



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SERVICIO PROFESIONAL

PRINCIPALES TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN

ARTIFICIAL EN CANIS FAMILIARIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**QUE PRESENTA
JORGE ALBERTO ÁVILA SÁNCHEZ**

**ASESOR DE TESIS
DR. RODOLFO LUCIO DOMINGUEZ**

MORELIA, MICHOACÁN, NOVIEMBRE DEL AÑO 2009



ÍNDICE

Índice de figuras y cuadros	4
1.- Introducción	5
2.- Revisión de literatura	7
2.1.- Anatomía del aparato reproductor de la perra	
2.1.1.- Vulva.....	7
2.1.2.- Vestíbulo.....	7
2.1.3.- Unión vestíbulo-vaginal.....	7
2.1.4.- Vagina.....	7
2.1.5.- Clítoris.....	8
2.1.6.- Cuello del útero.....	8
2.1.7.- Útero.....	8
2.1.7.1.- Fases del útero.....	9
2.1.8.- Trompas uterinas (trompas de Falopio).....	9
2.1.9.- Ovarios.....	10
2.1.10.- Mesenterio.....	10
2.1.11.- Suministro sanguíneo.....	11
3.- Fisiología del ciclo estral	
3.1.- Terminología.....	14
3.2.- Prepubertad.....	14
3.3.- Proestro.....	14
3.4.- Estro.....	15
3.5.- Metaestro.....	17
3.6.- Anestro.....	18
4.- Endocrinología del ciclo estral	
4.1.- Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH, LHRH).....	19
4.2.- Hormona estimulante de los folículos. (FSH).....	19
4.3.- Hormona luteinizante. (LH).....	20
4.4.- Estrógenos.....	20
4.5.- Progesterona.....	20
4.6.- Prolactina.....	21
4.7.- Andrógenos.....	21
4.8.- Prostaglandinas.....	21
5.- Detección de la ovulación	
5.1.- Elección del momento más propicio para la monta.....	21
5.2.- Realización de frotis vaginal.....	22
5.2.3.- Procedimiento para la realización del frotis.....	23
5.2.4.- Interpretación del frotis.....	26
5.2.5.- Determinación de LH en la sangre.....	27

6.- Inseminación artificial	
6.1.-Tipos de inseminación.....	28
6.1.2.-Semen fresco.....	28
6.1.3.-Semen refrigerado.....	31
6.1.4.-Inseminación artificial con semen congelado.....	33
6.1.5.-Inseminación intravaginal.....	36
6.1.5.1.-Tipos de técnicas.....	36
6.1.6.- Inseminación intrauterina.....	37
6.1.7.-Inseminación transcervical.....	38
6.2.-Elección del método adecuado	
Para la inseminación artificial.....	39
7.- Conclusiones.....	41

Bibliografía

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Figura I.- Anatomía del aparato reproductor de la perra.....	13
Figura II.- Molde de corrosión proveniente de Una perra en fase de Proestro.....	15
Figura III.- Molde de corrosión proveniente de Una perra en fase de estro.....	16
Figura IV.- Radiografía de un espécimen proveniente de una Perra en fase de metaestro (diestro) temprano.....	17
Figura V.- Radiografía de un espécimen proveniente de una Perra en fase de metaestro (diestro) temprano.....	18
Figura VI.- Molde de corrosión proveniente de una perra En fase de Anestro.....	19
Figura VII-X.- Toma de muestra para una citología vaginal.....	23
Figura XI.- Extendido de la muestra en el porta objetos.....	24
Figura XII.- Secado de la muestra.....	24
Figura XIII.- Fijadores usados para la tinción de la muestra.....	25
Figura XIV y XV.- Láminas con las fases de Proestro y estro Observadas desde el microscopio.....	26
Figura XVI y XVII.- Láminas con las fases de Metaestro y anestro Observadas desde el microscopio.....	27
Figura XVIII.- Extracción y recolección de semen de un perro.....	30
Figura XIX-XXI.- Procedimiento para introducir el semen en la perra.....	32
Figura XXII.- Imagen de una inseminación intravaginal.....	37
Cuadro I.- Tabla descriptiva de células observadas en frotis Vaginal en diversos estados fisiológicos y patológicos.....	27
Cuadro II.- Porcentajes de efectividad de cada inseminación Artificial.....	40

INTRODUCCIÓN

Se cree que la primera inseminación artificial fue realizada por *Eustachius* a fines del siglo 1 D.C. Los árabes la practicaron desde el 700 D.C. y fue entonces en el siglo XIV cuando se utilizó ampliamente para la obtención de caballos excelentes, seleccionados de esta forma a partir de un garañón, cuyas cualidades se deseaban mezclar con la de determinadas yeguas.

Se sabe que en 1322 un árabe que deseaba conseguir un caballo con las mismas cualidades que uno que poseía un jefe enemigo, obtuvo semen de tal caballo clandestinamente, haciéndolo introducir en la vagina de una de sus mejores yeguas y al parecer el hijo de aquella yegua superó a los padres.

Lazaro Spallanzani realizó en 1780 la fecundación artificial en anfibios, de los que pasó a realizar la técnica en perros, inyectando en los genitales de las hembras en celo, semen de perros escogidos. Consiguió así partos de perros normales con los caracteres combinados de ambos progenitores.

La ventaja de la inseminación artificial en animales fue que permitió evitar muchas enfermedades infecciosas que con frecuencia eran causa de aborto y esterilidad. Y además se pudo seleccionar el semen de animales de gran calidad, o el de aquellos cuyas cualidades extraordinarias se querían perpetuar. Además cabía la posibilidad de que con el semen de una sola eyaculación se fecundase a varias hembras, siendo esto un factor de gran importancia puesto que así se podían obtener varios animales de calidad al mismo tiempo y estudiar mejor en ellos sus características.

Lo anterior nos refiere que la inseminación artificial es un proceso que se ha venido utilizando en los últimos tiempos, en la actualidad juega un papel muy importante en la reproducción animal, puesto que es a través de ésta como se pueden obtener crías de alguna especie que en condiciones de apareamiento normal no podrían obtenerse por distintos factores de impedimento tanto de la hembra como del macho.

Es por esto que surgió la inquietud de investigar el procedimiento y los temas que giran en torno a la inseminación artificial la cual consiste en la recolección de semen de algún animal macho, para después introducirlo en el útero de alguna hembra y así, propagar la especie.

El contenido del presente trabajo se desarrolla a través de distintos temas y subtemas relacionados con la inseminación artificial; los cuales hacen referencia a la *anatomía del aparato reproductor de la perra* a fin de clarificar la anatomía y funcionamiento del mismo, continuamente se aborda el tema de *endocrinología y fisiología del ciclo estral*, mismos que facilitan la comprensión del los periodos y el funcionamiento hormonal de la perra durante el estro, completando la información con el siguiente tema denominado la *detección de la ovulación*; para así llegar a abordar el último tema que es la *inseminación artificial*, y es desglosado en subtemas que explican los distintos tipos y procedimientos de ésta. Finalmente se encuentran las conclusiones que enfatizan la importancia de conocer el procedimiento y los alcances de la inseminación artificial.

2.1.- ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA PERRA

2.1.1- Vulva

Es el orificio urogenital externo de la perra; está ubicado craneoventralmente del arco isquiático: tiene dos labios que se fusionan por arriba y por debajo de la hendidura vulvar o rima pudenda, constituyendo las comisuras dorsal y ventral de la vulva. (Rivers B.; Johnston G. R.).

Situada en posición ventral al suelo de la pelvis. Su tamaño depende de la raza y de la fase del ciclo estral. (Edward, W. 1992).

Función: Urogenital.

2.1.2.- Vestíbulo

Conducto potencial que conecta la abertura de la vulva con la vagina sobre la pared ventral, en posición craneal a la comisura vulvar ventral, se encuentra el *clítoris* suspendido en un pliegue transversal a la mucosa.

La luz vestibular asciende en un ángulo de 60 grados hacia arriba desde la horizontal, y posteriormente recorre una corta distancia hacia delante en la pelvis hasta la unión con la vagina. (Edward, W. 1992).

Función: Cópula y gestación.

2.1.3.- Unión vestíbulo-vaginal

La uretra se abre en este punto ventralmente en perras que no han sido cubiertas por el macho existe un estrechamiento que indica la posición del vestíbulo del himen.

El himen aparece total o parcialmente intacto en algunas perras, impidiendo así el apareamiento. (Edward, W. 1992).

2.1.4.- Vagina

Dirigida cranealmente desde la unión vestíbulo-vaginal hasta el cuello uterino (a la altura de la 4^a. o 5^a. vértebra lumbar) un conducto potencial recubierto por un epitelio estratificado que es influenciado por cambios hormonales.

Este conducto potencial se estrecha cranealmente debido a un pliegue longitudinal dorsomedial de la mucosa; el extremo caudal de este pliegue suele confundirse con el cuello del útero.

La boca del cuello del útero se sitúa a unos 0,5 cm. caudal al límite craneal de la vagina, sobre su superficie dorsal. (Edward, W. 1992).

Función: Cópula y gestación.

2.1.5.- Clítoris

El clítoris es el homólogo del pene en la hembra.

Su cuerpo es pequeño ancho y plano, mide aproximadamente de 3 a 4 cm. de longitud, dependiendo de la raza. Se localiza en el piso del vestíbulo cerca de la vulva cuenta con dos porciones:

1. Cuerpo: Formado de grasa.

2. Glande: Estructura pequeña constituida por un tejido eréctil cubierto por un epitelio escamoso estratificado y una gran cantidad de terminaciones nerviosas; localizándose en la fosa del clítoris, siendo esta porción la homóloga del pene. (Vatti, G., 1980).

Función: Estimulación sexual.

2.1.6.- Cuello del útero

Un órgano corto, de gruesas paredes, con una luz estrecha que conecta la vagina con el útero.

La abertura vaginal se abre dorsalmente sobre la vagina craneal.

El canal cervical aparece abierto durante el final del proestro, estro, parto y periodo post partum; en otros momentos suele estar cerrado. (Edward, W. 1992).

2.1.7.- Útero

El útero es un órgano tubular que se divide en dos cuernos, cuerpo y cuello. Los cuernos son largos y se encuentran ubicados junto a la pared abdominal y alojan a los fetos durante la gestación; los ligamentos anchos suspenden al útero de la región sublumbar; el ligamento intercornual une a ambos cuernos cerca del cuerpo del útero. El cuerpo del útero es corto y limita cranealmente con la bifurcación de los cuernos y caudalmente con el cuello o cérvix. (Sokolovsky, J. H.; Zinbelman, R. G. y Goyings, L. S.1968).

