta combinación de aumento de la frecuencia y disminución de la amplitud de los pulsos



es importante en la fase final de crecimiento para la nutrición de la reserva de óvulos en desarrollo.

El ciclo sexual de la perra es monoestral ya que presenta un solo ciclo estral e inicia un periodo de anestro una o dos veces al año, teniendo una ovulación espontanea (Galina,2010). La actividad reproductiva de la hembra es de naturaleza cíclica; cada ciclo se caracteriza por una serie de cambios en el canal reproductivo y el comportamiento psicológico particular de las hembras, estos cambios son consecuencia de las variaciones en la liberación de gonadotropinas por la glándula pituitaria que depende del centro superior del hipotálamo; las gonadotropinas ejercen influencia en los ovarios causando la maduración de los folículos, la ovulación y a formación de cuerpo lúteo (De Alba, 1985).

Figura 2: Niveles hormonales durante el ciclo estral de la perra



(Martí, 2011)



1.4. Características del Ciclo Estral

El ciclo estral de la perra tienen características propias que la hacen diferente al de otras especies. Tienen una etapa lútea por lo tanto progestacional muy prolongada, presentándose independientemente si esta gestante o vacía (Páramo, 2012)

El ciclo sexual se inicia con la fase folicular terminando al presentarse la ovulación. La reacción ovárica a la FSH pone en funcionamiento el mecanismo de feed-back (retroalimentación); los estrógenos segregados en gran cantidad interrumpen la secreción de FSH y reducen también directamente el desarrollo de los folículos de acompañamiento. Pero con la inhibición de la secreción de la FSH se eleva la producción de LH, iniciándose con la luteinización de las células granulosas del folículo y la preparación de la ruptura de este; con la síntesis de esteroides ováricos comienza también la producción de progesterona, que conduce a la secreción de LH y pone en marcha la ovulación. La dehiscencia folicular inician la segunda fase del ciclo, la fase del cuerpo amarillo o luteínica (Sporri y Sunzi, 1977).

1.4.1. Fase folicular o estrogénica

La fase folicular inicia con la regresión del cuerpo lúteo y finaliza con la ovulación. Durante esta fase ocurre la maduración folicular, por lo que el estradiol es la hormona dominante.

El proestro marca el inicio de la fase folicular con la consiguiente liberación de las hormonas gonadotropas, sobre todo de la FSH que dan lugar al crecimiento y desarrollo folicular y por tanto la producción de estrógenos; ya que los folículos terciarios se desarrollan en los ovarios, estos producen estradiol, llevando los niveles



plasmáticos pico de 180-370 nanomol(nmol)/l en el proestro tardío, alrededor del 1-2 días antes del pico de la hormona luteinizante (LH) preovulatorio (Rijinberk, s.f; Galina, 2010).

Esta etapa se continúa con el estro, momento en el que la hembra acepta al macho, y se produce el pico preovulatorio de LH responsable de la ovulación (Sin Autor, 1999).

1.4.2. Fase luteínica o progestacional

Según Galina (2010), Isla y Gutiérrez (2010), la fase lútea es en la cual se forma y tiene mayor funcionalidad el cuerpo amarillo, siendo la progesterona la hormona dominante. Generalmente las perras presentan una fase lútea prolongada con persistencia del cuerpo lúteo durante 70 a 80 días, durante este periodo los niveles de progesterona se mantiene en niveles muy similares a las perras gestantes (27 nanogramos (ng)/ml respectivamente).

Las concentraciones de progesterona que se originan del cuerpo lúteo aumentan en la sangre periférica durante el resto del estro y durante el comienzo del metaestro. De esta manera en la perra el comportamiento estral es observado en el periodo de aumento de las concentraciones de progesterona. Una meseta en el nivel de la progesterona ocurre 10-30 días después del pico de la hormona luteinizante (LH); por lo tanto, si no se presenta una gestación, la concentración de progesterona disminuye lentamente y alcanza un nivel basal de 3(nanomol) nmol/l para la primera vez cerca de los 75 días después del inicio de la fase lútea (Rijinberk, s.f.).



1.5. Etapas del Ciclo Estral

El ciclo estral está dividido en cuatro etapas como es: proestro o periodo de maduración folicular, estro, diestro o fase luteínica y anestro.

1.5.1. Etapa de proestro

Aguirre (2006), Feldman y Nelson (2000), afirman que esta fase también es llamada fase hemorrágica o de secreción. Siendo periodo de actividad folicular aumentada ya que se presenta anterior al estro. El proestro es la fase de predominio de estrógenos en la perra, el estrógeno secretado provoca cambios de conducta, la secreción vaginal, atracción al macho, preparación al útero para la preñez y todos los acontecimientos posteriores al estro.

Duración: Tiene una duración media de 9 días y el rango varia de 3 a 20 días También se puede tomar en cuenta su duración desde que la perra inicia con la hemorragia transvaginal y termina cuando acepta el apareamiento (Feldman y Nelson, 2000; Nelson y Couto, 2010; Páramo, 2012)

Signos clínicos y comportamiento: Las perras durante esta fase se puede observar una típica secreción sanguinolenta o puede no estar presente. Es una metrorragia que pasa a través del cuello del útero y penetra en la vagina. La vulva se agranda lentamente a lo largo del proestro con tumefacción y edema en labios vulvares. Durante esta etapa se encuentran presentes los estrógenos, que son sintetizados y secretados por los folículos ováricos en desarrollo. Estos estrógenos son los que causan los cambios de conducta en la perra, la secreción vaginal, la



atracción de los machos sin aceptación y la preparación del útero para la gestación (Fariña, 2011).

En el transcurso de este periodo, la perra se encuentra inquieta, excitable, desobediente, presenta un elevado consumo de agua y orina frecuentemente. La conducta de proestro temprano incluye un incremento en la actividad de jugueteo provocativa pero con conducta activa ante cualquier intento de monta por parte del macho, esto puede incluir que la perra gruña en forma anti sexual, se aleje, muestre los dientes y muerda. También puede conservar la cola apretada contra el perineo, entre los cuartos traseros cubriendo la vulva, este patrón de conducta inicial cambia de manera gradual conforme progresa el estro (Derivaux, 1982; Feldman y Nelson, 2000).

Durante este periodo se produce la liberación de feromonas de atracción sexual, que se mezclan en la orina permitiendo diseminar de esta manera los olores que atraen al macho, a pesar de que la hembra aún no está receptiva (Sorribas, 2000).

Estructuras ováricas: Se encuentran presentes folículos en crecimiento, teniendo 1.5 a 5mm de diámetro, produciendo distintos estrógenos siendo el más importante el estradiol (Páramo, 2012; Nelson y Couto, 2010).

Características anatómicas: Se presenta un cambio de forma y tamaño de los ovarios, existe un desarrollo de los folículos ováricos, aumenta la irrigación del aparato genital, congestión uterina y desarrollo de las glándulas uterinas (Sorribas, 2000).



Cambios hormonales: Esta primera etapa es de preparación durante la cual el folículo, con su óvulo, aumentan de tamaño principalmente por haber más líquido cargado de estrógenos en su interior. Los estrógenos absorbidos desde los folículos circulantes en la sangre estimulan la creciente vascularización y el crecimiento celular de los genitales, como preparación del estro y la gestación subsecuente (Frandsen, 1995).

Galina (2010), menciona que durante esta etapa ocurre la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, y las concentraciones de progesterona disminuyen y aumenta la producción de estradiol e inhibina siendo que esta última regula e inhibe la secreción de FSH que es secretada por los folículos que iniciaron su desarrollo durante el diestro.

Por lo general las concentraciones de estrógenos circulantes durante el anestro son de 5 a 15 petagramo (pg.)/ml. Justo antes del proestro hay un aumento en la concentración por arriba de 15 pg. /ml, mientras que la progesterona mantiene niveles basales < 1 nanogramo (ng)/ml hasta el aumento en el pico de la LH (2-3 mg/ml). La concentración plasmática máxima de estradiol se alcanza 24 a 48 horas antes de la terminación del proestro (Feldman y Nelson, 2000; Blendinger, 2007). A lo largo del anestro se secreta de modo pulsátil y simultáneo de la FSH y la LH. Los pulsos de la FSH son de menor magnitud, pero con mayor duración que los de LH. Las concentraciones basales de FSH se incrementan a medida que avanza el anestro, mientras que la LH no varía (Nelson y Couto, 2010).

1.5.2. Etapa de estro

Es la etapa de receptibilidad en la que la perra busca al macho permite montarla y aparearse (Feldman y Nelson, 2000; Galina, 2010).



Duración: Según Frandson (1995) y Valera (2008), esta fase tiende a presentarse de 5 a 19 días, aunque la perra solo acepta al macho durante 24 a 96 horas.

Signos clínicos y comportamiento: Los signos más característicos en esta etapa son inquietud, aumento de la locomoción, inapetencia. En la perra es necesario que disminuya las concentraciones de estradiol para que se inicie la conducta sexual (Galina, 2010). El flujo sanguíneo disminuye, siendo reemplazado por una secreción clara de color amarillo pálido. La vulva visiblemente tumefacta y muy húmeda, pero se encuentra menos turgente, permitiendo una penetración fácil del órgano copulador. La ovulación que es espontánea, tiene lugar de 1 a 3 días después de la primera monta (Derivaux, 1982; Nelson y Couto, 2010; Páramo, 2012).

Sorribas,(2000), Nelson y Couto, (2010), Páramo, (2012), describen que el comportamiento de la perra se caracteriza por la aceptación a la monta, esta tiene las patas firmemente para permitir que el macho se suba, la cola esta desviada a un lado y eleva rítmicamente la vulva para posibilitar la penetración.

Estructuras ováricas: Se encuentran los Folículos de Graff que ovulan durante esta etapa. Los folículos preovulatorios llegan a alcanzar de 3 a 8 mm de diámetro (Nelson y Couto, 2010).

Características anatómicas: Se presenta la ruptura del folículo, la ovulación y el desarrollo del cuerpo lúteo. En el útero se produce proliferación endometrial y en la vagina edematización y formación de pliegues profundos (Sorribas, 2000).



Cambios hormonales: Este se define como el periodo de receptividad sexual durante la cual se lleva a cabo la ovulación, siendo inducida por el descenso de las hormona FSH y el aumento de la LH, que causa la ruptura del folículo y el final de esta fase. La perra tiene un celo prolongado ya que este se divide: en el celo que tienen una duración de 6 a 10 días, otra de preparación que dura de 4 a 6 días y la ovulación siendo espontánea, teniendo lugar de 1 a 3 días después de la captación (Urroz, s.f.; Derivaux, 1982).

Las células foliculares ováricas empiezan a producir progesterona en cantidad mayor a la requerida para servir como precursora de la síntesis de estrógenos en los días que siguen al inicio del proestro. Junto con las cifras declinantes de estrógenos en etapas más avanzadas del proestro inmediatamente antes del inicio del estro, las células foliculares adicionales se luteinizan y secretan cantidades significativas de progesterona. La concentración de progesterona en plasma aumenta 72 a 96 horas antes de la ovulación. Esta progesterona es sintetizada por las células luteinizadas dentro del ovario (células de la teca interna y granulosa) ya que los folículos en desarrollo alcanzan su madurez y tamaño preovulatorio induciéndose las concentraciones máximas de estradiol; durante este periodo, se ejerce una retroalimentación positiva entre en estradiol y la LH, de modo que se produce el pico preovulatorio de LH que contribuye a la presentación de la ovulación, posteriormente la formación del Cuerpo Lúteo (CL) y la secreción de progesterona por parte del ovario. Esta suele completarse en 24 horas. Los oocitos primarios salen del ovario y sufren la meiosis durante su transporte en los oviductos. De 2 a 3 días después de la ovulación los oocitos han madurado y puede producirse la fertilización. Estos oocitos tienen una vida fértil de 2 a 4 días (Nelson y Couto, 2010; Esquivel, s.f; Feldman y Nelson, 2000; Galina, 2010).

La concentración de progesterona sérica continúa en aumento durante el estro ya que durante el pico de la LH están entre 0.8 y 3 ng. /ml, en el momento de la



ovulación entre 4 y 10 ng. /ml y entre 4 y 20 ng. /ml durante el periodo fértil y luego durante varias semanas en el diestro. La concentración sérica de estradiol que alcanza cifras de 70 pg. /ml y mayores uno a tres días antes del inicio del estro, decrece de manera progresiva. No obstante, el estro termina cuando la concentración sérica de estrógenos disminuye por debajo de cifras basales de 15pg/ml (Feldman y Nelson, 2000; Martí, 2011)

1.5.3. Etapa de diestro

Es la fase de predominio de la progesterona y fisiológicamente se presenta después del estro. Se inicia con el cese del celo constante y termina cuando la concentración de progesterona retorna a cifras basales menor de 1.0 ng/ml (Feldman y Nelson, 2000; Martí, 2011).