El cuerpo se conecta caudalmente con el cuello del útero y los extremos de los cuernos se comunican con las trompas de Falopio (oviductos) cranealmente. La longitud y anchura del útero dependen de cambios tanto patológicos como fisiológicos.

Los cambios normales en el útero no gestante son regulados por las hormonas circulantes. (Edward, W. 1992).

Función: Transporte de óvulos y espermatozoides; alojamiento y nidación de los huevos o cigotos, portador de la gestación.

2.1.7.1.- Fases del útero

Las fases del útero son las siguientes:

- Prepubertad.

La luz uterina tiene forma de X en sección transversa y las glándulas del endometrio son simples.

- Proestro.

El endometrio aparece más grueso y más edematoso.
Las glándulas del endometrio son más tortuosas.
Se produce extravasación de eritrocitos hacia la luz.

- Estro.

Endometrio con menos edema.
Las glándulas son más numerosas y tortuosas.
Prosigue la extravasación de eritrocitos.

- Metaestro.

El útero presenta un aspecto (retorcido, como saca corchos), continúa la proliferación glandular hasta el día 30 aproximadamente, hacia el final del metaestro la capa glandular más simple aunque suele contener dilataciones quísticas; el útero ya no aparece retorcido; aparecen leucocitos en la mucosa y en la luz se descubre tejido epitelial necrosado.

- Anestro.

El útero es similar al de la prepubertad aunque no tan pequeño. (Miller, L.1962).

2.1.8.- Trompas uterinas (trompas de Falopio)

Van desde el extremo del cuerpo uterino hasta el ovario en el mesósalphinx y bolsa ovárica.

Constan de un istmo estrecho en el extremo uterino y de una ampolla más ancha (cuando se produce la fertilización) en el extremo ovárico terminan en las fimbrias que están unidas a las aberturas de las bolsas ováricas; las

fimbrias conducen los óvulos fertilizados hasta los oviductos. (Sokolovsky J. H.; Zinbelman R. G.; Goyings L. S. 1968).

Función: Transporte de los óvulos hasta el cuerno uterino.

2.1.9.- Ovarios

Los ovarios se encuentran ubicados dentro de la bolsa ovárica, saco peritoneal que se abre en la cavidad peritoneal a través de una hendidura en su lado interno. Los ovarios se hallan por el ligamento propio del ovario al útero y por el ligamento suspensorio del ovario a la última costilla. Su forma es elipsoidal, su tamaño variable según la raza y el aspecto de su superficie cambia según el estado del ciclo estral en que se encuentre la hembra.

De forma ovoide mientras permanecen inactivos y unidos a la superficie interna de las bolsas ováricas. Cubiertos por el epitelio germinativo, de forma que la ovulación puede producirse en cualquier parte de su superficie. (Edward, W. 1992).

Función: producción de óvulos y secreción de hormonas femeninas, estrógeno y progesterona.

2.1.10.- Mesenterio

Une al aparato reproductor con la pared corporal principalmente al dorso la terminología de los diversos componentes de este órgano depende de su posición y modificaciones anatómicas.

Ligamento suspensor: Va cranealmente desde el ovario hasta la pared abdominal dorsal a nivel de la última costilla; una estructura intensamente fibrosa.

Mesovario: Envuelto por el ligamento suspensor cranealmente y continuado por el mesometrio caudalmente; constituido por tejido conjuntivo laxo que contiene grasa y los vasos ováricos.

Bolsa ovárica: Una bolsa del mesovario que cubre totalmente al ovario con la excepción de una pequeña abertura hacia la cavidad abdominal; las fimbrias de las trompas de Falopio están unidas a esta abertura.

Mesosalpinx: Un pliegue del mesenterio que va entre el ovario y el útero, conteniendo el oviducto.

Ligamento propio del ovario: Una banda de tejido fibroso que va entre el ovario y el extremo del cuerno uterino, paralela al mesosalpinx.

Mesometrio: Se continúa con el mesovario cranealmente; tejido conjuntivo laxo que contiene los vasos uterinos. (Edward, W. 1992).

2.1.11.- Suministro sanguíneo.

Solamente se describen los vasos encontrados en los procedimientos quirúrgicos rutinarios.

Arteria y vena ovárica: Procede de la aorta y desemboca en la vena cava dorsal al ovario (en la izquierda la vena desemboca en la vena renal izquierda); no se comunican con los vasos uterinos.

Arteria y vena uterina: Proceden de los vasos pudendos cerca de la vagina; van en dirección craneal, paralelas a cada cuerno uterino a los que envían ramificaciones de forma regular. (Edward, W. 1992).

Durante las diferentes fases del ciclo estral se observó que la fuente principal de sangre arterial del ovario es la arteria ovárica, la cual se origina de la arteria aorta abdominal, siendo el origen de la arteria ovárica derecha, más craneal que el de la arteria ovárica izquierda. (Del Campo, C.; Ginther, O. 1972.; Getty, R. 1982.; Pradere, J. 1998).

La arteria ovárica se divide en tres ramas: a) la rama ovárica de la arteria ovárica, b) la rama tubárica de la arteria ovárica y c) la rama uterina de la arteria ovárica. La rama ovárica al llegar al hilio del ovario, forma un ovillo arterial que irriga los dos tercios craneales de la gónada. La rama tubárica contornea craneolateralmente al ovario, irrigando las porciones craneales de la tuba uterina y, en su trayecto, envía un número variable de ramas que discurren en el mesosalpinx e irrigan la bolsa ovárica y el tercio craneal y medial del ovario, anastomosándose con ramas tubáricas de la arteria uterina. La rama uterina se anastomosa con las ramas segmentales más craneales de la arteria uterina y contribuye a irrigar el extremo craneal del cuerno uterino. Aunque la arteria ovárica no irriga directamente al útero, se observó que una o varias de sus ramas formaron anastomosis con las ramas segmentales más craneales de la arteria uterina, irrigando así la extremidad craneal del cuerno respectivo. Estas anastomosis se observaron en las fases de proestro y estro, indicando que dichas anastomosis están posiblemente sujetas a la acción de factores angiogénicos dependientes de las hormonas esteroideas y luteotróficas.

(Getty, R. 1982.; Pradere, J. 1998.; England, G.; Concanon, P., 2002).

Asimismo, también interviene en la irrigación del ovario, la arteria urogenital que se origina de la arteria pudenda interna. La arteria urogenital emite dos ramas principales: a) una rama craneal y b) una rama caudal. La rama craneal da origen a la arteria uterina, que en el cuerpo del útero diverge, emitiendo ramas segmentales, que irrigan al extremo craneal del cuerno uterino y se anastomosan con una o varias ramas de la arteria ovárica, terminando cranealmente en una rama que irriga las porciones caudales de la tuba uterina y el tercio caudal del ovario. La arteria uterina es el vaso principal que irriga al útero durante todas las fases del ciclo estral. (Fontbonne, A.; Buff, S.; Garnier, F. 2001).

Es importante hacer notar que en especímenes provenientes de perras en fases de proestro y estro, una vez formada la vena ovárica izquierda, ésta se bifurca, para luego unirse nuevamente antes de drenar hacia la arteria renal izquierda. Además, se observó una gran cantidad de vasos que drenan hacia el polo caudal y superficie lateral del riñón izquierdo. (Fontbonne, A.; Buff, S.; Garnier, F. 2001).

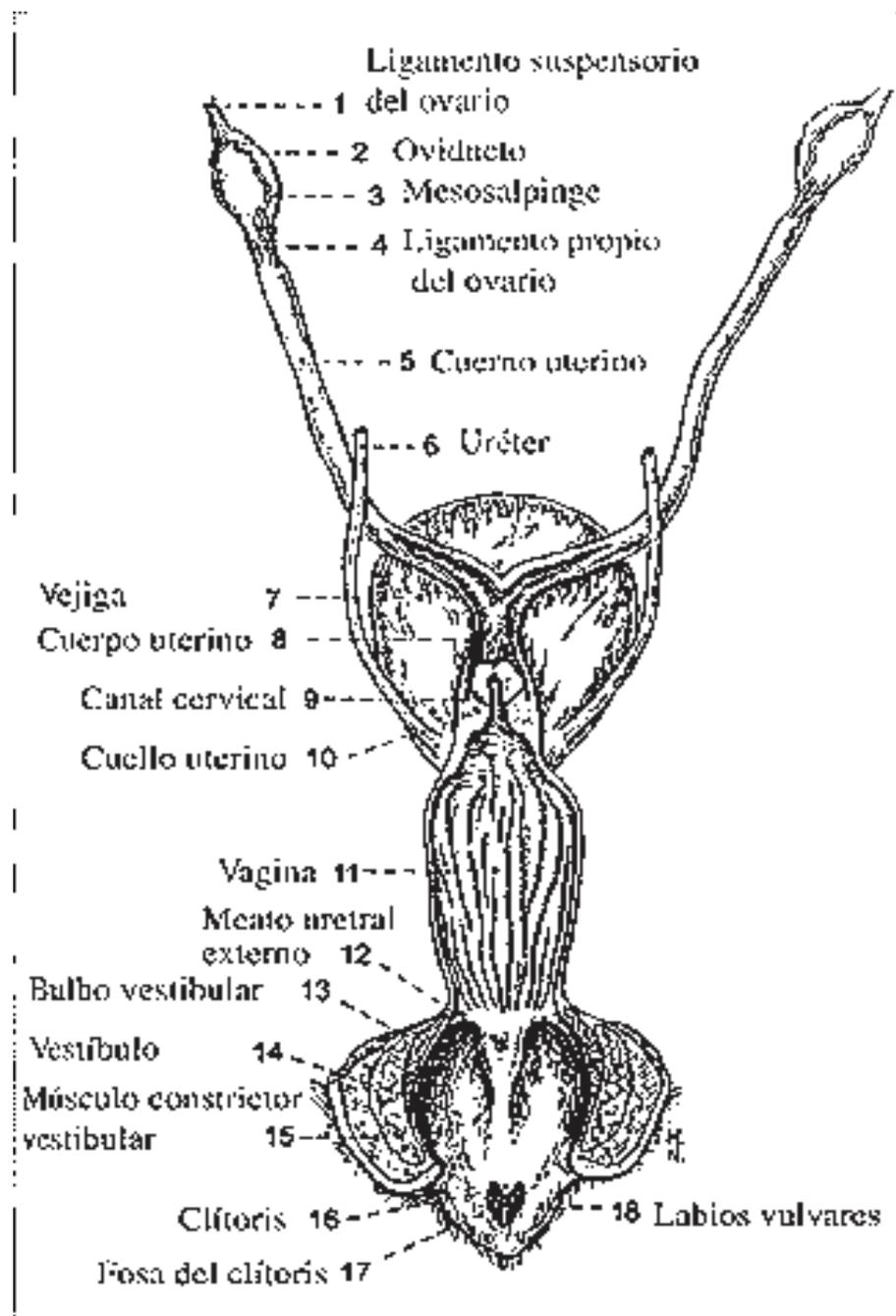
En los especímenes clarificados, provenientes de una perra en fase de diestro, se observó en el ovario derecho un cuerpo lúteo, con arterias de un grosor muy delgado, disminuyendo la cantidad y sus anastomosis dentro de la estructura. La anastomosis entre la arteria ovárica y la arteria uterina puede constituir una fuente adicional de aporte sanguíneo arterial al ovario, tuba uterina o al útero. (Fontbonne, A.; Buff, S.; Garnier, F. 2001).

En los especímenes clarificados, provenientes de perras en diestro, se observó a nivel del cuerpo uterino, una arteria que cruza, desde el lado derecho hacia el cuerno izquierdo, para distribuirse por el borde antimesométrico del cuerno izquierdo.

El drenaje venoso del tracto reproductor de la perra ocurre a través de las ramas craneal y caudal de la vena ovárica, ésta se origina de numerosas ramas ováricas, tubáricas y uterina que presentan calibres variables. El drenaje del tercio craneal, medio y caudal del cuerno uterino lo realizan las venas arciformes (venas arcuatas), las cuales confluyen hacia el borde mesométrico del cuerno uterino y forman las venas segmentales. La porción de las fimbrias, infundíbulo, parte media del cuerpo de la trompa y polo craneal del ovario es drenado por la rama tubárica de la vena ovárica y la extremidad uterina de la trompa por los vasos oviductales de la vena ovárica, los cuales también participan, en un menor grado, en el drenaje de la extremidad craneal del cuerno uterino, siendo la rama uterina de la vena ovárica el vaso principal que drena la extremidad craneal del cuerno uterino. (Dobrowolski, W.; Hafez, E.1970.; Mc. Cracken, J.; Glew, M.; Scaramuzzi, R. 1970).

La vena ovárica derecha desemboca en la vena cava caudal, mientras que la vena ovárica izquierda es afluente de la vena renal izquierda, La vena ovárica izquierda se bifurca antes de llegar a la vena renal y la presencia de un gran número de vasos que drenan hacia los vasos del polo caudal del riñón izquierdo, indicando que posiblemente durante estas fases es necesario un efectivo y rápido flujo sanguíneo, tanto de aporte como de reemplazo hacia el útero y los ovarios. (Dobrowolski, W.; Hafez, E.1970.; Mc. Cracken, J.; Glew, M.; Scaramuzzi, R. 1970).

Figura I.- Anatomía del aparato reproductor de la perra



1.Ligamento suspensorio del ovario. 2.-Oviducto. 3.-Mesosalping. 4.- Ligamento propio del ovario. 5.-Cuerno uterino. 6.- uréter. 7.- Vejiga. 8.-Cuerpo uterino. 9.- Canal cervical. 10.- Cuello uterino. 11.- Vagina. 12.- Meato uretral externo. 13.- Bulbo vestibular. 14.- Vestíbulo. 15.- Músculo constrictor vestibular. 16.- Clítoris. 17. Fosa del clítoris. 18.- Labios vulvares. (Ettinger S J, Feldman E R. 1995).

3.1- FISIOLÓGÍA DEL CICLO ESTRAL

3.1.- Terminología

Es confusa en la perra como resultado de errores históricos algunos términos son más aceptables por su empleo tradicional que por su exactitud científica. (Edward, W. 1992).

3.2.- Prepubertad

Periodo comprendido entre el nacimiento y el inicio del primer proestro puede durar de 6 a 24 meses o más. (Mc. Donal, E. L. y Pineda, H, M. 1989).

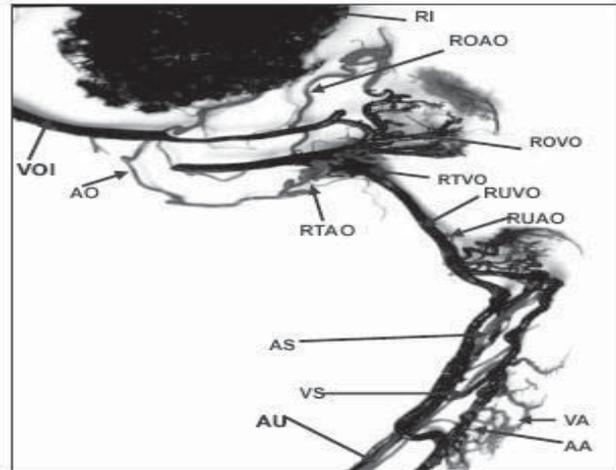
3.3.- Proestro

Dura en promedio 9 días aunque es muy variable los síntomas iniciales son tumefacciones de los labios de la vulva y aparición de un flujo sero-sanguinolento procedente de la vulva, la cuantía de este flujo varía mucho y carece de importancia clínica, el flujo puede no verse en algunas perras porque lo eliminan lamiéndose, la emisión de orina es más frecuente (cantidades pequeñas) para diseminar feromonas (olores) producidas por la mucosa vestibular, la perra resulta atractiva para los machos aunque generalmente no permanecerá quieta para ser cubierta, la ovulación puede producirse hacia el final de este periodo. (Rosenstein, E. 1992).

Signos:

- 1.- La perra tiende a estar inquieta.
- 2.- Puede perder ocasionalmente el apetito.
- 3.- Incrementa la ingestión de agua y subsecuentemente aumenta el número de micciones.
- 4.- La hembra libera feromonas (en orina y en las secreciones vaginales), que la vuelven atractiva al macho.
- 5.- No permite ser montada por el macho, e inclusive puede ser agresiva con él. (Jones, E. . D., Joshua, O. J. 1982).

Figura II.- Molde de corrosión proveniente de una perra en fase de proestro. (Vista ventrodorsal).



(RI): riñón izquierdo. (VOI): vena ovárica izquierda. (RO): ramas ováricas. (RT): ramas tubáricas. (RUBO): ramas uterinas. (VS): venas segmentales. (VA): venas arcuatas. (AO): arteria ovárica. (AU): arteria uterina. (ROAO): rama ovárica de la arteria ovárica. (RTAO): rama tubárica de la arteria ovárica. (RUAO): rama uterina de la arteria ovárica. (AS): arterias segmentales. (AA): arterias arcuatas. (Jhonston, D. J., Kuztritz, M. 2001).

3.4.- Estro (Celo)

Dura en promedio 9 días aunque es muy variable comienza cuando la perra admite por primera vez el coito, finaliza cuando la perra rechaza el coito, el flujo procedente de la vulva puede ser menos copioso y menos hemorrágico aunque esto no es un hecho constante es decir, algunas perras muestran un flujo escaso durante el proestro y estro, otras tienen un flujo (sanguinolento) abundante que persiste tras el fin del estro.

La ovulación tiene lugar generalmente hacia el inicio del estro; sin embargo, como las respuestas del comportamiento no son constantes en la perra y puede variar mucho el tiempo que tardan los folículos en desarrollarse, puede suceder lo siguiente: (Edward, W. 1992).

- 1.- La ovulación puede producirse durante un proestro de duración normal (tan pronto como 7 días tras su inicio).
- 2.- La ovulación puede presentarse tan tarde como 23 días tras el inicio del proestro; la perra seguirá siendo receptiva hasta este momento.
- 3.- El momento de la ovulación puede no ser constante durante los celos sucesivos en la misma perra.

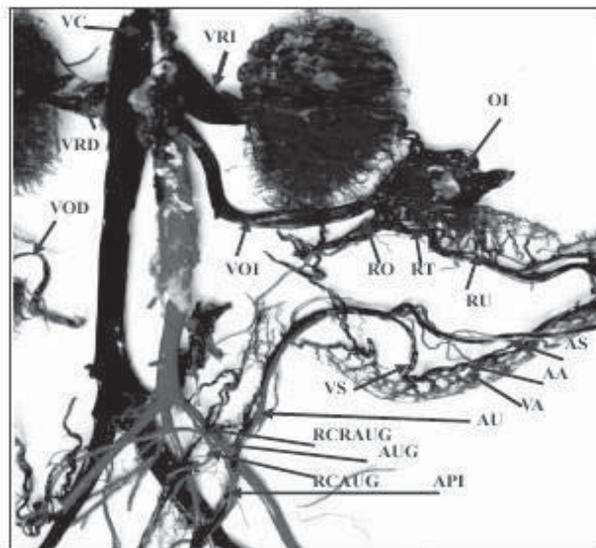
La ovulación tiene lugar generalmente durante un periodo de 72 horas, la mayoría de las ovulaciones se producen 24-48 horas después de que la hormona luteinizante alcanza su nivel máximo en el plasma. Como el espermatozoide

del perro puede vivir hasta 7 días en el tracto genital de la hembra, y como los óvulos no son fertilizados con facilidad hasta 3 días después de la ovulación, las perras que son cubiertas por más de un macho pueden llegar a parir camadas mixtas. (Feldman, C. E., Nelson, W. R., 1996).

Signos:

1. La perra busca activamente al macho para aparearse.
2. Atracción de machos desde grandes distancias debido a que la liberación de feromonas en este momento es máxima.
3. La hembra permite la monta.
4. La perra desvía y mantiene la cola sobre un lado y expone la vulva al arquear el dorso.
5. Existe tensión en los miembros pélvicos para sostener el peso del macho durante la monta.
6. La vulva está menos edematizada y se vuelve flácida para favorecer la penetración.
7. El sangrado puede existir aún o volverse mas acuoso o amarillento.
(Jones, E. D., Joshua, O. J., 1982).

Figura III. Molde de corrosión proveniente de una perra en fase de estro. (Vista ventrodorsal).



(OI): ovario izquierdo. (VC): vena cava caudal. (VRI): vena renal izquierda. (VRD): vena renal derecha. (VOI): vena ovárica izquierda. (VOD): vena ovárica izquierda. (RO): ramas uterinas. (VS): venas segmentales. (VA): venas arciformes. (API): arteria pudenda interna. (AUG): arteria urogenital. (RCAUG): rama caudal de la arteria urogenital. (AU): arteria uterina. (AS): ramas segmentales. (AA): arterias arcuatas. (Jhonston, D. J., Kuztritz, M. 2001).