Duración: Martí (2011) y Páramo, (2012), mencionan que el cuerpo lúteo permanece produciendo progesterona durante 63 ± 5 días desde el pico de la LH en perras gestantes y de 70 a 80 días en perras vacías. Aunque la Federación Canófila Mexicana (2013), cita que puede durar hasta 100 días en perras no gestantes.

Signos clínicos y comportamiento: En este periodo la perra ya no se encuentra receptiva, rechaza al macho, ya no los atrae, la vulva retorna a su tamaño normal y ya no es flácida (Feldman y Nelson, 2000).

Si la perra ha sido cubierta, en esta fase se presenta la nidación del embrión, la gestación y la lactación. Si no fue cargada, en ocasiones se puede presentar una pseudogestación (Valera, 2008).



Estructuras ováricas: Páramo (2012), cita que en esta etapa se encuentra presente el inicio el cuerpo lúteo y posteriormente un cuerpo albicans.

Características anatómicas: Para Sorribas (2000) y Aguirre (2006), las principales características que se producen en esta etapa son: la lisis del cuerpo lúteo secretor de la progesterona. Existiendo secreción, restauración, descamación del endometrio, la mucosa vaginal se encuentra rosada y con pliegues poco profundos; durante esta etapa la mucosa uterina esta lista para recibir a él ovulo fecundado y formar la placenta, si existe la concepción el organismo de la perra se prepara para la anidación del ovulo, presentándose el periodo de gestación.

Cambios hormonales: En esta etapa termina la receptividad sexual de la hembra, concluyendo con la presencia de un cuerpo lúteo funcional bien establecido. Dividiéndose en dos etapas progresiva y regresiva. Esta división se basa en el aspecto histológico del útero, pero con estas dos etapas pueden relacionarse directamente con la función lútea. La etapa progresiva se refiere a el desarrollo lúteo tras el estro y la etapa regresiva desde el inicio de la regresión hasta que el útero retorna al estado propio del anestro (INTERVET, 2007; Galina, 2010).

Según Bearden (1982) y Nelson y Couto, (2010), el diestro representa la fase luteínica del ciclo. La concentración sérica de progesterona aumenta rápidamente durante las primeras dos semanas después de la ovulación y alcanza un pico de 15 a 80 ng. /ml entre 15 y 30 días tras la ovulación, donde las concentraciones de FSH, LH y estrógenos totales permanecen bajos. Al final del diestro, la prostaglandina (PGF2 α) uterina provoca la regresión del cuerpo lúteo, junto con una disminución en las concentraciones sanguíneas de progesterona. Mientras que Galina (2010), cita que se presenta una transición entre la predominancia estrogénica y el incremento en las concentraciones de progesterona. El estradiol y la inhibina disminuyen



súbitamente después de la ovulación, permitiéndose incremento en las concentraciones de la FSH que causan el reclutamiento de la primera oleada folicular.

Blendinger (2007), hace mención que los niveles de prolactina aumentan de manera recíproca a la disminución de la progesterona en perras gestantes o en etapa de diestro, y a causa de la elevación de la prolactina tienen una respuesta los tejidos ductales y las glándulas mamarias.

Esta fase se presenta posterior a la ovulación caracterizando por el desarrollo del cuerpo lúteo o amarillo en el ovario, que inicia la producción de progesterona, al aumentarse los niveles en sangre y disminuir los niveles de estrógenos, se evita la proliferación de nuevos folículos dado que no se presente un nuevo ciclo (Urroz, s.f.).

1.5.4. Etapa de anestro

Es el periodo sin actividad sexual ni conducta reproductiva o anestro estacional, en esta etapa el útero involuciona, ya que inicia después del parto y termina al dar inicio el proestro. Durante este periodo existe un predominio de la progesterona que es secretada por el cuerpo lúteo; por lo tanto, el aparato reproductor durante el anestro se observa la preparación para el inicio del siguiente ciclo (Urroz, s.f.; Martí, 2011; Feldman y Nelson, 2000).

Duración: Nelson, Couto (2010) y Fariña (2011), mencionan que esta fase es muy variable, teniendo un promedio de 3.5 a 4.5 meses aproximadamente. Mientras que para Paramo, (2012) y Galina (2010), puede haber una prolongación de hasta 10 meses, siendo esta la etapa más larga del ciclo en esta especie.



Signos clínicos y comportamiento: Feldman y Nelson (2000), Sorribas (2000) y Páramo (2012), afirman que las perras no presentan ningún signo ya que la vulva se encuentra de tamaño normal, no presenta secreciones y no atrae al macho. También afirman que en esta etapa no tienen ninguna alteración en su comportamiento ya que se encuentran tranquilas.

Estructuras ováricas: Se encuentran presentes cuerpos blancos o albicans, siendo los remanentes del cuerpo lúteo y los folículos terciarios se encuentran en desarrollo (Páramo, 2012; Federación Canófila Mexicana, 2013)

Características anatómicas: Durante este periodo se presenta un crecimiento folicular lento sobre el final de este periodo. El útero, vagina y vulva no presentan ningún cambio (Sorribas, 2000).

Cambios hormonales: En esta etapa se presenta una secreción pulsátil de LH y FSH, la progesterona regresa a sus estados basales ≤ 0.5 ng. /ml, al término de esta etapa las tres hormonas aumentan sus niveles (Federación Canófila Mexicana, 2013; Ochoa y Torres, 2012).

1.6. Citología Vaginal Exfoliativa (CVE)

La citología vaginal Exfoliativa (CVE) consiste en analizar las modificaciones que sufre el epitelio vaginal por influencia de los estrógenos producidos en el ovario, depositando queratina en las capas superficiales del epitelio vaginal (Máspero, 2013).



La Asociación Canófila Mexicana (2013), Prats (2001) y Valera (2008), mencionan que la citología vaginal es una técnica económica y con una realización simple, siendo utilizada para la detección de estros, determinar el momento exacto y realizar la monta o la inseminación artificial. También es una herramienta importante para el diagnóstico de alteraciones en el ciclo, patología uterina y vaginal. Esta técnica consiste en estudiar la células que se encuentran en la vagina y así determinar la etapa del ciclo estral que se encuentra cursando la perra.

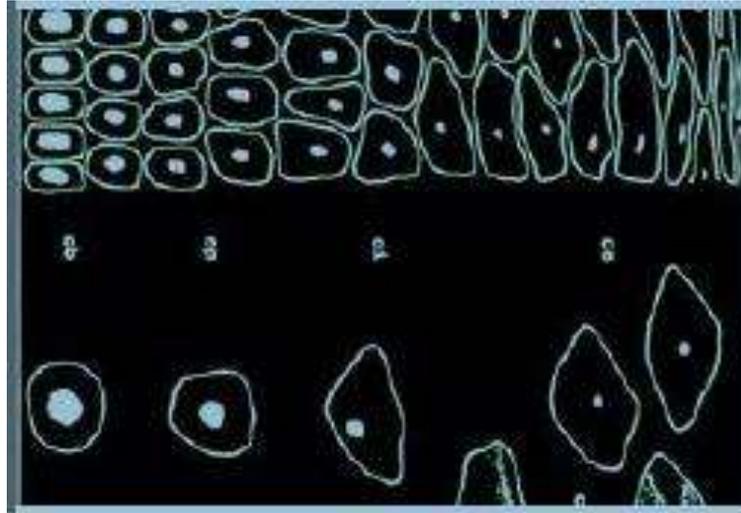
El objetivo de la citología vaginal exfoliativa es determinar el tipo y cantidad de células que se presentan en las diferentes etapas del ciclo estral, ya que los cambios hormonales que sufre la mucosa vaginal se refleja en la morfología de las células epiteliales. Al inicio del celo, la célula epitelial se encuentra en contacto con la irrigación sanguínea. Al incrementar los niveles de estrógenos, el epitelio vaginal se va engrosando ocasionando que la célula se separe del aporte sanguíneo resultando una transformación celular que va de célula parabasal a anucleada o escamosa (Universidad del Litoral, 2013).

1.6.1. Características de las células epiteliales

Prats (2001), menciona que estas células son provenientes de la descamación continuada y cíclica del epitelio pavimentoso que recubre las paredes vaginales. Esta renovación está ligada a los cambios hormonales especialmente, y casi exclusivamente, a los de los niveles de estrógenos sanguíneos. Dentro de estas células se consideran cuatro tipos: *basales*, *parabasales*, *intermedias*, *superficiales nucleadas* y *superficiales anucleadas*.



Figura 3. Esquema de la distribución de los distintos tipos de células en el epitelio vaginal.



(Prats, 2001)

1.6.1.1. Células basales

Sáldate (2000), Prats (2001) y Escobedo (2008), dan a conocer y describen que estas células se elevan a todos los tipos de células epiteliales de la vagina, se encuentran sobre la membrana basal, no se exfolian, mientras tanto rara vez se pueden observar en un frotis. Son células pequeñas, redondeadas y regulares, con escaso citoplasma, núcleo esférico y en ocasiones se encuentran agrupadas como racimos.

1.6.1.2. Células parabasales

Son células redondas o ligeramente ovaladas, presentan un núcleo grande bien definido y poca cantidad de citoplasma. Esta célula se desprende de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos y predomina en el anestro y proestro (Escobedo, 2008; Federación Canófila Mexicana, 2013).



Figura 4. Célula parabasal



(Mosolino, De Oliveira y Montel, 2001)

1.6.1.3. Células intermedias

Estas células varían en tamaño pudiendo ser clasificadas en células intermedias pequeñas y grandes, tienen núcleo todavía redondo o levemente ovalado aproximadamente del tamaño de las parabasales, moderadamente picnótico este término se utiliza cuando se reduce el volumen del núcleo ya que se condensa la cromatina, su estructura es más irregular con bordes aun sin angulaciones. Estas varían de tamaño pero suelen ser dos veces más grandes que las células parabasales (Prats, 2001; Escobedo, 2008; Islas y Gutiérrez, 2010).



Figura 5. Ejemplo de las células intermedias.



(Mosolino De Oliveira y Montel, 2001)

1.6.1.4. Células superficiales nucleadas

Para Prats (2001) y la Federación Canófila Mexicana (2013), son células epiteliales más grandes e irregulares con bordes angulados, el núcleo es pequeño sombreado, ovalado, central y picnótico, esto es característica final del proestro y todo el estro.

Figura 6. Ejemplo de las células superficiales nucleadas.



(Mosolino De Oliveira y Montel, 2001)



1.6.1.5. Células superficiales anucleadas o escama

Son células sin núcleo, tamaño grande de bordes angulosos e irregulares que predominan en el estro y marca el final del proceso de descamación de la célula parabasal (Federación Canófila Mexicana, 2013).

Figura 7. Ejemplo de las células superficiales anucleadas



(Mosolino De Oliveira y Montel, 2001)

1.7. Técnica de la CVE

1.7.1. Toma de muestra

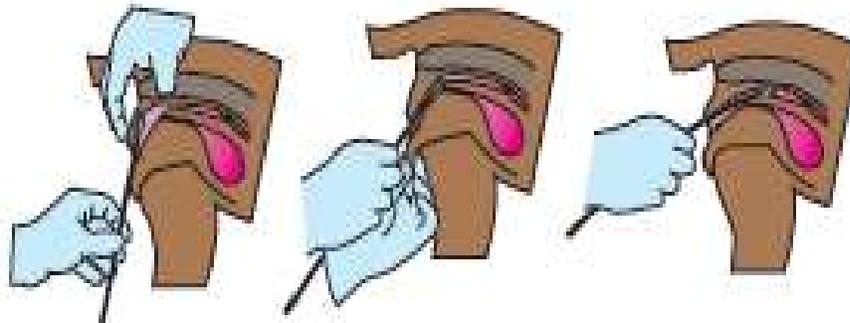
El material utilizado para realizar la CVE son guantes, torundas de algodón, hisopo estéril, laminillas, tinción y microscopio (Federación Canófila Mexicana, 2013).

Dumon (1989), Concannon y England (2003), Nelson y Couto (2010), Sin autor, (2013) y Federación Canófila Mexicana (2013), explican que para tomar la muestra se puede realizar de dos formas una con lavados y aspirados de pequeños



volúmenes de sueros instilados en la vagina o con hisopos húmedos. Se coloca a la hembra en cuadripedestación, se deben limpiar los labios vulvares con la torunda húmeda ya que se introduce un hisopo estéril de aproximadamente 15 cm, húmedo con agua destilada o solución salina, se expone la vulva con el dedo índice y se separan los labios con los dedos pulgar y medio, se introduce el hisopo estéril en la comisura dorsal en una posición vertical de 90° dirigiéndose dorso caudalmente para evitar la fosa del clítoris y la uretra; cuando se siente un tope, se dirige el hisopo hacia la parte craneal, de manera horizontal hasta llegar a la unión vestíbulo vaginal, se avanza hasta llegar a la parte caudal de la vagina, en la cual se realizan movimientos circulares de la muñeca y así colectar el material celular.

Figura 8. Técnica para toma de muestra de la CVE



(Universidad del Litoral, 2013)

1.7.2. Extensión

Se realiza rotando el hisopo sobre la laminilla solo una vez teniendo espacio en la laminilla para realizar tres impresiones lineales separadas, no se debe frotar ya que se alteran las células. La extensión de la muestra debe realizarse inmediatamente después de obtenerla. Por lo general se preparan dos laminillas mediante uno o dos aplicadores (Feldman y Nelson, 2000; Dumon, 1989).



Figura 9 Técnica de extensión de la muestra



www.redevet.com.br/artigos/cicloest.htm

1.7.3. Fijación y tinción

La laminilla con la muestra se introduce en alcohol éter o alcohol al 95% durante 5 o 10 minutos para fijarla dependiendo si se tiñe inmediatamente o se realiza posteriormente. Para teñir se utiliza diversas tinciones como son, el nuevo azul de metileno, Wright-Giemsa o tinción de Harris Schorr (Dumon, 1989; Federación Canófila Mexicana, 2013).

1.7.3.1. Tinción nuevo azul de metileno

Escobedo (2008), explica que para realizar esta tinción, se coloca una pequeña gota de la solución colorante sobre un cubreobjetos, se monta sobre el preparado y ya está listo para su observación. La aplicación del nuevo azul de metileno, permite la observación inmediata del material, lo que hace que esta tinción sea muy útil para su uso rutinario; si bien no colorea los eritrocitos el resto de los elementos celulares y las bacterias pueden visualizarse satisfactoriamente. Con esta tinción los preparados se decoloran al cabo de unas pocas horas, por lo que es aconsejable reservar uno o



dos extendidos para su posterior procesamiento con otra tinción en los casos de particular interés.

1.7.3.2. Tinción de Wright-Giemsa

La preparación debe ser sacada al aire, fijarse con espray o con metanol durante 5 segundos, luego se tiñe utilizando el método comercial de tinción modificada de wright-giemsa. Ya teniendo la extensión, fija e identificada la laminilla se sumerge en solución eosina amarillenta durante 10 a 15 segundos, se lava con agua destilada con un pH de 7.2, sacudiendo para eliminar excedentes, se sumerge por 10 a 15 seg en solución azul de metileno, se lava de nuevo con agua destilada y se deja secar para posteriormente ver al microscopio (Sáldate, 2000).

1.7.3.3. Tinción de Harris-Schorr

En el cuadro 1, se explica la tinción de Harris-Schorr, después de sacar la laminilla del fijador y tiñéndola inmediatamente y posterior observarla en el microscopio.

Cuadro 1. Tinción de Harris-Schorr

Alcohol de 70	Sumergir 10 veces
Alcohol de 50°:	Sumergir 10 veces
Agua destilada:	Sumergir 10 veces
Hematoxilina de Harris	2 minutos
Agua destilada	Un pase
Agua destilada	Un pase
Alcohol amoniacoal:	1 minuto
Agua destilada:	Un pase
Alcohol de 70°:	Un pase
Alcohol de 95°:	Un pase
Colorante de Schorr:	2 minutos
Alcohol de 95°:	Un pase
Alcohol de 100°:	Un pase

(Dumon, 1989)



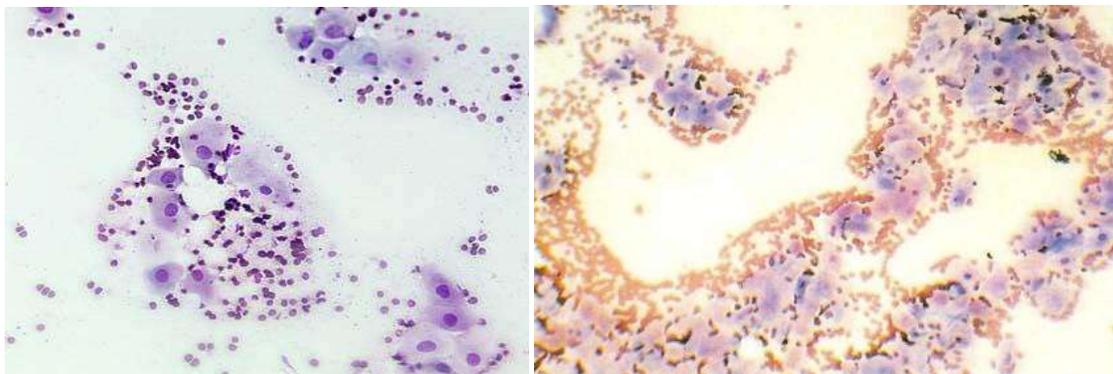
1.7.4. Interpretación

Según la Universidad del Litoral (2013), la interpretación de estas citologías vaginales se hace de acuerdo al predominio de los distintos tipos celulares, los cuales son orientativos de los diferentes momentos del ciclo estral. No obstante es imprescindible hacer un seguimiento de la evolución del cuadro celular a través del ciclo estral, ya que un preparado aislado podría resultar compatible con distintos momentos del ciclo.

1.7.4.1. *Células presentes durante el proestro*

Para Escobedo (2008), Nelson y Couto, (2010), Martí, (2011), un frotis obtenido a principios y a mitad del proestro se caracteriza por la presencia de neutrófilos, abundantes glóbulos rojos, células parabasales, intermedias y eritrocitos. A medida que el proestro avanza, van madurando gradualmente, a medida que las células superficiales y escamosas aumentan y desaparecen las parabasales e intermedias con las que se inicia.

Figura 10. Citología vaginal al inicio (izquierda) y final (derecha) del proestro.



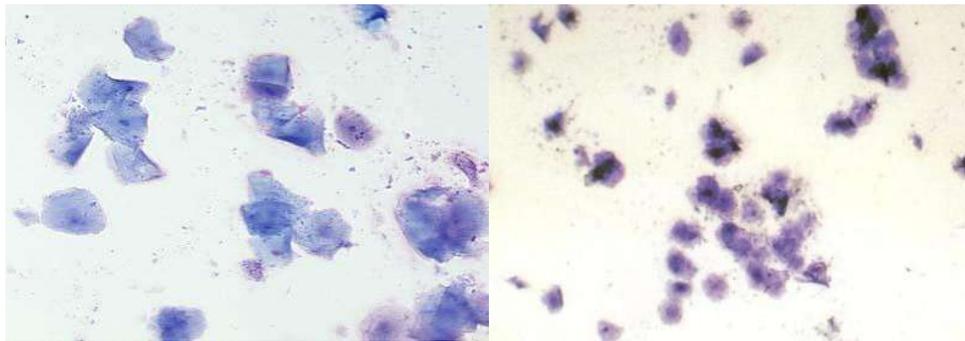
(Federación Canófila Mexicana, 2013).



1.7.4.2. Células presentes durante el estro

Se caracteriza por una disminución marcada en el número de los eritrocitos encontrados, aunque en algunas perras pueden observarse glóbulos rojos durante todo el estro y aún a principios del diestro, se encuentran presentes células superficiales y superficiales anucleadas. Las escamas varían de un 80 a 100%. No debe haber presencia de neutrófilos, aunque en la mayoría de los casos pueden encontrarse un día antes de iniciar el diestro. El fondo del frotis de una perra en estro es limpio y libre de detritus celulares (Escobedo, 2008; Federación Canófila Mexicana, 2013; Islas y Gutiérrez, 2010).

Figura 11. Las células epiteliales sin núcleo, con presencia de algunas células con núcleo picnótico.



(Federación Canófila Mexicana, 2013 y Crainza Cania, 2013)

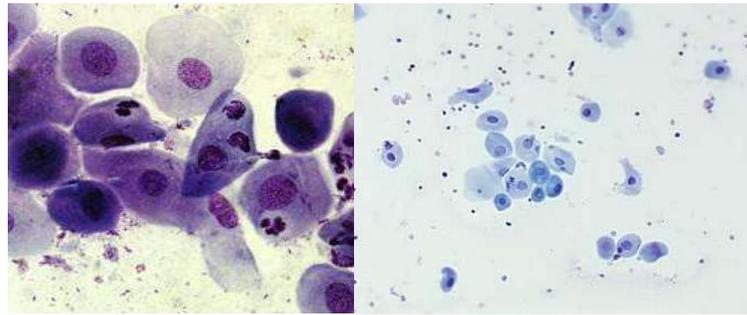
1.7.4.3. Células presentes durante el diestro

En esta etapa el frotis vaginal muestra el 50% de células intermedias y parabasales (ver figura 12). Una de las características de las células en el diestro temprano es la presencia de neutrófilos con citoplasma, los neutrófilos son encontrados en los frotis mientras que los eritrocitos se encuentran ausentes, mientras el diestro avanza el



número de células epiteliales encontradas en los frotis disminuyen (Federación Canófila Mexicana, 2013).

Figura 12. Células epiteliales parabasales e intermedias.



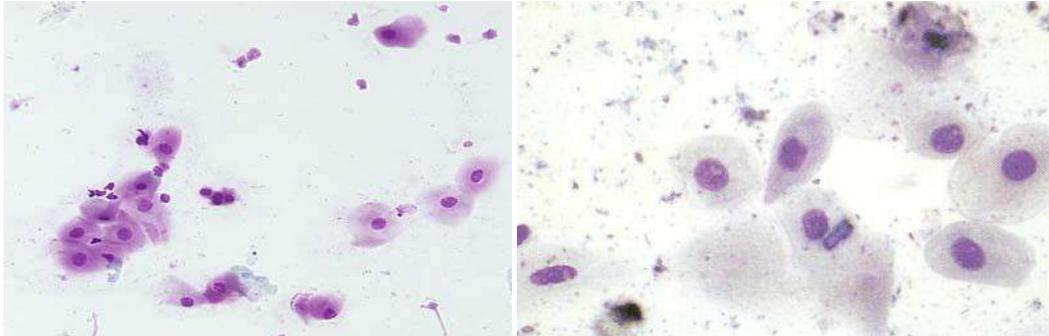
(Las células presentan bordes más redondeados, núcleo visible, presencia de eritrocitos y células epiteliales con neutrófilos en su interior) (Universidad del Litoral y Federación Canofila Mexicana, 2013).

1.7.4.4. Células presentes durante el anestro

Escobedo (2008), Universidad del Litoral (2013) y Federación Canófila Mexicana (2013), describen que durante el anestro aparecen células epiteliales redondas, con núcleos activos y mucho citoplasma. Se observan principalmente células parabasales e intermedias pequeñas, pocas superficiales y anucleadas. Pueden hallarse algunos neutrófilos, presencia o no verse bacterias y la apariencia del fondo puede ser claro o sucio, ya que se observa moco y núcleos sueltos como se observa en la figura 13.



Figura 13. Frotis de epitelio vaginal en etapa de anestro, donde las células parabasales muestran un núcleo grande.



. (Islas y Gutiérrez, 2010)

1.8. Alteraciones y Variaciones del Ciclo Estral

En el ciclo estral de la perra existen diversas alteraciones. Una de las muy frecuentes es el cuerpo lúteo permanente, ya que la prolongación del funcionalismo del cuerpo lúteo se presenta cuando después de la gestación no se anula por completo. Entonces, la iniciación del ciclo siguiente se interrumpe por el efecto inhibitor desarrollado sobre los factores de maduración folicular (Sporri y Sunzi, 1977).

También se presentan unas series de variaciones que se producen en el curso del ciclo ovárico, pueden presentarse en las fases de maduración folicular y en la luteínica (Birchard y Sherding, 1996).

1.8.1. Prolongación del estro y anestro

Sorribas (2000), Feldman y Nelson (2000), mencionan que este problema puede ser desarrollado por la presencia de quistes foliculares siendo estos los que sintetizan y



secretan estrógenos; una perra con estos quistes, presenta un estro y anestro prolongado, las fallas ovulatorias producen la formación de estos quistes que continúan produciendo estrógenos, lo cual prolonga el estro con manifestaciones características del periodo. La primera evidencia de que una perra tienen dichos quistes, es su conducta y una secreción vaginal sanguinolenta persistente (signos de estro).