3.5.- Metaestro (Diestro)

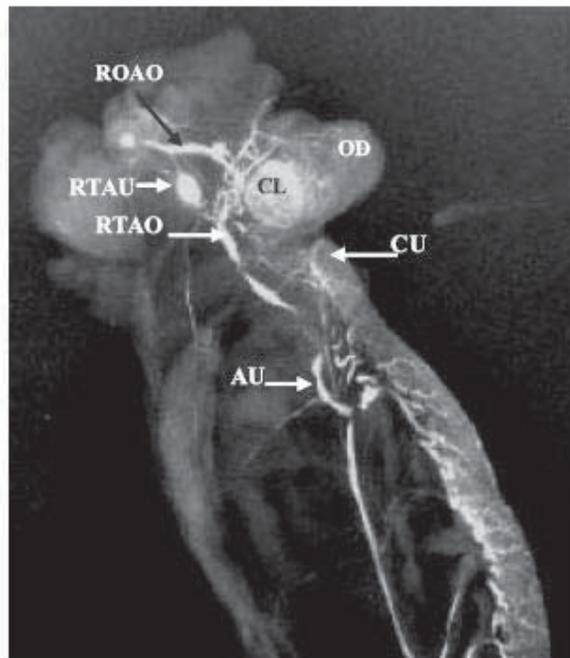
La palabra metaestro se utiliza tradicionalmente para describir la mayor parte de la fase lútea de la perra; existen pocas razones lógicas para esto, y es más exacta la palabra diestro. (Edward, W. 1992).

Comienza cuando la perra rechaza el coito por vez primera, dura unos 60 días y termina cuando son mínimas las concentraciones de progesterona circulante, no existen manifestaciones clínicas que señalen el final del metaestro, la vulva aparece gradualmente menos tumefacta y suele cesar el flujo hemorrágico, puede desarrollarse un flujo vulvar mucoide, como en la gestación, al final del metaestro se presenta con frecuencia una pseudo gestación. (Sisson, S. y Grossman, J. D., 1986).

Signos:

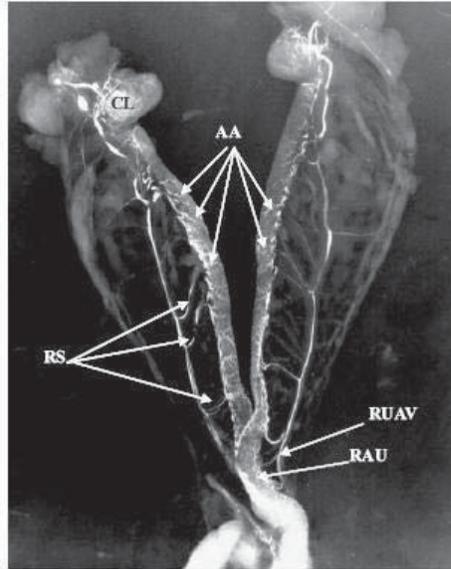
- 1.- La hembra rechaza la cópula.
- 2.- La vulva retorna a su tamaño normal y pierde flacidez.
(Jones, E . D., Joshua, O. J., 1982).

Figura IV.- Radiografía proveniente de una perra en fase de metaestro (diestro) temprano.



(OD): ovario derecho. (AU): arteria uterina. (RTAO): rama tubárica de la arteria ovárica. (ROAO): rama ovárica de la arteria ovárica. (RTAU): rama tubárica de la arteria uterina. (CL): cuerpo lúteo. (CU): cuerno uterino. (Jhonston, D. J., Kuztritz, M. 2001).

Figura V.- Radiografía de un espécimen proveniente de una perra en fase de metaestro (diestro) temprano.



Obsérvese en el ovario derecho la presencia de un cuerpo lúteo (CL) y el gran número de vasos sanguíneos que están a su alrededor. (AA): arterias arcuatas. (RS): ramas segmentales. (RUAV): rama uterina de la arteria vaginal. (RAU): ramas de la arteria uterina. (Jhonston, D. J., Kuztritz, M. 2001).

3.6.- Anestro.

Constituye el periodo de inactividad ovárica entre el final del metaestro de la gestación y el comienzo del siguiente proestro, su duración puede ser muy variable, es decir, de 1 mes a 2 años, aunque generalmente es de unos 4 meses esta duración puede ser influenciada por: (Mc. Donal, E. L., Pineda, H, M. 1989).

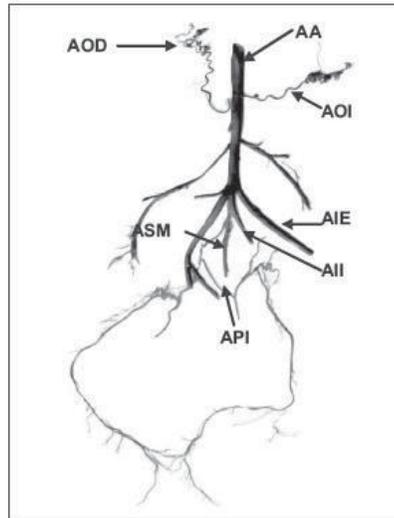
1.- Época del año: Algunas perras mantienen la tendencia primitiva de un periodo de proestro/estro por año, por ejemplo las de raza basenji; en otras razas muchas hembras pueden iniciar el proestro/estro durante la primavera con preferencia a otras épocas del año.

2.- Feromonas: Las perras que se mantienen juntas suelen mostrar proestro/estro en la misma época aproximadamente; se cree que los olores de una perra en fase de estro pueden estimular a las otras.

3.- Factores desconocidos: Sigue siendo un misterio la señal que pone en marcha el desarrollo folicular en la mayoría de las perras.

4.- La presentación del proestro puede predecirse en algunas perras por cambios en su pelo. (Mc. Donal, E. L., Pineda, H, M. 1989).

Figura VI.- Molde de corrosión proveniente de una perra en fase de anestro. (Vista ventrodorsal).



(AA): arteria aorta abdominal. (AOI): arteria ovárica izquierda. (AOD): arteria ovárica derecha. (aod): arteria ovárica derecha. (AIE): arteria iliaca externa. (AII): arteria iliaca interna. (ASM): arteria sacra media. (API): arteria pudenda interna. (Jhonston, D. J., Kuztritz, M. 2001).

4.- ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL

4.1.- Hormona liberadora de gonadotrofina. (GnRH, LHRH)

Es liberada de forma pulsátil en el hipotálamo, llega a la glándula pituitaria anterior a través de una vía sanguínea especializada (porta). Se fija a las células que producen hormona luteinizante de los folículos (FSH) y hormona luteinizante (LH) para estimular su producción y liberación se cree que diferencia una selección cualitativa pulsátil para liberar FSH o LH. Su efecto sobre los receptores es transitorio al ser baja la afinidad de fijación; la hormona GnRH es liberada rápidamente por los receptores y metabolizada con rapidez. (Edward, W. 1992).

4.2.- Hormona estimulante de los folículos. (FSH)

Una gonadotrofina producida y liberada desde la glándula pituitaria anterior, es responsable de estimular el desarrollo de los folículos en los ovarios. No se conocen los factores que inician su liberación, no han sido bien determinadas las concentraciones circulantes en las perras. (Edward, W. 1992).

4.3.- Hormona luteinizante. (LH)

Una gonadotropina producida y liberada desde la glándula pituitaria, es liberada en forma de pulsaciones o ráfagas cortas la frecuencia de las pulsaciones aumenta 1-2 semanas antes de comenzar el proestro. Estimula la maduración, luteinización y ovulación de los folículos ováricos, las concentraciones circulantes aumentan rápidamente hasta alcanzar un máximo unas 48 horas antes de que se produzca la mayoría de las ovulaciones (las mismas pueden producirse durante un periodo de 72 horas) este máximo tiene lugar generalmente al final del proestro o comienzo del estro, esta hormona es también luteotrofica (mantiene el funcionamiento de los cuerpos lúteos). (Edward, W. 1992).

4.4.- Estrógenos.

Hormonas esteroides producidas en la perra por los folículos en crecimiento. Principalmente 17^a - estradiol, 17B- estradiol y estrona, algunos de los cuales pueden ser conjugados, las concentraciones circulantes aumentan un poco durante algunos días antes del inicio del proestro, posteriormente se produce un aumento brusco de sus concentraciones en sangre, alcanzando un máximo de unas 48 horas antes de la oleada de LH. Los estrógenos determinan cambios que tienen lugar en el proestro. (Concannon, W. P., Temple, M., Montantes, A. and Frank, D. 1993).

- a) Flujo vaginal (hemorragia uterina).
 - b) Engrosamiento de la mucosa vaginal.
 - c) Cambio en la consistencia de la mucosidad cervical.
 - d) Tumefacción de la vulva.
 - e) Producción de feromonas.
- (Edward, W. 1992).

4.5.- Progesterona.

Una hormona esteroide producida por los folículos maduros y por los cuerpos lúteos, las concentraciones circulantes empiezan a aumentar cuando los estrógenos alcanzan un máximo; la hormona es producida por las células de la granulosa en vías de luteinización en los folículos intactos, los valores en el plasma aumentan de forma constante y se incrementan de forma importante en el momento de la ovulación, las concentraciones máximas se alcanzan unos 20 días después de finalizado el estro, se encuentra la perra en gestación o no, posteriormente se produce un descenso gradual en sus valores hasta ser mínimos unos 60-70 días después de la ovulación. (Edward, W. 1992).

4.6.- Prolactina.

Producida y liberada por la glándula pituitaria anterior, actúa sobre la glándula mamaria (preparada por la acción de los estrógenos y de la progesterona) para estimular la producción de leche, sus concentraciones en sangre suelen aumentar según descienden las concentraciones de progesterona, aunque en algunos casos la progesterona puede estimular la liberación de prolactina, la prolactina provoca síntomas de pseudo gestación en algunas perras, en perras lactantes, las concentraciones de prolactina en sangre son muy altas durante algún tiempo después del parto, la prolactina es asimismo luteotrófica (mantiene el funcionamiento de los cuerpos lúteos). (Edward, W. 1992).

4.7.- Andrógenos.

Se desconocen las funciones de estas hormonas en la perra, las concentraciones de testosterona en la sangre alcanzan un máximo al mismo tiempo que la LH, las concentraciones de androstenediona son elevadas durante el metaestro y la gestación y van seguidas de cerca por las de progesterona. (Concannon, P. W. 1989).

4.8.- Prostaglandinas.

La producción espontánea de prostaglandina por el útero no es responsable de la lisis de los cuerpos lúteos, tal como sucede en otras especies, los cuerpos lúteos de la perra parece ser que dejan de ser funcionales de forma gradual debido bien a la ausencia de un apoyo trófico (posiblemente LH y prolactina) o porque tienen un ciclo vital limitado, la prostaglandina provoca la lisis final de los cuerpos lúteos de la gestación que en este momento producen muy poca progesterona en comparación con momentos anteriores. (Concannon, P. W. y Battista, M. 1984).