En el Manual Merk veterinario, se define que los quistes foliculares son estructuras llenas de líquido y se desarrollan dentro de los ovarios, estos conducen a una prolongación en la producción de estrógenos, que conlleva a los signos continuos de proestro o estro y atracción hacia los machos. Durante este ciclo anormal del estro puede que no se produzca la ovulación.

Esta alteración es un proceso patológico caracterizado por la persistencia del folículo, permaneciendo el ciclo en la etapa de proestro o de estro. Esta prolongación dependiendo de la gravedad se puede clasificar en tipo A, B y C.

Las prolongaciones tipo A y B, se presenta por la falta de luteinización que es conducida a la prolongación del folículo. Los órganos genitales efectores reaccionan al dominio estrogénico continuo de la forma siguiente: alteración tisular primero edematosa y más tarde con endurecimiento, aumento de la secreción holocrina (proveniente de las células que se desintegran y secretan su contenido) y se presenta una tendencia a la corrosión de la mucosa con hemorragia capilar. En el tipo C no se produce el paso total a la fase del cuerpo lúteo, a pesar de la ovulación o de la atresia de algunos folículos. El nivel insuficiente de progesterona permite la maduración de otros. La acción hormonal resultante, con predominio de la estinemia posiblemente sea la presencia de estrógenos en la sangre, impide el



restablecimiento del ciclo normal y determina la variada sintomatología de este tipo de prolongación (Christoph, 1981).

El anestro persistente o el aumento del intervalo entre estros es el signo más común asociado a quistes foliculares y luteinizados, estos últimos se desarrolla a partir de un folículo que no ovula, continua su maduración y presenta luteinización en toda la superficie interna. El tejido luteinizado de la pared del quiste produce progéstágeno, por lo que la signología clínica es de anestro persistente. Los quistes luteinizados prolongan el anestro debido a que causan secreciones persistentes de progesterona. Estos anestros se pueden clasificar en dos grupos: *anestro primario* que es cuando la hembra con 24 meses de edad o más nunca han presentado su ciclo y el *anestro secundario* que se aplica a las hembras que con anterioridad han presentado su ciclo y que por diversas razones cesa su ciclicidad (Tavera, 1998; Nelson y Couto, 2010)

1.8.2. Estro silencioso

Feldman y Nelson (2000) y Centro veterinario Los Olivos (2012), explican que este ciclo pasa inadvertido ya que la perra sufre una escasa tumefacción vulvar y poca o ninguna pérdida sanguinolenta, se mantienen limpia así misma o no están en contacto con perros machos, y no presentan ninguna manifestación de estro. Esta alteración no tienen una causa clara, solo se sabe que esta problema es hereditario.

1.8.3. Estro dividido

Estos celos suelen presentarse en perras jóvenes y se caracteriza por un periodo de secreción y atracción del macho sin llegar a la monta, para posterior a esto pasar a una etapa de anestro y en unas semanas posteriores presentar nuevos indicios de



estro. Esta anomalía ocurre cuando el desarrollo folicular es seguido por regresión folicular en lugar de llegar a la ovulación, lo cual produce signos clínicos de proestro que no van seguidos de estró (Ettinger, 1998; Birchard y Sherding, 1996).

Las perras con este problema presentan hemorragia vaginal proestral y edema vulvar que atrae a los machos. Puede o no mostrar celo constante antes de llegar al diestro aparente; Sin embargo, estas perras vuelven a iniciar el proestro 2 a 10 semanas después, lo que puede repetirse varias veces, la causa está vinculada con el desarrollo folicular y secreción de estrógenos, en cambio, no ocurre la ovulación y los folículos sufren atresia; se desarrolla entonces un nuevo grupo de folículos, que vuelven a exponer a la perra a incremento en la concentración de estrógenos circulantes y signos de otro estró. Una vez que los folículos maduran por completo y se presenta la ovulación el celo es fecundo (Feldman y Nelson, 2000).

1.9. Reproducción

En la reproducción existe una serie de fases, que son similares en todas las especies domésticas, como es la transmisión de estímulos, identificación del estró, cortejo y copula. El cortejo tienen como función la colaboración mutua entre macho y hembra a coordinar las posturas corporales que llevan al coito, el macho realiza un examen de la receptividad de la hembra (Sin Autor, 2013).

Debido a la importancia de la dominancia territorial y social en la reproducción de los perros, las prácticas habituales es llevar a la perra con macho para la monta. Una práctica frecuente consiste en comenzar las montas en día predeterminado del ciclo y cruzar a los animales cada 48 horas mientras dure el comportamiento de estró o al menos hacer dos encuentros. A menudo se elige para comenzar del día 10 al 12

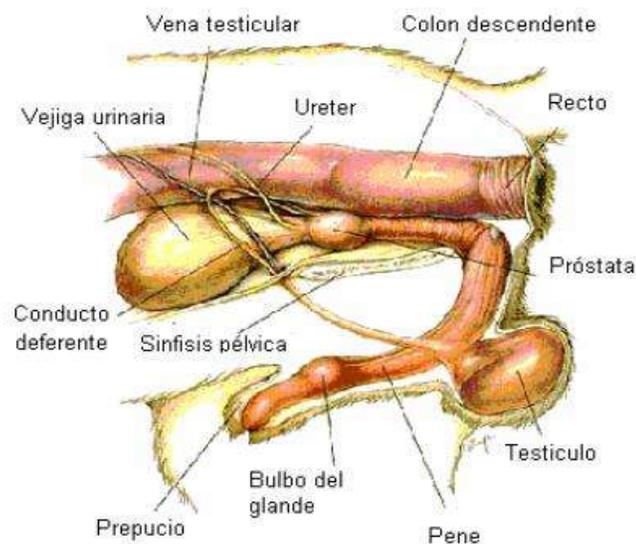


después del comienzo del proestro. Debido a que la duración media del proestro es de 9 días, las perras con un ciclo medio pueden estar en ese momento en estro. Como el pico de la LH normalmente suele ser muy próximo a la aparición del comportamiento del estro, la ovulación se produce normalmente 2 días después de la oleada, los óvulos pueden ser fertilizados 2 días después y el semen fresco eyaculado es capaz de fertilizar durante 4 días. De acuerdo con datos obtenidos en programas de inseminación artificial, dos inseminaciones durante el periodo fértil aumenta el porcentaje de concepción y tamaño de la camada (Nelson y Couto, 2010).

1.10. Anatomía del Aparato Reproductor del Perro

En aparato reproductor del perro está compuesto por el prepucio, pene, testículos, epidídimo, conducto deferente, cordón espermático, próstata y uretra.

Figura 14. Anatomía del aparato reproductor del macho.



(Martínez, 2006)



1.10.1. Prepucio

Este se caracteriza por que segrega un líquido viscoso de color verde que se denomina esmegma y sirve para lubricar el pene, también recubre completamente el pene no erecto, externamente aparece recubierto por piel, en su cara interna presenta una mucosa que se continua con la mucosa del pene y del glande (Allen, 1993; Ochoa y Torres, 2012)

1.10.2. Pene

El pene es el órgano que permite la penetración y el abotonamiento durante la copula. En estado de flacidez se encuentra totalmente en el prepucio, posee un tejido eréctil, el cavernoso y esponjoso que rodea la uretra y que garantizan la erección, ya que el interior presenta un hueso llamado hueso peneano, que también ayuda en la penetración. Tiene cuatro porciones bien definidas: la raíz, cuerpo, ampolla y glande del pene, que este último a su vez se subdivide en bulbo peneano, porción larga del pene y hueso peneano (Ochoa y Torres, 2012).

1.10.3. Escroto

Frandsen (1995), menciona que es un saco cutáneo que en tamaño, forma y situación se adapta a los testículos. Su piel es fina, plegable y casi sin pelo; inmediatamente por debajo de la capa externa cutánea se encuentra la túnica dartos, que es de tejido fibroelástico; en tiempo frío se contraen las fibras musculares, sirviendo para que el testículo este contiguo en la pared abdominal y así regular la temperatura.



1.10.4. Testículos

Los testículos varían en cierto modo respecto a tamaño y forma. Cada uno de los testículos consta de una masa de tubos seminíferos, rodeados de una capsula llamada túnica albugínea, estos atraviesan el canal inguinal cuatro días después del nacimiento, alcanzando su ubicación en el escroto en 35 días aproximadamente; su forma es ovoide, el eje mayor del testículo contiene los túbulos seminíferos, en los que se forman los espermatozoides. Los túbulos seminíferos vierten a un sistema colector, la rete testis, que conduce a los espermatozoides hacia el exterior del testículo al epidídimo (Allen, 1993;Frandsen, 1995).

1.10.5. Epidídimo

Es un conducto muy largo estrechamente enrollado sobre sí mismo para formar una estructura que puede describirse como cabeza, cuerpo y cola. Los espermatozoides maduran durante 14 días en su paso a través del epidídimo. La cabeza está situada en la superficie dorso lateral del testículo y se dificulta su palpación. El cuerpo del epidídimo se encuentra sobre la superficie dorso lateral del testículo y no puede ser palpado. La cola se sitúa sobre el polo dorso caudal del testículo, puede palparse con facilidad. En el epidídimo (formado por los conductos eferentes) que contiene espermatozoides en maduración se continua formando un tubo recto llamado conducto deferente (Allen, 1993).

1.10.6. Conducto deferente

Allen (1993) y Frandsen (1995), citan que es un tubo muscular, que en el momento de la eyaculación, impulsa los espermatozoides hacia el conducto eyaculador de la uretra prostática. Los conductos deferentes tienen un diámetro de 1mm



aproximadamente y son rígidos, salen de la cola del epidídimo, atraviesa el conducto inguinal como parte del cordón espermático y el anillo inguinal interno se dirige en dirección caudal.

1.10.7. Cordón espermático

Es un conjunto de varios tejidos que va entre el testículo y la pared abdominal, tienen cuatro componentes principales: 1) el conducto deferente, 2) el músculo cremáster: este puede modificar la distancia entre el testículo y la pared abdominal, regulando la temperatura del testículo. 3) la arteria espermática: es la que transporta la sangre desde la aorta al testículo y va a través del plexo pampiniforme, 4) la vena espermática: esta transporta sangre desde el testículo hasta la vena cava; en el cordón espermático la vena se divide en el complejo pampiniforme (pequeñas venas) que rodea la arteria espermática. El dartos, también puede regular la proximidad del testículo a la pared abdominal. La rama genital del nervio genitofemoral que inerva el músculo cremáster, el testicular y el epididimario. (Allen, 1993).

1.10.8. Próstata

Allen (1993), define que es la glándula accesoria en el perro, la cual tiene una estructura bilobulada en la entrada de la pelvis; la uretra atraviesa la glándula antes de llegar a la base del pene. Esta glándula produce una secreción transparente que es expulsada al interior de la uretra; esta secreción es la primera y la tercera de las fracciones del eyaculado



1.10.9. Uretra

Allen (1993), describe que este conducto es quien transporta tanto la orina como el semen hasta el extremo del pene. Inicia en el cuello de la vejiga y va caudalmente sobre el suelo de la pelvis atravesando la próstata.

1.11. Monta Directa

Valera (2008), hace mención que antes de llevarse a un perro a que lleve a cabo la monta es necesario realizar un examen clínico tanto al macho como a la hembra. En el macho se evalúa la anatomía del pene, prepucio, testículos y escroto, mientras que en la hembra su estado físico, peso y conformación de la vulva.

Para que se lleve a cabo una monta es necesario que se inicie con el cortejo. El macho olfatea el hocico, orejas, cuello, flancos y área vulvar de la hembra, tomando esta la misma conducta si se encuentra en estro, de lo contrario su comportamiento será que rechace al macho, la hembra pueda que se siente, le gruña e incluso puede llagar a morderlo (Valera, 2008; Ochoa y Torres, 2012).

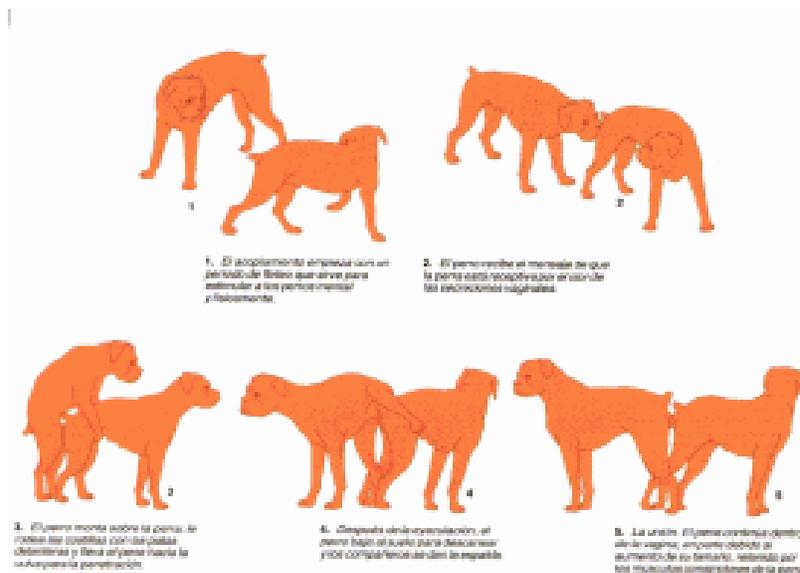
Posterior al cortejo, si la hembra acepta al macho se realiza la copula que implica una secuencia de elementos como es la, erección, monta, intromisión (introducción del pene en la vagina), empujón eyaculatorio (fuerza ejercida para insertar el pene lo más dentro posible de la vagina antes de la eyaculación) y la desmonta (Sin Autor, 2013).



Valera (2008), Ochoa y Torres (2012), explican que el macho inicia su estimulación con el olor de las feromonas que desprende la perra producidas por la vagina y las glándulas anales. Se inicia la erección del pene y el macho monta a la perra siendo esta al inicio por la parte de atrás, ejerce presión con sus patas delanteras sobre el flanco de la hembra e inicia una serie de sacudidas pélvicas, introduciendo el pene en la vagina, llevándose a cabo la intromisión con movimientos rítmicos, al completarse la penetración la cola se dirige hacia abajo y la presión sobre el flanco aumenta. A continuación el perro realiza el volteo completando la erección, la compresión venosa del pene produce la expansión del glande y el eyaculado de la segunda fracción que es rica en espermatozoides.

Después el perro se desmonta, quedando unido a la perra en sentidos opuestos ya que se encuentran en bloqueo genital y en esta fase se da la tercera fracción que es clara y pobre en espermatozoides. Los perros pueden estar en esta posición durante 20 a 60 minutos hasta que el glande se relaja para que se puedan separar (Valera, 2008).

Figura 15. Comportamiento durante la monta



(Ardisana, 2012)



1.12. Fertilidad

La fertilidad en el macho va a depender de la edad y la calidad del semen que presente. Se menciona que para una fertilidad optima del perro, la morfología de los espermatozoides debe oscilar entre un 70 u 80% de espermatozoides morfológicamente normales (Mascotas Ven Fido, 2011). En el cuadro 2 se mencionan los parámetros para evaluar la fertilidad del macho en la monta directa.

Cuadro 2. Parámetros para evaluar la fertilidad

Parámetro	Valor
Espermatozoides totales	> 200 x 10 ⁶ por eyaculado
Movilidad espermática	>70% con avance progresivo hacia delante
Morfología de los espermatozoides	>70% de formas normales
Defectos primarios	< 10% de los espermatozoides
Defectos secundarios	< 20% de los espermatozoides
% de preñez	85- 90%

(Ávila, 2009; Arango y Rendon, 2009)

1.13. Inseminación Artificial (IA)

Galina (2010), De la sota, Corrada y Cobello (2010), definen la inseminación artificial como la introducción del semen o transferencia de espermatozoides en los órganos genitales de la hembra por medio de técnicas diferentes a la monta natural, facilitando la fecundación y la producción de una cría. England and Lofstedt (2000), señalan que esta técnica se realiza cuando existen problemas de comportamiento en los reproductores, cuando es difícil la monta debido a problemas ortopédicos o inexperiencias.



1.13.1. Ventajas y desventajas de la I.A

Existen diversas ventajas en la utilización de la inseminación artificial en canidos ya que:

- Permite el mejoramiento genético acelerado, mediante machos probados.
- Mejor utilización del semental, ya que a partir de un eyaculado es posible inseminar varias hembras.
- Evita las enfermedades de transmisión venéreas.
- Facilita el transporte y la distribución del semen.
- Posibilita la adquisición de machos de registro y buena genética (Galina, 2010).
- Es posible el uso de semen congelado a muy baja temperatura, después de que ha muerto el donador, lo que contribuye a la selección de líneas seleccionadas.
- Permite el uso de semen de machos incapacitados u oligospermicos.
- Permite el uso de machos con marcadores genéticos deseables en apareamientos genéticos específicos.
- Constituye una herramienta de investigación útil para evaluar muchos aspectos de la fisiología reproductiva del macho y de la hembra (Hafez, 2002).

Desventajas

- Implica dominio de la técnica.
- Se requiere detección de estro.
- Se pueden diseminar características indeseables (Galina, 2010).



1.14. Colección del Semen

La eyaculación del perro es larga prolongándose hasta media hora ya que se realiza gota a gota y en tres fracciones diferentes, teniendo las siguientes funciones: La primera fracción es originaria de la próstata, siendo responsable de la limpieza del canal de la uretra, la segunda fracción proviene del epidídimo donde se encuentran los espermatozoides maduros y la tercera fracción es líquido prostático sirviendo como medio de transporte para los espermatozoides en el aparato genital de la hembra (Mayer, 1959; Rodríguez, 2005).

Cuadro 3. Características del semen del perro.

Volumen (ml)	5^a
Concentración/esp (x10⁶)	300
Total de espermatozoides x10⁶	1,500
Espermatozoides con motilidad (%)	85
Esp. Morfológicamente normales (%)	80
Eyaculación por semana	3
Células vivas por I.A (x10⁶)	100

^a: **Volumen libre de gelatina** (Cole y Cupps, 1984).



Cuadro 4. Características de las diferentes fracciones del eyaculado del canino.

CARACTERÍSTICAS	FRACCIÓN URETRAL	FRACCIÓN EPIDIDIMARIA	FRACCIÓN PROSTÁTICA
Volumen	0.1-2 ml (promedio 0.33ml)	.1-3ml (promedio 1.17 ml. O más.	1-2 de > 20 ml Muy variable dependiendo del perro.
Color	Transparente u opaco	Blanco grisáceo, blanco, blanco lechoso	Claro y transparente
Consistencia	Acuoso	Acuosa, lechoso	Acuoso
Carácter	Secreción de mezcla de células epiteliales, orina, bacterias y células espermáticas	Las células del esperma se encuentran en suspensión en plasma seminal	Secreción de la próstata
Ph (promedio)	6.37	6.10	7.20
Duración	5-90 seg. (medio 13,5 seg)	5-300 seg. (Promedio de 52,4 seg.)	60 seg-20 min.
Concentración en espermatozoides	< 3x10 ⁶ esperma/ml	400x10 ⁶ esperma/ml	Espermatozoides muy escasos

(Dumon, 1989; Payan, Sonia and Wojciech, 2011)

Existen diversas técnicas de colectar el semen de los caninos, como son con vagina artificial, la técnica manual siendo estas dos las más comunes y esta ultima la más utilizada en la colección de semen ya que es la forma más práctica, también existe la colección por electroeyaculación pero está muy rara vez utilizada.

Para Sorribas (2000) y De la Sota, Corrada y Cobello (2010), la recolección de semen en caninos se debe de tener en cuenta diversos requisitos importantes para tener éxito en la práctica. Previo al iniciar la recolección es recomendable limpiar la zona prepucial y abdominal, si el macho es de pelo largo lo ideal es que se corte el pelo de la zona, tener al macho en un lugar tranquilo donde se encuentre relajado y sin ninguna distracción, tomar en cuenta que el perro no orine minutos antes de la recolección ya que se contaminara el semen con restos de orina afectando los espermatozoides. Es conveniente que se utilice una hembra en celo para estimularlo; la hembra es llevada al lugar donde se encuentra el macho, dejando que el este la olfatee su cuarto posterior y vulva.



1.14.1. Manipulación digital o colección manual

Mcdonald (1978), Restrepo, Vázquez y Andres (2009) e Islas y Gutiérrez (2010), explican que en dicha técnica se requiere que el animal se encuentre lo más tranquilo posible, en compañía de su propietario y un piso antiderrapante. Es necesario con ayuda de un guante de látex iniciar un masaje al pene a través del prepucio para estimular la erección. Cuando se inicia la erección parcial, la vaina se retira suavemente detrás del bulbo del glande realizando una limpieza con un algodón mojado con agua tibia, posterior a esto se aplica presión en la parte posterior del bulbo peneano para lograr así la erección completa del pene, el masaje suave en la punta del glande puede permitir una mayor erección que lleve a la eyaculación, cuando se efectúa la protrusión del pene, se ubica el dedo índice y pulgar detrás del bulbo, semejando las contracciones vaginales de la hembra.

Una vez lograda la erección se desvía el pene con dirección caudal pasando entre los dos miembros posteriores, terminada esta labor se inicia la eyaculación que consiste en una fracción pre espermática y otra espermática. Es importante recolectar la segunda fracción ya que es la rica en espermatozoides. La muestra de semen debe recolectarse en bolsas de polietileno, contenedores de plástico protegidos de la luz solar y los cambios bruscos de temperatura o en un tubo de vidrio graduada el cual se calienta a 37°C, con ayuda de un embudo, ya que el eyaculado debe mantenerse a 35°C. La Federación Canofila Mexicana (2013), recomienda que después terminada la colección se aplique lubricante al perro, comentar al propietario que lo camine y revisar que el pene haya envainado correctamente antes de que se vaya.

En la figura 16, se puede observar el procedimiento que se lleva a cabo durante la recolección del semen del macho canino.



Figura 16 Extracción y colección del semen canino.



(Ávila, 2009)

1.14.2. Vagina artificial

Para esta técnica de colección del semen, se utiliza una vagina artificial que está elaborada con un cilindro rígido de 15 cm aproximadamente, este se encuentra rodeado por una manga de caucho en donde se coloca agua a 40°C a través de una válvula. En un extremo del cilindro se ubica un embudo también de caucho, en el mismo que se encuentra el tubo colector que debe estar a 37°C, y debe ser lubricada para introducirla en el pene del canino (Velásquez, 2008; Ochoa y Torres, 2012).

Se lleva a cabo la erección de forma manual explicado anteriormente, a diferencia de que durante o inmediatamente después de la erección, los movimientos pélvicos intensivos de impulso por parte del macho, debe ser colocada la vagina artificial en el pene, aunque esto puede ser un poco complicado. Para esto un tubo de plástico transparente ya debe estar conectado a la vagina artificial de hule, este tubo servirá para observar la fracción de interés (Feldman y Nelson, 2000).



1.14.3. Electroeyaculación

Para Dumon (1989) y Velásquez (2008), este es un método que no es común su aplicación en la colección de semen canino ya que es experimental y es necesario utilizar anestesia en el perro. Se presentan diversas fallas al momento de ponerlo en práctica, como son: no tener éxito en la exposición del bulbo, aplicar alta tensión en el pene causándole dolor y destrucción de los espermatozoides

1.15. Evaluación del Semen

Sorribas (2000), Velásquez (2008), Arango y Rendon (2009), afirman que el espermatozoide es una célula sensible a los cambios de temperatura y a la exposición de la luz, por lo cual su recolección y manejo debe ser más cuidadoso para evitar la muerte de estos. Es necesario realizar la evaluación del semen antes de utilizar un semental, ya sea para monta directa o para inseminación artificial, esto para evaluar su calidad y posible infertilidad o subfertilidad.

Mcdonald (1978), menciona que al llevarse el semen al laboratorio debe ser estabilizado a una temperatura de 35 a 37°C poniendo el contenedor en baño María, incubadora o plancha térmica y mantenerlo a esta temperatura durante todo el análisis. La evaluación de este debe ser analizado macro y microscópicamente:



1.15.1. Evaluación macroscópica

1.15.1.1. Volumen

Es medido mediante un tubo colector graduado, donde la cantidad del eyaculado varía según la edad, talla, raza, frecuencia de colecta, métodos, duración y líquido prostático recolectado. Este volumen puede variar desde 1 hasta 80 ml (Restrepo, Vázquez y Andres, 2009; Federación Canófila Mexicana, 2013).

Esta evaluación ayuda a calcular la cantidad de espermatozoides obtenidos en cada muestra, así como anomalías o patologías del aparato reproductor del macho (Islas y Gutiérrez, 2010)

Cuadro 5. Variación en el volumen del eyaculado según el tamaño de perro

Tamaño del perro	El volumen de la eyaculación
<20 kg	1-22,5 ml (Promedio 5.38 ml)
> 20 kg	2-45 ml (Promedio 12.75 ml)

(Payan, Sonia and Wojciech 2011)

1.15.1.2. Color

Arango y Rendon (2009), Islas y Gutiérrez (2010), la Federación Canófila Mexicana (2013), mencionan que por lo general, el semen del perro es blanco y opaco. La intensidad de la opacidad depende de la concentración de espermatozoides. Aun que es una observación objetiva y da una idea de componentes indeseables, si se presentan colores no característico sugieren un problema: si se encuentra un color verde quiere decir que existe una enfermedad en el aparato reproductor; amarillo,



presencia de orina o pus; sangre, un pene traumatizado, afectando estas anomalías la calidad, concentración y viabilidad de los espermatozoides.