5.- DETECCIÓN DE LA OVULACIÓN

5.1.- Elección del momento más propicio para la monta

Para detectar el período de ovulación en una perra en celo, el criador cuenta con diversos medios de precisión variable que resultan complementarios:

El apareamiento practicado sistemáticamente diez días después de las primeras pérdidas de sangre y repetido dos días más tarde es un método práctico para el criador. Sin embargo, alrededor del 20% de las perras ovulan fuera de este período, de manera que no son fecundadas o sólo procrean unos pocos cachorros, lo cual representa un evidente "lucro cesante". (Colby, E. 1970).

Las pérdidas vulvares de color más claro que aparecen después del sangrado señalan, por lo general, el fin del proestro, pero no son un indicio confiable de ovulación, puesto que las hembras de algunas razas, como el Chow-Chow, pueden presentar pérdidas sanguíneas hasta el final del estro. (Colby, E. 1970).

La receptividad sexual y la lateralización de la cola tampoco son exclusivas de la ovulación. Por ejemplo, se ha observado que las perras Dobermann son sexualmente receptivas desde el inicio del proestro aunque, en casos extremos, pueden llegar a ovular 30 días más tarde. (Colby, E. 1970).

Varias perras se dejan también cubrir en otras ocasiones:

- Durante el pseudocelo del parto.
- En caso de infecciones urinarias.
- En caso de ninfomanía secundaria a la secreción de estrógenos quiste folicular (quiste ovárico secretor).

La resistividad del moco vaginal suele disminuir inmediatamente después de la ovulación, lo que indica el fin del período de impregnación estrogénica y por lo tanto, la rápida renovación de células vaginales. Lamentablemente, su medición brinda la posibilidad diagnóstica demasiado tardía para ser utilizada en la cría de perros, ya que resulta más útil prever la inminencia de la ovulación que asistir al hecho consumado. Por esta razón, sumada al costo de los galvanómetros y al riesgo considerable de contaminación entre perras, este método prácticamente no se usa en los criaderos. (Colby, E. 1970).

Las tiras reactivas que permiten detectar las variaciones de la concentración de glucosa en el moco vaginal son difíciles de introducir lo suficientemente lejos en la vagina como para evitar la dilución con orina. Los resultados son generalmente imprecisos (se observa cambio de color durante los tres días anteriores o posteriores a la ovulación) y por lo tanto, poco fiables.

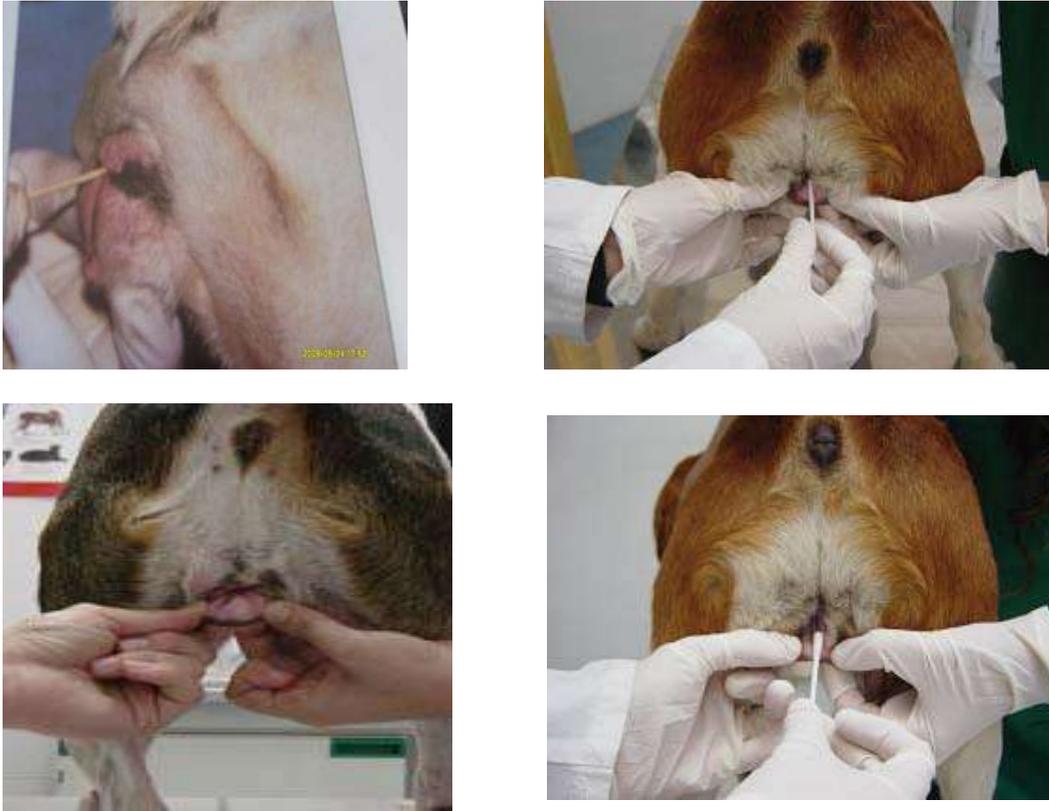
Según la tinción utilizada, los frotis vaginales permiten visualizar directamente el cambio de aspecto de las células vaginales, el cual se correlaciona con las variaciones hormonales, en especial con la variación en la concentración de estrógenos. (Colby, E. 1970).

5.2.- Realización del frotis vaginal.

Después de observar la hinchazón vulvar y pinzar la comisura hacia abajo, se introduce verticalmente un hisopo hacia la pared superior de la vagina, para evitar la fosa del clítoris. Cuando se alcanza la parte superior y más profunda de la vagina, se coloca el hisopo en posición horizontal y se conduce lo más lejos posible, sin forzar. Se recogen entonces alrededor del cuello uterino, con

movimientos circulares, las secreciones y las células provenientes de la exfoliación del epitelio cervical. (Hart, B. L. 1974).

Figura VII, VIII, IX y X.- Tomar de muestra para la citología vaginal



Imágenes que muestran diferentes métodos de toma de muestra para realizar una citología vaginal. (Wildt, D. E., Seager, S. W. y J. Chakraborty, P. K. 1981).

5.2.3.- Procedimiento para la realización del frotis

- Observación directa del hisopo

Se examina el aspecto del hisopo, que es habitualmente rojo al comienzo del celo, rosado o incoloro al finalizar el proestro y purulento en caso de infección vaginal o uterina. (Sorribas, C. E. 2005).

- Extendido del frotis

Se hace rodar delicadamente el extremo del hisopo sobre un portaobjetos previamente desengrasado, cuidando de no pasar dos veces por el mismo lugar, para no crear agregados de células. (Hoogeweg, F. 1970).

Figura XI.- Extendido de la muestra en el porta objetos

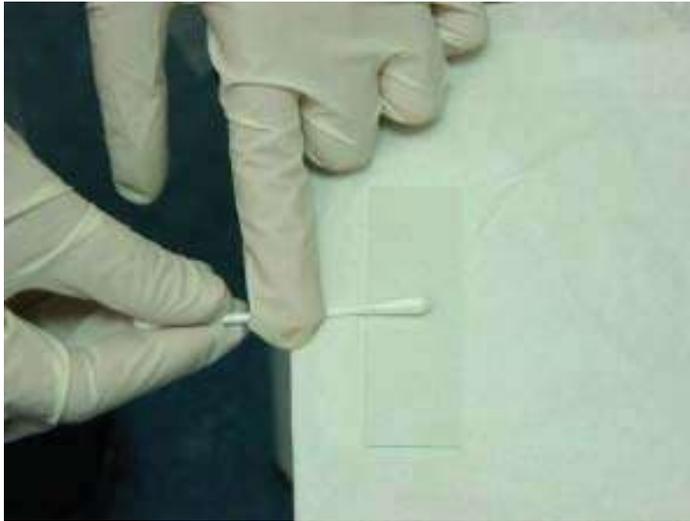


Imagen que muestra el proceso para el extendido del frotis, el cual consiste en colocar el contenido del hisopo deslizando con movimientos giratorios en un portaobjetos. (Hoogeweg, F. 1970).

- Fijación del frotis

La muestra se puede fijar con un fijador para células, para enviarla al veterinario para que realice el examen, o se puede teñir y realizar un examen inmediato. (Hoogeweg, F. 1970).

Figura XII.- Secado de la muestra



Imagen que ilustra el secado de la muestra, el cual puede realizarse con un aparato expulsor de aire caliente. (Linde – Forsberg C. y Forsberg M. 1989).

- Tinción del frotis

Existen diversas técnicas de coloración, que aportan información complementaria:

Las tinciones monocromáticas (por ejemplo, con azul de metileno) brindan información acerca de la forma de las células, pero colorean el citoplasma (espacio intracelular) de todas las células de manera idéntica. Por ejemplo, la tinción de May Grunwald Giemsa permite diagnosticar una infección al revelar la presencia de glóbulos blancos polimorfo nucleares (células que aparentan poseer varios núcleos). (Linde – Forsberg C. y Forsberg M. 1989).

La tinción de Harris Schorr, más larga y tediosa, aporta sin embargo datos mucho más completos que las coloraciones precedentes. La observación debe centrarse en:

El aspecto del fondo del frotis ("sucio" y cubierto de glóbulos rojos al inicio del proestro que se aclara paulatinamente hasta el estro).

El aspecto de las células, las cuales, paulatinamente, adquieren el aspecto de "patatas fritas" comificadas (queratinizadas) y cambian de color, pasando de azul (basófilo), al principio del celo, a rojo (ácido-filo) durante el estro; esta observación permite estimar el grado de eosinofilia del frotis (porcentaje de células vaginales rojas).

La tendencia progresiva de las células a formar agregados.

La presencia eventual de células parabasales (ovoides y azules), que indica el viraje del frotis; o de polimorfonucleares (raros en período del estro) o incluso de espermatozoides. (Linde – Forsberg C. y Forsberg M. 1989).

Figura XIII.- Fijadores que se usan para la tinción la muestra.



Imagen que muestra los fijadores que se utilizan para la tinción y fijación de la muestra de la citología vaginal. (Jhonston, D. J, Kuztritz, M. V. y Olson, P. 2001).

5.2.4.- Interpretación del frotis

Los frotis vaginales, además de permitir estimar el momento de la ovulación, tienen otras indicaciones.

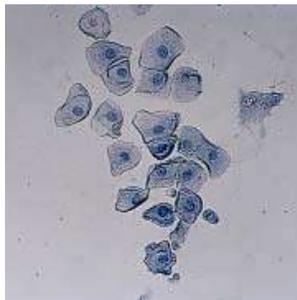
Tras la fuga de una perra o cuando existen sospechas de cópula con un macho no calificado, el veterinario puede investigar la eventual persistencia de espermatozoides (hasta 6hrs después del coito). Cuando se encuentran espermatozoides, es posible estimar el riesgo de fecundación, según la fase del ciclo sexual. Por ejemplo, si la perra se encuentra en el anestro, al comienzo del proestro o en el post-estro, el riesgo es mínimo y, en cualquier caso, mucho menos grave que el relacionado con un aborto médico precoz de conveniencia.