1.15.1.3. Ph

Se mide con tiras reactivas semicuantitativas, se considera normal de 6.5 a 7, esto va a depender de la cantidad de líquido prostático colectado ya que este tiene un pH de 6.0 a 7.4, un pH alcalino del líquido prostático favorece la motilidad espermática y neutraliza el ambiente ácido de la vagina. Al presentarse un cambio en el pH esto puede estar asociado a una eyaculación que no fue completa, o a la inflamación de los testículos, próstata o epidídimo (Bonilla y Ballesteros, 2007).

1.15.1.4. Olor

Para Islas y Gutiérrez (2010), el olor del semen es característico; el cambio puede dar indicios que existe o existió contaminación durante la extracción, como puede ser orina u olor característico de la presencia de pus.

1.15.2. Evaluación microscópica

1.15.2.1. Concentración

Para medir la concentración espermática se utiliza una cámara de Neubauer, esta cámara se encuentra dividida en nueve secciones de las cuales se han numerado cinco cuadros, el cuadro central (cuadro 5) subdividido a su vez en 25 cuadros contiene 0.1 mm^3 . El número de espermatozoides contados en el cuadrado central



grande equivale al número en millones de los mismos por ml; Este valor es multiplicado por el volumen total del eyaculado para calcular el número total de células en el mismo. Para el perro se considera normal de 200 a 500 millones de espermatozoides normales/eyaculado (Andrade, 2005; Bonilla y Ballesteros, 2007; Islas y Gutiérrez, 2010).

1.15.2.2. Morfología

La morfología de los espermatozoides es importante para evaluar la fertilidad, con el fin de establecer porcentajes de espermatozoides normales y poder clasificar las anomalías. Para poder considerar un semen de buena calidad el eyaculado debe contener un 80% o más de espermatozoides normales (Ochoa y Torres, 2012).

Esta evaluación se realiza al microscopio en un frotis de semen sin diluir y una gota de tinción Eosina-Negrosina, para observar las anomalías que pudieran presentarse (Arango y Rendon, 2009).

Las anomalías se pueden clasificar en primarias y secundarias:

La Federación Canófila Mexicana (2013), menciona que las anomalías primarias se originan en la espermatogénesis o en el túbulo seminífero; y las anomalías secundarias se consideran de maduración y de transporte, se producen durante el almacenamiento, transporte en el epidídimo, en el manejo del semen o después de un traumatismo.



En el cuadro 6, se mencionan las anomalías primarias y secundarias de cada una de las partes del espermatozoide.

Cuadro 6. Clasificación morfológica del espermatozoide canino.

CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA DEL ESPERMATOZOIDE
Morfología normal de los espermatozoides
Anomalía acrosomal <i>Primarias:</i> picudo, quístico o con defecto de cráter, distribución irregular. <i>Secundarias:</i> reacción acrosomática, edema, daño severo, pérdida.
Anomalías en la cabeza <i>Primarias:</i> macrocefalia, microcefalia, piriforme, defecto en diadema, vacuolas nucleares, espermatozoide estriado, formas dobles, pleomorfismo grave o formas raras. <i>Secundarias:</i> cabeza estrecha, defectos en la base, cabezas destacadas, descondensación nuclear.
Anomalías de la pieza intermedia <i>Primarias:</i> gota citoplasmática proximal, ruptura de la pieza, defecto de pseudogota, pieza doblada. <i>Secundarias:</i> gota distal.
Anomalías en la cola <i>Primarias:</i> enrollada alrededor de la cabeza o de la pieza intermedia, cola doble. <i>Secundarias:</i> cola torcida, en látigo, enrollada en la porción terminal.
Aglutinación Cabeza con cabeza, cabeza con cola, cola con cola, adhesión a otras células

(Andrade, 2005)

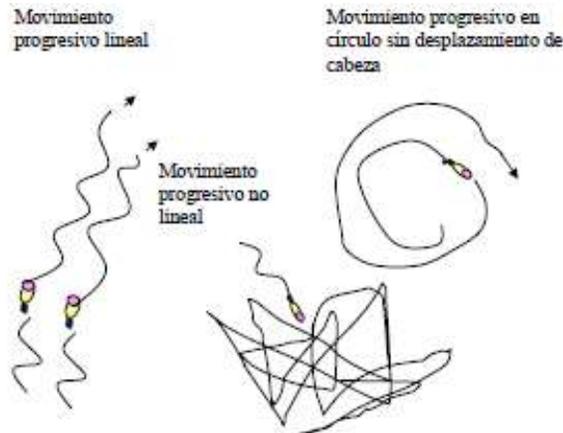
1.15.2.3. Motilidad

Esta evaluación se debe realizar inmediatamente después de la colección del semen. Los movimientos de los espermatozoides deben ser rectilíneos progresivos, solo los que tengan este movimiento son evaluados. Para ser considerado eyaculado normal el porcentaje observado debe ser mayor al 70% de motilidad progresiva rectilínea, se cree que la motilidad refleja la viabilidad y capacidad de fecundar un ovulo. Aquellos que se desplazan en círculos o presentan movimientos laterales sin avances no son



espermatozoides normales (Arango y Rendon, 2009; Payan Sonia and Wojciech, 2011).

Figura 17. Movimientos evaluados en la prueba de motilidad



(Islas y Gutiérrez, 2010)

1.15.2.4. Mortalidad

La Federación Canófila Mexicana (2013), explica que la mortalidad sirve para evaluar el porcentaje de espermatozoides muertos en el eyaculado. El porcentaje máximo para considerar un semen de buena calidad es de 5% de mortalidad y esta evaluación se realiza junto con la morfología.

1.15.2.5. Integridad y funcionalidad de membrana

La integridad y funcionalidad de la membrana plasmática son esenciales para la conservación de la capacidad fertilizante del espermatozoide. Para realizar esta evaluación se realiza una tinción que permiten diferenciar los espermatozoides vivos



de los muertos con base a la permeabilidad de la membrana al permitir el paso o no de los colorantes. Las células cuya membrana plasmática es permeable selectiva, no permiten el paso del colorante y se observan no teñidas. Por el contrario, cuando la membrana plasmática está alterada y pierde la permeabilidad selectiva, permite el paso del colorante, por lo tanto el espermatozoide se observa teñido (Islas y Gutiérrez, 2010).

1.16. Conservación del Semen Canino

La conservación del semen es utilizada básicamente para realizar Inseminación artificial, almacenar material genético de perros de alto valor y tener acceso del semen a largo plazo (Dumon, 1989).

El semen en fresco no requiere ningún proceso ya que se utiliza inmediatamente, realizando la inseminación en la hembra y no requiere ninguna manipulación a menos que el volumen y la concentración espermática no sea la suficiente (Bonilla y Ballesteros, 2007).

1.16.1. Métodos de conservación y diluyentes utilizados

Existen dos formas de conservar el semen de caninos la primera es semen refrigerado o frío y semen criopreservado o congelado. Y para la conservación del semen se emplean varias sustancias como diluyentes los cuales tienen la función de proteger la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática de los espermatozoides y así evitar que el semen se deteriore durante la refrigeración y la congelación, por lo que es necesario que los diluyentes tengan ciertos componentes como: agua bidestilada, sustancias iónicas y no iónicas que aseguren la osmolaridad,



Ph medio, un energético capaz de atravesar la membrana plasmática del espermatozoide, macromoléculas protectoras de membranas, agentes crioprotectores que garanticen la integridad celular ante los cambios del estado del agua que penetren a la membrana, aditivos (enzimas, aminoácidos y otros compuestos), azúcares no permeables a través de la membrana y antibióticos para evitar el crecimiento bacteriano (Sánchez, Cartagena y Berland, 2006; Ochoa y Torres, 2012).

Algunos de los diluyentes más utilizados en la conservación del semen canino es el:

Tris (Tris-hidroximetil-aminometano) este es una sustancia que es muy soluble en agua, se mantiene estable a temperatura ambiente durante varios meses y actúa como un tampón ya que estabiliza el pH. El ácido cítrico entra en la composición del tris. Este es un ácido débil inorgánico fácil que tiene una acción antioxidante, por el cual se ha utilizado como conservante natural (Rodríguez, 2005).

Yema de huevo, está presente en casi todos los diluyentes para la refrigeración y congelación del semen siendo añadido como tampón para proteger la membrana plasmática de los espermatozoides, ya que presenta características protectoras contra los choques térmicos asegurando la supervivencia del espermatozoides, esto se debe a la porción lipídica que está constituida por los fosfolípidos, lecitina y cefalina que se encuentra en la yema de huevo (Andrade, 2005).

Glicerol es un crioprotector permeable que tienen como función evitar la formación de los cristales intracelulares de hielo, ya que forma enlaces de hidrógeno agua-agua, interrumpiendo la formación de la red cristalina de hielo a medida que la temperatura se reduce. El glicerol tiene una limitante como crioprotector ya que tiene una



toxicidad parcial en los espermatozoides, teniendo una alteración en la unión de los espermatozoides con el oocito, disminuyendo la fertilidad, así mismo reduciendo la tasa de concepción posterior a la inseminación (Restrepo, Gomez y Vásquez, 2011).

Dimetilsulfoxido (DMSO) y Polietilenglicol (PEG), también son utilizados para la conservación del semen canino. El DMSO es una sustancia que pasa más fácilmente en la membrana celular (Bonilla y Ballesteros, 2007). El DMSO ha demostrado tener una baja capacidad protectora en el semen canino, disminuyendo la supervivencia y motilidad de los espermatozoides. Mientras que el PEG se ha observado que aumenta el porcentaje de en el desplazamiento curvilíneo y desplazamiento lateral de cabeza, lo cual afecta la membrana y por lo tanto la longevidad del espermatozoide (Andrade, 2005; Restrepo, Gómez y Vásquez, 2011).

Andrade (2005), menciona que se añade azúcares a los diluyentes para la aportación de energía a los espermatozoides como es la trehalosa y sucrosa que a su vez proporcionan estabilización a la membrana.

1.16.2. Proceso de refrigeración

Dumon (1989) y Martí (2011), mencionan que la refrigeración del semen se realiza de 4 a 5°C durante aproximadamente 7 días, ya que reduce la fertilidad en el transcurso de las horas que se encuentre refrigerado, aunque también esto va a depender del diluyente y la adaptación del semen.

Después de la colección, se centrifuga la muestra a 700 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 o 10 minutos eliminando el sobrante. Posteriormente diluir el semen a temperatura ambiente lentamente para evitar el choque térmico, esperara durante



45 minutos para que la muestra se equilibre a 5°C y al momento de la refrigeración deberá ser a esta misma temperatura. Martí (2011).y Dumon (1989), afirma que la refrigeración en el semen canino se recomienda aplicarla cuando se realiza una inseminación durante un mismo ciclo en forma repetida.

Estudios realizados por Baquero, Pardo y Cruz (2004), obtuvo como resultados que los tipos de diluyentes utilizados, las concentraciones y el tiempo de refrigeración tienen efecto de disminución en cuanto a la viabilidad espermática, mientras que la integridad del acrosoma no sufrió ningún efecto. Bohórquez, et al.(2005), Sánchez, Cartagena y Berland, 2006), reporta que la motilidad progresiva alcanza hasta un 75% en un lapso de 96 horas en refrigeración, con este porcentaje de motilidad se puede considerar un semen excelente para la inseminación ya que el parámetro es mayor al 70% de motilidad en los espermatozoides.

1.16.3. Proceso de congelación o criopreservación

Durante el proceso de congelación y descongelación las células se exponen a un medio hiperosmótico lo que genera una contracción celular inicial, luego las células recuperan su forma y tamaño cuando los crioprotectores entran a estas. Al iniciar la congelación, las células sufren una nueva contracción debido a que el agua sale de su interior (Arango y Rendon, 2009).

Olivo, et al.(2012), realizaron estudios donde utilizan Tris, yema de huevo y glicerol como diluyente crioprotector para la conservación de semen canino; en el cual diluyeron Tris, agua bidestilada y yema de huevo, posteriormente lo filtraron y lo mantuvieron a 37°C a baño maría durante una hora, antes de agregar el semen. Ya que estaba diluido el semen lo envasaron en pajillas de 0.25 ml con una concentración de 5×10^7 , sellándolas con alcohol polivinílico. Se mantuvo el semen en



refrigeración durante 24 horas a 5°C, para que las lipoproteínas del huevo se incorporaran a las membranas plasmáticas de los espermatozoides, y así no sufrieran el choque térmico durante la congelación lenta, para esto utilizaron vapor de nitrógeno que se encontraba a -120°C por un tiempo de 10 minutos, sucesivo a esto sumergieron las pajillas en nitrógeno líquido a -196°C durante 2 minutos.