Asimismo, los frotis permiten determinar la pertinencia de ciertos tratamientos, posibles durante el período de anestro, pero contraindicados durante los períodos de actividad sexual (por ejemplo, la mayoría de los tratamientos hormonales). (Jolivet, M. R. 1987).

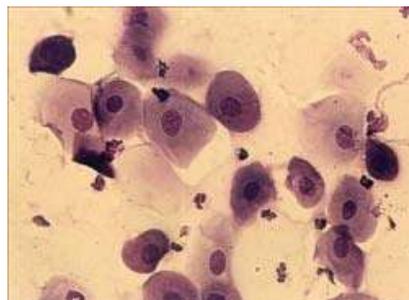
Por último, los frotis contribuyen, junto con las determinaciones hormonales, al diagnóstico de ciertas causas de infertilidad (celo silencioso o anovulatorio, persistencia de un cuerpo lúteo secretor, infección vaginal, etc.). (Jolivet, M. R. 1987).

Los frotis vaginales son muy útiles en el campo de la cría de perros, tanto por sus indicaciones como por la facilidad con que se practican, su rapidez y su bajo costo. Sin embargo, cuando la interpretación de un frotis resulta dudosa o no concuerda con los datos clínicos (por ejemplo, en las perras Chow-chow, que presentan a menudo una queratinización precoz de las células vaginales), o cuando es importante determinar con exactitud el momento de la ovulación para desplazar a la perra para una cubrición o realizar una inseminación, el criador puede completar este análisis con un medio más preciso, la determinación de la concentración de progesterona en la sangre (Jolivet, M. R. 1987).

Figura XIX y XV.- Láminas con las fases de proestro y estro observadas desde el microscopio.

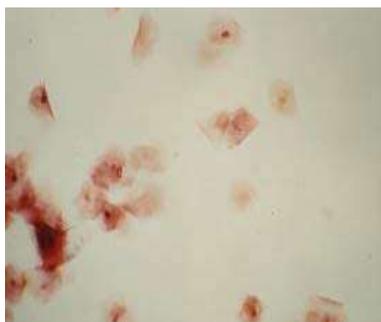


Células vistas desde el microscopio en fase del proestro.

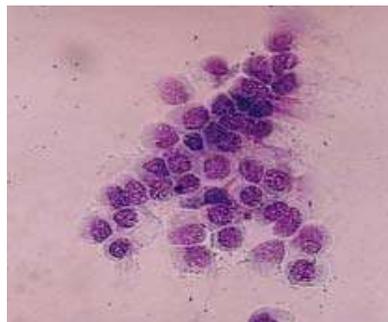


Células vistas desde el microscopio en la fase del estro.

Figura XVI y XVII.- Láminas con las fases de metaestro y anestro observadas desde el microscopio.



Células vistas desde el microscopio en fase del metaestro.



Células vistas desde el microscopio en fase del anestro.

(Jolivet, M. R. 1987).

Cuadro I.- Tabla descriptiva de células observadas en frotis vaginal en diversos estados fisiológicos y patológicos

	CPB	CI	CS	GR	GB	BA	DE	MU	ESP
Anestro	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-
Proestro temprano	+	+	-	+	+/-	-	-	+/-	+/-
Proestro tardío	-	+	+	+	-	+/-	+/-	-	+/-
Estro	-	+/-	+	+/-	-	+/-	+/-	-	+/-
Estro silente	-	+/-	+	+/-	-	+/-	+/-	-	+/-
Diestro	+	+	-	-	+	-	-	+	-
Preñez	+	+	-	-	+	-	-	+	-
Tumor células granulosas	-	-	+	+	-	+	+	-	-
Endometritis	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Piómetra cerrada	+	+	-	-	+/-	-	-	+	-
Piómetra abierta	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-

CPB= Células parabasales; CI= Células intermedias; CS= Células superficiales; GR= Glóbulos rojos; GB= Glóbulos blancos; BA= Bacterias; DE= Detritus; MU= Mucus; ESP= Espermatozoides. (Dreier, K. 1998).

5.2.5.- Determinación de LH en la sangre

La lutropina u hormona luteinizante (LH), capaz de transformar el material nutritivo de los ovocitos (folículos rotos) en cuerpos lúteos productores de progesterona, es secretada por la hipófisis y desencadena la ovulación. La detección del pico de secreción de LH permite poner en evidencia, de manera precoz, la ovulación, en vez de sus consecuencias (aumento de la progesteronemia). Lamentable, fuera de algunas indicaciones precisas en el diagnóstico de infertilidad, esta determinación no forma parte de los exámenes

de rutina realizados en los criaderos. (Grandjean, D., Pierson, P., Cacciani, F., Pawlowiez, S., Michallet, T. 2003).

6.- INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La inseminación artificial (IA) se define como la transferencia de espermatozoides del macho a la hembra por medios diferentes al servicio natural. Esta biotecnología puede ser de moderada o alta complejidad, y de bajo o mediano costo, según la técnica y el tipo de semen utilizado (fresco, refrigerado, o congelado).

Antes de planear una inseminación artificial (IA) o recogida de semen, para su preparación, se obtendrá una muestra de semen del perro, para determinar su calidad y familiarizar el animal con el procedimiento. (Grandjean, D., Pierson, P., Cacciani, F., Pawlowiez, S., Michallet, T. 2003).

6.1.- Técnicas de inseminación:

6.1.2.- De semen fresco.

Material:

- Uno o dos embudos de cristal o plástico.
- Uno o dos tubos de ensayo de cristal o plástico, el plástico no se romperá, aunque debido a su peso ligero puede ser desalojado de la mano por la cola o una extremidad del perro.
- Un baño maría manteniendo preferentemente de forma automática a 37°C.
- Un soporte para tubos de ensayo en el baño maría.
- Porta objetos y cubre objetos.
- De forma ideal, un “dispositivo calentador” capaz de mantener un cubreobjetos a 37°C. (una botella plana de agua caliente puede servir para colocar los portaobjetos sobre la misma y mantenerlos calientes).
- Pipetas.
- Colorante nigrosina/eosina.
- Un microscopio con objetivo de inmersión para grandes aumentos.
- Una cámara Neubauer para recuento de células.
- Equipo para diluir el esperma al 1/200.

(Grandjean, D., Pierson, P., Cacciani, F., Pawlowiez, S., Michallet, T., 2003).

Obtención del semen:

- La perra se sujeta convenientemente por la cabeza o el cuello.
- Se deja que el perro olfatee y lama la vulva de la perra.

- Cuando el perro se muestra interesado, y antes de que intente montar a la hembra, se sujeta su pene (generalmente con la mano derecha del operador manteniéndose el perro a la izquierda).
- Si el bulbo del glande no aparece tumefacto, el prepucio será empujado hacia atrás para dejar expuesto todo el glande.
- Si el bulbo del glande no aparece tumefacto (erecto), se realizarán movimientos de vaivén sobre el prepucio para estimular la erección inicial.
- Si el bulbo del glande aparece demasiado inflamado no es posible sacar el glande del pene del prepucio; el perro será separado de la hembra hasta que haya remitido la erección, o puede intentarse recoger el semen con el glande en el interior del prepucio; sin embargo este proceder puede resultar incomodo para el perro.
- Tras exponer el bulbo del glande, se sujeta la base del glande entre los dedos índice y pulgar; se mantiene sujeto con firmeza o se le aplican contracciones rítmicas.
- La presión sobre la base del pene estimulará la tumefacción del bulbo del glande con o sin movimientos de empuje por parte del perro.
- Con independencia de una tumefacción prematura del bulbo del glande, un problema importante aparece cuando se intenta exponer el pene en razas de pelo largo, y en razas pequeñas en las que resulta difícil la sujeción del pene.
- Durante los movimientos violentos de empuje no es momento para la recogida del eyaculado porque será la primera fracción carente de espermatozoides.
- Si es recolectada la primera fracción, se verá que es clara.
- Tras la expulsión de la primera fracción se eyacula la segunda fracción (rica en espermatozoides y de color blanco), mediante 4-10 contracciones uretrales; si es posible se recogerá por separado en un segundo tubo de ensayo.
- En ocasiones el volumen de la primera fracción puede aproximarse a 5 ml; si posteriormente un perro nervioso no elimina la fracción rica en espermatozoides, será preciso efectuar una recogida posterior.
- Tras la expulsión de la fracción rica en espermatozoides, pueden producirse varias contracciones uretrales no productivas hasta que es eyaculada la tercera fracción.

- Si la segunda fracción es muy concentrada y de pequeño volumen, pueden ser precisos varios “chorros” de la tercera fracción para arrastrarla del embudo de recogida y llevarla al tubo de ensayo.
- La mayor parte de la tercera fracción es recogida en el tubo de ensayo que contiene la primera fracción, o se deja que el perro acabe de eyacular sobre el suelo.

2.- Solamente se utiliza la segunda fracción (rica en espermatozoides); la misma se recoge de forma independiente.

3.- La movilidad es comprobada rápidamente en el microscopio.

4.- Para cada inseminación se utiliza un eyaculado, es decir, no constituye un procedimiento para aumentar el número de perras inseminadas.

5.- Si se produce retraso entre la recogida y la inseminación, no se dejará que la muestra se enfríe con demasiada rapidez, la inseminación deberá efectuarse en un plazo de 15 minutos.

6.- Las tasas de gestación son del 60% aproximadamente.

(Grandjean, D., Pierson, P., Cacciani, F., Pawlowicz, S., Michallet, T., 2003.)

Figura XVIII.- Extracción y recolección de semen de un perro



Imagen que muestra el procedimiento que se ha de llevar a cabo para realizar la extracción y recolección del semen de un perro macho.

Procedimiento de inseminación:

Para inseminar a la hembra se eleva el tercio posterior de ésta favoreciendo la penetración del semen. Se introduce una sonda en la vagina llegando hasta el fondo de la misma y con una jeringa se impulsa el semen. Posteriormente se mantiene durante cinco o diez minutos para evitar el reflujo del semen.

6.1.3.- De semen refrigerado.

Diluyente:

- 1.- Se calienta leche de vaca pasteurizada pobre en grasa hasta que comienza a hervir a fuego lento; posteriormente se deja enfriar en un recipiente limpio.
- 2.- No se añaden antibióticos de forma rutinaria al semen del perro a menos que se encuentre intensamente contaminado con bacterias.
- 3.- El diluyente se mantiene a 37°C en baño maría.