Arango y Rendon (2009), afirman que la utilización de semen refrigerado o congelado con diluyentes protectores como el tris suplementado con yema de huevo, permiten conservar espermatozoides con buena capacidad fecundante por un periodo de tiempo suficiente para realizar la inseminación artificial en otra área geográfica.

1.16.4. Proceso de descongelación

La tasa de descongelación y supervivencia de la célula dependen del enfriamiento utilizado en el proceso. Según Arango y Rendon (2009), citan que el semen debe ser descongelado a 37°C durante 30 segundos, mientras que Martí (2011), afirma que debe ser realizada de manera progresiva en baños de agua a 70°C, aproximadamente durante 7 segundos. La pajuela debe ser introducir de manera oblicua sin que el agua cubra totalmente la parte distal.

1.17. Técnicas de Inseminación

Existen diversas técnicas de inseminación en los caninos como son: la inseminación artificial intravaginal y transcervical. Aunque la inseminación intravaginal es más fácil de llevar a la práctica, por lo general no en la respuesta fisiológica de la perra, como las concentraciones del útero que no permiten el transporte eficiente de los



espermatozoides. Por lo tanto en la inseminación intravaginal la fertilidad puede ser baja, por el cual se han desarrollado técnicas para permitir la inseminación intrauterina (England and Lofstedt, 2000).

1.17.1. Inseminación intravaginal

Rodríguez (2005) y Ávila (2009), definen que la inseminación intravaginal es la que consiste en depositar el semen en la vagina de la perra, puede realizarse con una pipeta de vidrio rígida, una sonda de inseminación para bovinos o una sonda Osiris, esta se compone de un tubo de plástico flexible a la anatomía de la vagina que se adapta, ya que el extremo está rodeado por un globito que se infla y simula el pene del perro en erección, así estimula las concentraciones vaginales en la perra y evita la salida del semen.

Esta inseminación es un procedimiento sencillo y con resultados similares a los obtenidos por la monta natural, que consiste en deposita el semen en la parte de la vagina. Martí (2011) y Payan, Sonia y Wojciech (2011), recomiendan que antes de iniciar el procedimiento de la inseminación, es necesario limpiar la zona perianal, en especial la perivulvar y que la perra se encuentre en ayuno para facilitar la palpación transabdominal que se realiza para guiar o determinar la posición del catéter.

La inseminación intravaginal se realiza con una pipeta de plástico o vidrio, la medida será de acuerdo al tamaño de la perra siendo que la vagina es de una longitud apreciable, y varía enormemente con la raza; a este catéter se le une una jeringa que contienen el semen; ya que se encuentra cargado el semen en la jeringa, se deja un pequeño espacio con aire, mismo que ayuda a introducir el semen en el momento de la inseminación. La perra se coloca con el tren posterior elevado manualmente o en

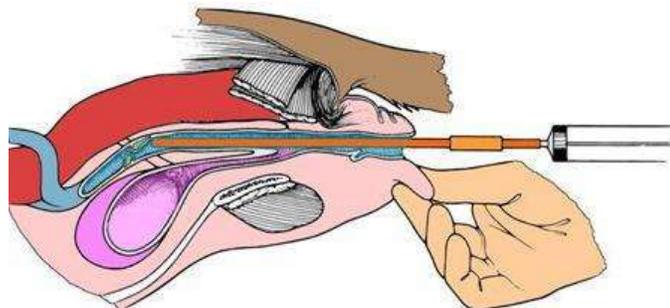


una rampa, teniendo cuidado que no se presione el abdomen (Van Hutchison, 2001; De la Sota, et al., 2010; Ochoa y Torres, 2012; Federación Canófila Mexicana, 2013)

El catéter se introduce a través de los labios vulvares, en posición vertical a 90° evitando la fosa del clítoris, se levanta la vulva y se coloca la pipeta en posición horizontal y se dirige cranealmente, se introduce lo más posible, adecuándose a la anatomía de la hembra canina; una vez que el catéter se encuentra en el fondo de la vagina, el semen es impulsado a través de este mediante una jeringa y depositándolo en la vagina craneal. Para evitar que el semen quede en la porción anterior de la pipeta, se retira la jeringa, se llena de aire y se conecta nuevamente para propulsarlo (Ochoa y Torres, 2012; Federación Canófila Mexicana, 2013).

Posteriormente levantamos las patas traseras de la perra durante 10 a 15 minutos para favorecer la concentración de espermatozoides en el cérvix. Es muy importante evitar que la perra orine en los 20 minutos siguientes a la IA para disminuir el riesgo de lavado vaginal. Por el contrario, estimulamos el techo de la vagina con un dedo para activar las contracciones uterinas. Para este procedimiento se utiliza normalmente semen fresco (Valera, 2008).

Figura 18. Inseminación intravaginal



(Federación Canófila Mexicana, 2013)



1.17.2. Inseminación intrauterina

Esta técnica consiste en depositar el semen directamente en el útero, es reservada para casos especiales, por ejemplo cuando el semen es de baja calidad después de la congelación. Rodríguez (2005) y Van Hutchison (2001), menciona que para realizar la inseminación intrauterina se pueden utilizar el método quirúrgico.

1.17.2.1. Método quirúrgico

Lucas (2011), Van Hutchison (2001) y Federación Canófila Mexicana (2013), mencionan que para llevar a cabo esta técnica se debe recurrir a una laparotomía o una laparoscopia; Si se utiliza la laparotomía se realiza la tricotomía en la región ventral del abdomen para realizar la incisión de 4 a 6 cm en el tercio medio entre el pubis y la cicatriz umbilical, a través de la línea media. Ya en cavidad el útero es identificado se localizan los cuernos uterinos y se aíslan elevándolos a través de la incisión

Se tienen dos opciones para depositar el semen; cateterizar los cuernos uterinos o cateterizar el cuerpo del útero, el catéter que se utiliza es de calibre 22 o 24. Se carga el semen en una jeringa este suele ser refrigerado o congelado se coloca en el lumen del cuerpo uterino después de un pequeña herida de punción que ha sido hecha con el extremo romo de una aguja y se deposita la mitad del semen en el extremo de cada uno de ellos, cerca de la unión útero-tubárica mediante la introducción de una aguja a través de la pared uterina, el semen debe ser inyectado lentamente, posteriormente se retira el catéter y se aplica presión por un minuto con una gasa húmeda en el sitio de la perforación, se regresa el útero al abdomen y la herida se cierra utilizando la metodología habitual. Se recomienda que los miembros



pélvicos se mantengan un poco elevados durante el procedimiento (Valera, 2008; England and Lofstedt, 2000; Lucas., 2011; Federación canófila mexicana, 2013).

La laparoscopia es otra técnica, que puede ser una alternativa más aceptable al no ser tan invasiva. Con esta técnica se realizan de 3 a 5 orificios pequeños de 0.5 a 1 cm en el abdomen, a través de los cuales se introducen los instrumentos laparoscópicos que incluyen; cámara de video, telescopio e instrumentos quirúrgicos que suelen ser muy delgados y finos. Reduce además en gran medida el riesgo de hemorragias y otras complicaciones, porque los cortes y la manipulación de vísceras son mínimos. Sin embargo el riesgo de la anestesia y el riesgo infecciones es un factor cuestionable (Federación Canófila Mexicana, 2013).

1.18 Fertilidad

Para que la fertilidad en la inseminación artificial sea exitosa y presente una alta tasa de concepción hay varios aspectos clave los cuales se deben tomar en cuenta como:

- El momento óptimo de la inseminación (detección de estro)
- El uso adecuado de espermatozoides viables en la dosis utilizada.
- Buen manejo y preparación del semen.
- Deposición adecuada del semen el aparato reproductor de la hembra cual sea la técnica de inseminación (Payan, Sonia and Wojciech, 2011)

En cuanto a la viabilidad de los espermatozoides después de en proceso de congelación y descongelación estudios realizados por Bohórquez, et al., (2005), reporta anomalías en la morfología de los espermatozoides como son: gota



citoplasmática proximal, defectos de acrosoma, defectos de cabeza y cola, la motilidad también se ve afectada, aunque respecto a estos estudios dichos autores admiten que aun con estas alteraciones los espermatozoides son viables para la inseminación con una alta tasa de fertilidad, aunque Martí (2011), recomienda que no se debe conservar semen con menor del 75% de motilidad, siendo que al momento de descongelarlo se pierde en un 40%. Por lo antes mencionado, Bohórquez, et al.(2005), sugiere que para tener un semen fértil pos-congelación es necesario obtener un semen de excelente calidad al momento de colectarlo, ya que los espermatozoides sufren alteraciones durante el proceso.

En el cuadro 7, se puede observar el porcentaje de efectividad que se presenta en cada una de las técnicas de inseminación y dependiendo del tipo de semen utilizado.

Cuadro 7. Porcentaje de efectividad en la inseminación artificial.

Tipo de inseminación	% de preñez
Inseminación intravaginal	
Semen fresco	65-95%
Semen refrigerado	60-80%
Semen congelado	55-60%
Inseminación intracervical	
Semen congelado	60-80%
Inseminación intrauterina	
Semen congelado	80-90%

(Bonilla y Ballesteros, 2007;Ávila, 2009)



2. CONCLUSIONES

En base a la revisión bibliográfica podemos concluir que:

- Para llevar a cabo una reproducción controlada y con éxito de los caninos, es importante conocer los aspectos reproductivos de la hembra tanto como del macho y los factores que modifican el ciclo estral esto va a depender de la raza y factores ambientales.
- En las técnicas de inseminación hay que tener presente que debe ser llevada a cabo en una forma disciplinaria y poner en práctica cada uno de los pasos del proceso para que esta sea eficiente.
- La citología vaginal exfoliativa (CVE) es una herramienta importante para determinar el estatus endocrino y el momento óptimo en el que se puede llevar a cabo la inseminación artificial y lograr una eficacia en la técnica.
- El manejo y el tipo de semen (fresco o congelado) es fundamental para el éxito de la inseminación.
- Las diferentes técnicas de IA están relacionadas directamente con el porcentaje de fertilidad dependiendo del tipo de semen utilizado; siendo que el semen fresco presenta un porcentaje de preñez de un 65 a 95% en inseminación intravaginal, mientras que el congelado y refrigerado se encuentra en un promedio de 55 a 80%. Para la inseminación intracervical con semen congelado va desde un 60 a 80% de preñez.



3. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, S. R. 2006. Alternativas para la supresión de celo en perras. (Servicio Profesional de Licenciatura) Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán.
2. Allen, W. E. 1993. Fertilidad y obstetricia canina. 1ª ed. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. pp. 1-6, 33 y 36.
3. Andrade, A. C. M. d. C. B. 2005. Influencia de la calidad espermática de la adición de distintas concentraciones de crioprotectores para la conservación del semen canino. (Tesis de doctorado). Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria, Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Madrid, España.
4. Arango, M. E. R. y Rendón, L. A. 2009. Evaluación del semen canino, sometido a congelación con diferentes concentraciones de glicerol como crioprotector. (Tesis de Licenciatura). Universidad CES, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Biotecnológica reproductiva. Medellín, Colombia.
5. Ardisana, C. 2012. [Disponible en:] <http://diarioauxiliarveterinaria.blogspot.mx/2012/03/inseminacion-artificial-en-perros-95.html>
6. Ávila, J. A. S. 2009. Principales Técnicas de inseminación artificial en *Canis familiaris*. (Servicio Profesional de Licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán.
7. Baquero, J. R. P; Pardo, E. A. R. y Cruz, P. E. C. 2004. Evaluación de dos diluyentes para la conservación de semen canino bajo condiciones de refrigeración: efectos del tiempo de refrigeración, grado de dilución y de la concentración de fructosa. Orinoquia. Vol. 8, núm. 1. Universidad de Los Llanos, Colombia. pp. 26 – 33.
8. Bearden, H. J. 1982. Reproducción animal aplicada. Ed. El Manual Moderno. México, D.F. pp. 54
9. Birchard y Sherding. 1996. Manual clínico den pequeñas especies. Vol. 2. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. pp.1061.
10. Blendinger, K. 2007. Physiology and pathology of the estrus cycle of the bitch. Rimini, Italia.
11. Bohórquez, R. C; De Ondiz, A; Palomares, R. y Gallardo, F. 2005. Determinación de protocolo de criopreservación de semen canino, Reporte preliminar. Revista Científica. Vol. XV. Núm. 5. Pp. 458-463.
12. Bonilla, H. C. L. y Ballesteros, M. R. 2007. Evaluación de la capacidad fecundante del semen canino congelado, comparando glicerol, etilglicerol y DMSO como crioprotectores en el diluyente TRIS-Glucosa-yema de huevo.