Material:

- 1.- Frasco termo de boca ancha.
- 2.- Papel de seda para aislamiento.
- 3.- Cubos de hielo.
- 4.- Información sobre el perro donante, por ejemplo pedigree, nombre, raza, número en el libro genealógico número del centro reproductor.
- 5.- Si la muestra se envía fuera se precisa como documentación suplementaria:

en algunos países es necesario un certificado del estado sanitario del perro.

Algunos países piden un certificado en el que se asegure que el perro presenta dos testículos descendidos normalmente.

Algunos países imponen que el suero del perro sea analizado para determinar que no contiene anticuerpos de leptospirosis de *Brucella canis* antes de efectuar la recogida de semen.

Figura XIX, XX y XXI.- Procedimiento para introducir el semen a la perra



Imágenes que muestran el procedimiento a seguir para realizar la inseminación a una perra. (Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. 1985).

Procedimiento de inseminación:

Para inseminar a la hembra se eleva el tercio posterior de ésta favoreciendo la penetración del semen. Se introduce una sonda en la vagina llegando hasta el fondo de la misma y con una jeringa se impulsa el semen. Posteriormente se mantiene durante cinco o diez minutos para evitar el reflujo del semen.

6.1.4.- Inseminación artificial con semen congelado

Objetivos:

La inseminación artificial con semen congelado responde a objetivos primordialmente genéticos. Dada la conservación casi ilimitada de la capacidad fecundante del esperma en nitrógeno líquido a -196°C , el semen puede utilizarse varios años después de su recogida y congelación.

Esta técnica permite por tanto:

Utilizar el esperma de un semental, incluso si este ya no se encuentra disponible (muerte, enfermedad, accidente) o sea vendido; los perros de edad avanzada que ya no son aptos para la cubrición pueden utilizarse si se ha tomado la precaución de congelar su esperma durante su juventud.

Ayudar a preservar las razas caninas en peligro de extinción.

Utilizar racionalmente un semental de valor genético conocido en un acoplamiento programado; así, se facilitan mucho los cruzamientos consanguíneos intergeneracionales y comunes en selección canina.

Favorecer los intercambios internacionales de semen, sobre todo en caso de barreras sanitarias, así como su envío a regiones mal comunicadas del país; las indicaciones para la utilización de semen congelado dentro de un mismo país pueden ser las mismas que las refrigeradas al semen refrigerado (particularmente cuando se sabe que la escasa disponibilidad de un macho determinado no permitirá, probablemente, recoger y expedir el esperma en el momento oportuno). (Farstad, W. y Andersen, V. 1989., Fontbonne, A. y Badinand. F 1992 y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

Los objetivos que se persiguen durante la inseminación artificial con semen congelado son muy diferentes de aquellos que la misma técnica puede tener en la especie bovina; efectivamente, el esperma canino está poco concentrado (una media de 500×10^6 a la sexta espermatozoides por eyaculado frente a $4\,000 \times 10^6$ a la sexta en el toro o $25\,000 \times 10^6$ a la sexta en el verraco por ejemplo) y la cantidad de espermatozoides que se requiere para la inseminación de la perra es elevada, mucho más que en los bovinos. Además, la congelación destruye cierta proporción de células, y con un eyaculado congelado solo se puede inseminar un número reducido de perras (dos como

promedio). La técnica no permite, por tanto, una gran disseminación del potencial genético de un perro macho, y no reemplaza ni puede reemplazar, a la cubrición natural. (Farstad, W. y Andersen, V. 1989., Fontbonne, A. y Badinand. F 1992 y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

La congelación del semen debe permitir la ulterior realización de una inseminación artificial con éxito. Ahora bien, el espermatozoide es un medio vivo, y por lo tanto, frágil y mortal, y su congelación requiere tecnologías complejas. Asimismo, para protegerlo durante las etapas en las que la temperatura desciende hasta alcanzara la del nitrógeno líquido (-196°C), y posteriormente durante el brusco aumento de la temperatura en el momento de la descongelación, hay que mezclarlo con un diluyente apropiado.

El diluyente para la congelación es un medio natural o artificial, donde el espermatozoide se encuentra protegido de los cambios de temperatura y donde mantiene su capacidad fecundante durante un periodo suficiente a las bajas temperaturas de congelación.

Las propiedades ideales de un diluyente son, por tanto: isotonicidad, capacidad nutritiva, capacidad tampón eficaz, efectivo antioxidante, acción estabilizante, acción protectora, actividad antibacteriana, buena actitud para conservarse de forma fácilmente utilizable. (Farstad, W. y Andersen, V. 1989., Fontbonne, A. y Badinand. F 1992 y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

Desde la década de los 50, numerosos trabajos de investigación han tenido como objetivo la puesta a punto de diluyentes eficaces. En la especie canina, los diluyentes cuya composición se ha duplicado, contienen:

Coloides (yema de huevo la mayoría de las veces y, en ocasiones, leche).

Azúcares (glucosa, fructosa o lactosa).

Iones y sustancias tampón (en general, citrato sódico, y, a veces, bicarbonato sódico).

Antibióticos o sustancias antibacterianas (penicilina, hidroestreptomicina, sulfamidas).

Crioprotectores (el glicerol es la sustancia más utilizada, a una proporción comprendida entre al 4 y el 9% del volumen final).

Otras sustancias como el trihidroximetilaminometano (TRIS), permiten, entre otras cosas, evitar el choque térmico, minimizar la formación de cristales de hielo intracelulares durante el enfriamiento y la congelación, particularmente cuando la velocidad de esta última es demasiado lenta. En este caso, al principio de la congelación, parte del agua se diluye y se cristaliza en forma de agua pura. En el resto de la solución (espermatozoides más lo que queda del diluyente) aumenta la concentración de solutos, lo que provoca la salida de agua de las células. Si la congelación completa tiene lugar de manera demasiado lenta, los espermatozoides, que no pueden contraerse

indefinidamente, sufren degradaciones en sus membranas, que son muy perjudiciales para la conservación del poder fecundante. (Farstad, W. y Andersen, V. 1989., Fontbonne, A. y Badinand. F 1992 y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

El semen congelado se acondiciona la mayoría de las veces en forma de pajuelas, pero algunos centros de Estados Unidos lo preparan en platillas, cuya identificación y manipulación son menos fáciles. (Farstad, W. y Andersen, V. 1989., Fontbonne, A. y Badinand. F 1992 y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

Material:

1. Recipientes para realizar baño maría.
2. Pajuelas.
3. Microscopio.

Procedimiento de inseminación:

El semen en pajuelas debe descongelarse en un baño maría de agua tibia. Los resultados, en términos de movilidad de los espermatozoides, parecen mejorar aún más mediante descongelación a alta temperatura (hasta +80 °C), pero en este caso conviene limitar el tiempo de contacto de la pajuela con el agua caliente que la rodea y la manipulación es más delicada.

Por razones prácticas evidentes, la mayoría de los usuarios realizan la descongelación en un baño María a 37 °C. La descongelación se consigue en 10 segundos, pero es preferible dejar que las pajuelas se empapen entre 45 y 60 segundos con el fin de recalentar el diluyente y facilitar la lectura de la mitad inicial después de la descongelación.

En cualquier caso, el centro proveedor de las pajuelas especifica la técnica de descongelación correspondiente a la forma de congelación previa. Tras la descongelación, las pajuelas deberán secarse una a una. El veterinario que realiza la inseminación deberá verificar la identidad de cada una de ellas (el centro expedidor proporciona el código de identificación).

A continuación, se cortan los dos extremos con tijeras y se vierte su contenido en un tubo. (Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. 1985).

Cuando se utilizan pastillas, la descongelación se realiza en un líquido apropiado que generalmente se expide junto con las pastillas. El centro expedidor indica la forma de uso.

Tras la descongelación, conviene verificar la motilidad examinando una gota en un microscopio con platina termógena; esta última debe adecuarse a las indicaciones del centro expedidor. (Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. 1985).

En la especie canina y con los conocimientos hoy disponibles, únicamente el semen con más del 50% de espermatozoides móviles tras la descongelación puede considerarse aceptable. (Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. 1985).

6.1.5.1.- De inseminación intravaginal

6.1.5.1.- Tipos de técnicas

- *Técnicas francesas*

Se introduce una jeringa de vidrio en las vías genitales, con la perra de pie o, sobre todo en las razas pequeñas, en decúbito dorsal, lo que permite un acceso ginecológico más fácil. La jeringa debe penetrar en la vagina hasta una profundidad de al menos 6-8 cm en las hembras pequeñas y 8-12 cm, en las grandes.

Conviene, antes de retirar la jeringa, levantar los miembros posteriores de la perra con el fin de evitar el reflujo de esperma hacia el exterior.

Se mantiene al animal apoyado sobre los miembros anteriores durante 5 minutos aproximadamente. (Létard, E., Szumowski, P. y Theret, M., 1957).

- *Técnicas norteamericanas*

Se utiliza una técnica muy similar. El material está constituido por una sonda de inseminación bovina de plástico rígido de 18 pulgadas (45 cm) de longitud, conectada a una jeringa por medio de un tubo de goma. La perra se mantiene en la posición «de carretilla» durante aproximadamente 5 minutos, período durante el cual se desencadenan las contracciones vaginales mediante la introducción de un dedo enguantado en la vagina para estimular el clítoris y el techo vaginal. Dichas contracciones acelerarán la subida de los espermatozoides por las vías genitales, reproduciendo lo que acontece durante el acoplamiento natural. (Seager, W. y Fletcher, W. 1973).

- *Utilización de la sonda Osiris*

El material se compone de un tubo de plástico flexible, que se adapta a la anatomía de la vagina y cuyo extremo está rodeado por un globito que se puede inflar y que, como el pene del perro en erección, evita la salida de semen hacia atrás y estimula las contracciones vaginales en la perra inseminada.