(Tesis de Licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia.

13. Centro veterinario Los Olivos. 2012. Alteraciones en el ciclo estral de la perra. [Disponible en:] <http://centroveterinariolosolivos.blogspot.mx/2012/10/alteraciones-en-el-ciclo-estral-de-la.html> [Ultimo acceso: 25 Octubre 2013].
14. Christoph, H. J. 1981. Clínica de las enfermedades del perro. Tomo II. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp.561.
15. Cole, H. H. y Cupps, P. T. 1984. Reproducción de los animales domésticos. 3^{er} ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
16. Concannon, P. W. y England, G. 2003. Determinación del momento del apareamiento optimo en la perra: Consideraciones. Ithaca, New York. U.S.A.
17. Crianza Canina. 2013. Citología vaginal exfoliativa. [Disponible en:] Crianza canina el portal del criador doméstico. Reproducción y selección. Aspectos generales de fisiología y endocrinología reproductiva. [Disponible en:] http://www.crianza_canina.com/articulo.asp?id=410. [Ultimo acceso: 05 Diciembre 2013].
18. Cunningham, J. G. y Klein, B.G. 2009. Fisiología veterinaria. 4^{ta} ed. Ed. El Sevier Saunders. Barcelona, España. pp. 469, 470.
19. De alba, J. 1985. *Producción animal*. Ed. La prensa medica mexicana. San José, Costa Rica.
20. De la Sota; Corrada y Cobello. 2010. Generalidades Inseminación artificial en caninos. Facultad de ciencia veterinarias U.N.L.P y servicio de reproducción del centro de capacitación y derivación veterinaria de la Plata.
21. Derivaux, J. 1982. Reproducción de los animales domésticos. 2^{da} ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp.18.
22. Dumon, C. 1989. Frotis Vaginales e inseminación artificial en la perra. Revista AVEPA. Vol. 9. Núm. 6. pp.35-47, 119-131.
23. England, R. and Lofstedt, G. 2000. Canine reproduction seminar. Collage Veterinary, Atlantic.
24. Escobedo, H. W. S. 2008. Diagnóstico del estro por medio der citología vaginal en perras. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 44
25. Esquivel, C. L. s.f. Sistema Reprodutor. [Disponible en] <http://www.uv.mx/veracruz/fmvz/files/2013/04/Anatomia-del-aparato-genital-de-perros-y-gatos.pdf>. [Ultimo acceso: 05 de Octubre de 2013]
26. Ettinger, S. J. 1998. Tratado de medicina interna veterinaria. 4^{ta} ed. Ed. Intermedica. Buenos Aires, Argentina. Pp. 651.



27. Fariña, J. 2011. Reproducción. Consejo de jueces FCA.
28. Federación Canofila Mexicana. 2013. Manual de reproducción canina. [Disponible en:] www.fcm.mx/clínica/IA/Manual_modificado.PDF [Último acceso: 27 Septiembre 2013].
29. Feldman y Nelson. 2000. Endocrinología y reproducción en perros y gatos. 2^{da} ed. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México, D.F. pp 572, 574, 580, 582, 586, 587, 588, 589, 592, 597, 600,601.
30. Frandson, R. D. 1995. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. 5^{ta} ed. Ed. Mc Graw-Hill interamericana. México D.F. pp. 386,387,389,421,424,432.
31. Galina, C. y Valencia, J. 2010. Reproducción de los animales domésticos. 3^{ra} ed. Ed. Limusa. México, D.F. pp. 29,30,31,92,93,94,95,96,98.
32. Hafez, E. H. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7^a ed. Ed. McGraw-Hill. México, D.F. pp. 60,61,387.
33. INTERVET. 2007. Compendium de reproducción animal. 9^o ed. Sinervia Uruguay/ Paraguay.
34. Islas, O. E. y Gutiérrez, G. J. de J. 2010. Manual de prácticas de reproducción animal asistida. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Aguascalientes.
35. Jones, D. E. y Joshua, J.O. 1984. Problemas clínicos de la reproducción canina. 1^a ed. Ed. El manual Moderno. México, D.F. pp. 1, 64, 65,66.
36. Lorenz, M. D. 1987. Diagnóstico de los pequeños animales. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
37. Lucas, X. 2011. Estado actual de las técnicas de inseminación artificial de la especie canina. Revista de la Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía (AMVAC). Núm. 46
38. Martí, S. A. 2011. Producción y neonatología canina y felina, Manual clínico por especialidades. Ed. Servet. Zaragoza, España. pp. 6, 7, 18, 29, 38, 39,41 y 43.
39. Martínez, H. F. C. 2006. Esterilización química en perros por medio de glutamato de Zinc (Neutersol). (Servicio profesional de Licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán.
40. Mascotas Ven Fido. 2011. Anomalías del esperma del perro. [Disponible en:] <http://www.venfido.com.mx/enfermedad.php?n=anomalias-del-esperma-en-perros>. [Último acceso: 05 Enero 2014].
41. Máspero, D. 2008. El momento de la concepción. [Disponible en:] Criadero de perros La Pureza fina Selección. http://www.hpcastelli.com.ar/lapureza/biblioteca/fisiologia_canina/02_fertilizaci



- [on_y%20monta/fertilizacion_y%20monta.html](#) [Último acceso: 05 Diciembre 2013].
42. Mayer, K. L. 1959. *Medicine Canine*. 2^{da} ed. Ed. American Veterinary Publications Inc. Santa Bárbara, California.
 43. McDonald, L. E. 1978. *Reproducción y endocrinología Veterinaria*. 2^{da} ed. Ed. Interamericana. México, D.F. pp. 249,250,387.
 44. Medicina, I. 2013. Exploración semiológica del aparato genital de la hembra [Disponible en:] <http://www.fvet.uba.ar/areas/semiologia/Semiologia-aparato-reproductor-hembra.pdf>
 45. Merck y Co. 2007. *Manual Merck de veterinaria*. 6^{ta} ed. Ed. Océano/Centrum Meril. Whitehouse Station, N.J., U.S.A. pp.1131
 46. Mosolino, C; De Oliveira, G. C. y Montel, M. L. Cambios del Ciclo estral de la perra. *DERVET*. [Disponible en:] <http://www.redevet.com.br/artigos/cicloest.htm> [Último acceso: 05 Diciembre 2013].
 47. Nelson, R. W. y Couto, C. G. 2010. *Medicina interna de pequeños animales*. 4^{ta} ed. Ed. Elsevier Mosby. Barcelona, España. pp.885, 886, 887, 888, 891, 900,903.
 48. Ochoa, A. y Torres, L. 2012. Conservación del semen canino y evaluación de su viabilidad espermática a través de microscopía directa e inseminación artificial. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Cuenca. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cuenca, Ecuador.15-16
 49. Olivo, I. B. Z; Toscano, I. A. T; Tena, M. J. M; Cajero, M. J. y Conejo, J. N. 2012. Conservación del semen canino mediante vitrificación y congelamiento lento. XXII Encuentro de investigación veterinaria y reproducción animal Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia. Morelia, Michoacán.
 50. Páramo, R. M. R. 2012. *Fisiología clínica del ciclo estral*. Universidad Autónoma de México. México, D.F
 51. Páramo, R. M. R. 2012. *Manual de prácticas en manejo reproductivo de perros*. Universidad Autónoma de México. México, D.F
 52. Payan, R. C; Sonia M. and Wojciech, N. 2011. Artificial Insemination in Dogs. En *Insemination artificial in farm animals*. Ed. In Tech. Rijeka, Croatia. Pp. 55.
 53. Pérez, M. C. 2008. Diagnóstico y tratamiento de piometra en la perra. (Tesis de Licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria Y zootecnia. Morelia, Michoacán, México.
 54. Prats, A. E. 2001. Citología vaginal y examen del esperma. XVIII congreso anual. [Disponible en:] http://www.advanceveterinary.com/Amvac00_02/2001/seminario03.pdf. [Último acceso: 03 Diciembre 2013].



55. Restrepo, G. B; Gómez, J. O. y Vásquez, N. A. 2011. Criopreservación del semen canino por congelamiento rápido con glicerol y dimetilformamida. Lasallista de investigación. Vol. 2.Num.8. pp. 9-17.
56. Restrepo, G. B; Vásquez, N. A. y Andrés, E. G. 2009. Criopreservación de semen canino y su aplicación en la inseminación artificial. Revista CES, Medicina Veterinaria y Zootecnia. Vol. 4. Num.2. pp. 119-129.
57. Rijnberk, A. s.f. Endocrinología clínica de perros y gatos. [Disponible en:] http://www.mvzunipaz.edu.co/documentos/biblioteca/libros/endocrinologia/libro_de_endocrinologia_perros_y_gatos.pdf [Última consulta: 12 de Diciembre de 2013]
58. Rodríguez, A. S. 2005. Criopreservação Do Sêmen Canino Diluído Em Tris: Avaliação Morfológica, Funcional E De Suas Interações Com Oócitos Homólogos. Universidad Estadual Do Ceará. Fortaleza-Ceará.
59. Sáldate, J. A. P. 2000. Manual ilustrado para la interpretación colpocitológica y del control del ciclo reproductivo de la perra. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara, Centro universitario de ciencias biológicas y agropecuarias, División de ciencias veterinarias. Zapopan, Jalisco. Pp. 23-24.
60. Sánchez, A; Cartagena, A. y Berland, M. O. 2006. Comparación de dos diluyentes sobre la fertilidad potencial del semen canino refrigerado. Rev Inv Vet Perú, Vol. 17. Num.1. pp. 1-7.
61. Sin Autor. 1999. Ciclos reproductivos de las hembras domésticas. [Disponible en:] <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/fisiologia-animal/Material%20de%20clase/bloque-2-cap-9-tema-3.-ciclos-reproductores-de-las-hembras-domesticas.pdf> . [Último acceso: 03 Octubre 2013].
62. Sin Autor. s.f. Citología vaginal canina. [Disponible en:] http://www.sobreperros.com/articulos/citologia_canina_en_la_perra [Último acceso: 03 Diciembre 2013].
63. Sin Autor. s.f. Comportamiento reproductivo. [Disponible en:] http://www.uco.es/organiza/departamentos/prodanimal/economia/aula/img/pictorex/06_07_04_TEMA_15.pdf. [Último acceso: 21 Noviembre 2013].
64. Sisson, S. y Grossman, J. D. 2001. Anatomía de los animales domésticos. Tomo II. 5^{ta} ed. Ed. Masson. Madrid, España. Pp. 1738, 1740.
65. Sorribas, C. E. 2000. Reproducción en los animales pequeños. 2^{da} ed. Ed. Inter-Medica. Colombia. Pp 13, 14,15.
66. Sporri, H. y Sunzi, H. 1977. Fisiopatología Veterinaria. Anomalías del ciclo sexual. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 451 y 459.
67. Tavera, F. J., 1998. Patología sistémica veterinaria. 5ta ed. Ed. McGraw-Hill México D.F. pp. 152.



68. Universidad del Litoral. 2013. Citología Vaginal. [Disponible en] <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/teriogenologia/informacion/110411/PDFs%20word/TP12.pdf> [Último acceso: 09 Septiembre 2013].
69. Urroz, C. S.f. Elementos de anatomía y fisiología animal. [Disponible en:] <http://books.google.com.mx/books?id=K25RmJ28OCQC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>. [Último acceso: 04 Noviembre 2013].
70. Valera, M. A. 2008. Reproducción Canina. [Disponible en:] <http://www.centauroveterinarios.com/tienes/reproduccionCanina.pdf> [Último acceso: 09 Septiembre 2013].
71. Van Hutchison, R. 2001. Canine reproduction for breeders. IAMS Company. New York, USA. Pp. 9-12
72. Vatti, G. 1980. Ginecología y Obstetricia veterinaria. 3^{er} ed. Ed. Uthea. México, D.F. pp. 14
73. Velásquez, R. 2008. Examen y diagnóstico andrológico en el perro. Extracción de semen. [Disponible en:] <http://reynaldovelazquez.wordpress.com/2008/08/16/examen-y-diagnostico-andrologico-en-el-perro-extraccion-de-semen/>. [Último acceso: 17 Septiembre 2013].