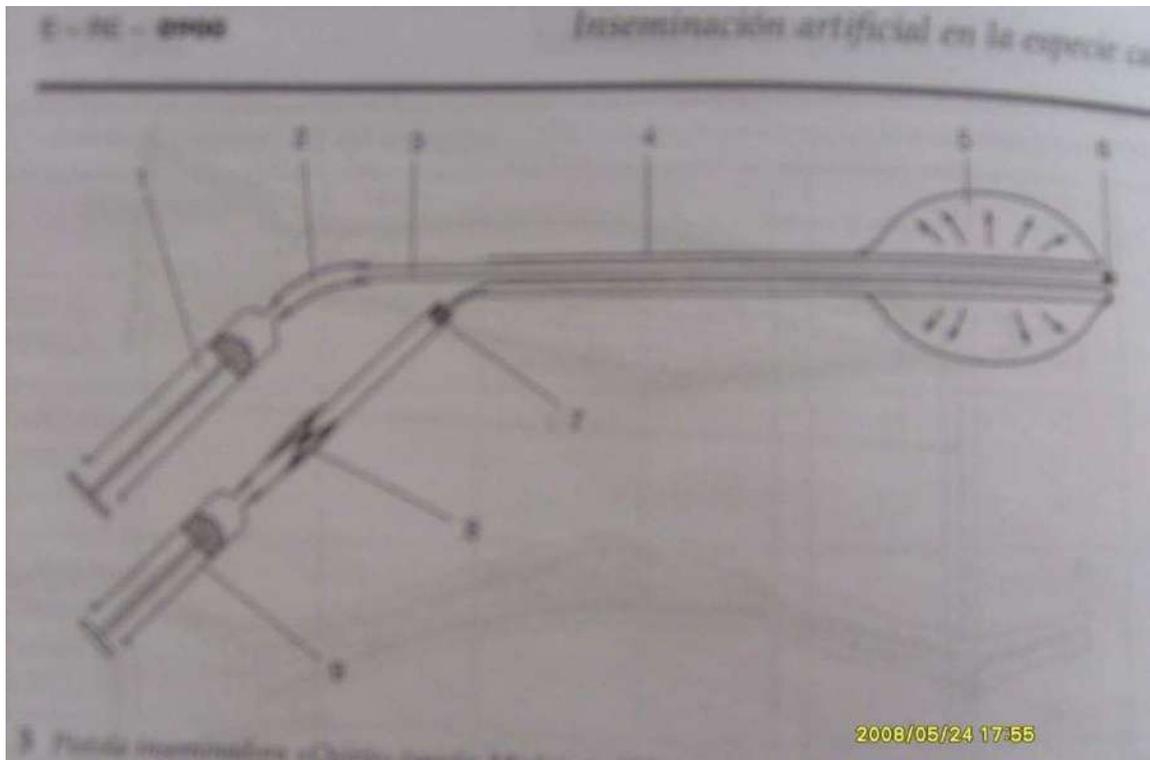
La sonda se introduce lo más profundamente posible. El globito se infla a continuación hasta que el cuerpo de la sonda, que traspasa la comisura vulvar, inicia un ligero retroceso. Se cierra la entrada de aire mediante una pinza clamp. El semen se introduce entonces hasta el fondo de la vagina.

Según el fabricante, no es obligatorio mantener la parte posterior de la perra en una posición más elevada.

La experiencia cotidiana del autor con este material muestra, sin embargo, una estanqueidad insuficiente en la zona de contacto globo-pared vaginal y riesgo de reflujos del semen.

Es preferible, por tanto, mantener a la perra en la posición de carretilla durante 10 minutos. (Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. 1985).

Figura XXII.- Imagen de una inseminación intravaginal



En este procedimiento se deberá colocar una muestra del esperma directamente dentro de su vagina, depositándolo en una zona cercana al cuello uterino. (Mialot, J., Dumon C. 1985).

6.1.6.- Inseminación intrauterina

Material:

- Cateter de plástico
- Jeringas
- Sonda rígida urinaria
- guantes

Procedimiento de inseminación:

La inseminación intrauterina se reserva para la inseminación con semen congelado o semen de mala calidad, debido a que es una técnica de mayor complejidad y costo, y que requiere de un entrenamiento especializado. La inseminación intravaginal se realiza con un catéter plástico, de distintas medidas según el tamaño de la perra, al que se adosa en su extremo una jeringa conteniendo el semen a inseminar, siendo posible utilizar asimismo una sonda rígida urinaria. En algunos casos, el dedo índice, enguantado, ayuda a evitar la fosa del clítoris y la uretra. El catéter o la sonda se introduce dorso-cranealmente, con la perra en estación. Una vez ubicado el catéter lo más craneal posible en la vagina, se descarga el semen completamente. Por último, se llena la jeringa con aire y se descarga, a fin de evitar que quede semen retenido en el espacio muerto del catéter. Los miembros posteriores de la hembra se elevan inmediatamente por alrededor de 10 minutos masajeando conjuntamente la región vulvar a fin de estimular las contracciones uterinas, evitando el reflujo de semen y facilitando el transporte de los espermatozoides hacia el aparato genital craneal.

Al ser extremadamente difícil atravesar el cuello del útero en condiciones normales, algunos autores se han decantado por depositar el semen directamente en el útero mediante laparotomía. Este es el caso del equipo alemán de Günzel Appell, de Hanover, que obtiene así tasas de fecundación interesantes con semen congelado. (Günzel, A., 1989).

6.1.7.- Inseminación transcervical

Material:

Se describe una técnica de cateterismo del cuello uterino. Para ello utiliza un material constituido por un catéter metálico, un tubo de plástico y una jeringa. Todos estos instrumentos deben ser estériles. (Andersen, K. 1980).

Procedimiento de inseminación:

La perra, previamente medicada con xilacina (de 0,2 a 0,4 ml de solución al 2%, por vía intravenosa) a fin de inducir un relajamiento abdominal sin que se acueste, se coloca sobre una mesa, sujeta por un operador. El tubo hueco de plástico, a modo de espéculo, se introduce con una mano y se lleva por la pared dorsal de la vagina hasta que tropieza en la parte posterior del cuello (o más bien, del pseudocérvix). Con la otra mano, la persona que realiza la operación intenta mantener el cuello que se ha localizado por palpación transabdominal. El catéter se introduce seguidamente en el espéculo y, por tanteo, atraviesa el cuello y penetra en el útero; esta manipulación puede durar entre 30 segundos y 15 minutos. (Fontbonne, A. y Badinand, F. 1992).

Hay fracasos, sobre todo en perras demasiado grasas en las cuales el cuello es difícil de localizar. En un cierto número de animales (aproximadamente el 10%), por razones desconocidas, no se puede traspasar el cuello (recordemos que este último se vuelve mucho más voluminoso durante el celo, y más difícil de atravesar). (Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda). (Wilson, M. 1992).

Recientemente se han puesto a punto técnicas de inseminación transcervical mediante endoscopia, que se utilizan sobre todo en países anglosajones (Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda). (Wilson, M. 1992).

6.2.- ELECCIÓN DE LA TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.

En cualquier caso, convendrá ser muy consciente de que el principal factor de éxito de la inseminación artificial en la especie canina es la determinación lo más exacta posible del período óptimo para la fecundación de la perra, que los medios modernos (extensiones vaginales y medición de la concentración de progesterona en sangre) permiten establecer con la máxima precisión (véase el artículo correspondiente). (Goodman, M., Cain J. 1993. y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

La inseminación intrauterina, que hace posible depositar toda la dosis de semen más allá del cuello, debería, teóricamente, permitir la optimización de los resultados. En la práctica, varios autores han puesto de manifiesto que el porcentaje de éxito en el caso de inseminación artificial con semen fresco o refrigerado, a condición de que dicho semen sea de buena calidad, es ya óptimo tras una inseminación intravaginal y que no sirve de nada llevar a cabo, en estos tipos de inseminación, un depósito intrauterino. De acuerdo con la experiencia del autor, esto parece ser efectivamente así, aunque él prefiere realizar las inseminaciones con semen refrigerado por vía intrauterina transcervical, siempre que esto es posible.

En cuanto a las inseminaciones con semen fresco, el autor las efectúa por vía intravaginal con la sonda Osiris, que da unos resultados óptimos. (Goodman, M., Cain J. 1993. y Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. 1993).

En cuanto al semen congelado, la inseminación intrauterina permite aumentar el porcentaje de resultados satisfactorios en casi un 20%, y parece mejorar igualmente la prolificidad.

Esta técnica es interesante cuando se efectúa una inseminación artificial con esperma de mala calidad, ya sea fresco (semental con semen oligoterato, astenozoospermico, perro de edad avanzada con un semen de menor calidad que los animales más jóvenes, etc.) o refrigerado (menos del 50% de los espermatozoides móviles). (Fontbonne, A. y Badinand. F 1992).

Cuadro II.- Porcentajes de efectividad de cada inseminación artificial

TIPO DE INSEMINACIÓN	% DE PREÑECES
Semen fresco	
Inseminación intravaginal	65-95 %
Semen refrigerado	
Inseminación intravaginal	60-80%
Semen congelado	
Inseminación intravaginal	55-60%
Semen congelado	
Inseminación intrauterina	60-80%
Semen natural	85-90%

(Andersen K. 1975).

Si bien la inseminación artificial es una herramienta más del proceso reproductivo, el servicio natural es el más efectivo. Además hay que ser muy cuidadoso y ético ya que a través del proceso de inseminación artificial se pueden perpetuar defectos genéticos que no se transmitirían si se mantuviera el servicio natural. (Kibble, R. 1969).

7.- CONCLUSIONES

En la actualidad la inseminación artificial es uno de los métodos más usados para la reproducción animal, y así mismo existen diferentes métodos para realizarla sin embargo, no es suficiente con decidir efectuar una inseminación o elegir algún tipo de técnica, por lo que es importante conocer los factores tanto ambientales como propios del macho y de la hembra que puedan causar alteraciones en el proceso.

Ante lo cual considero de suma importancia conocer el funcionamiento fisiológico y endocrinológico del aparato reproductor del macho y de la hembra, para facilitar el estudio de los canis familiaris a inseminar, pues recordemos que el ciclo estral de la hembra y la posibilidad de que el macho expulse el semen se modifica por factores como la raza, el ambiente entre otros.

En cuanto a la técnica de inseminación se refiere, es elemental que se sigan todos y cada uno de los pasos que el proceso seleccionado indique, puesto que una falla en los diversos indicadores podría originar el fracaso de la operación, por lo cual se enfatiza, que dicho proceso sea llevado por un experto en el campo de la medicina veterinaria, pues sólo el estará capacitado para sustituir o agregar algún paso en el procedimiento de la inseminación artificial.

Finalmente la eficacia o el fracaso de la inseminación artificial se determina por la forma, la continuidad y la disciplina con que se realice el método de la inseminación, y no por la elección del tipo de inseminación que se vaya a efectuar, puesto que todos los métodos aquí mencionados refieren un alto grado de confiabilidad si son realizados correctamente.

BIBLIOGRAFIA

- Andersen, K. (1975). *Insemination with frozen dog semen based on new insemination technique*. Atlas de Reproducción Canina. Inter-médica.
- Andersen, K. (1980). Fertility of frozen dog semen Acta. Vet. Scand 13, 128-130.
- Arnold, S., Arnold, P., Concannon, P., Weilenmann, R., Hubler, M., Casal, M., Dobeli, M., Fairburn, A., Eggenberger, E., Rurch, P., (1989). *Effect of duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy an the complications of hyper-oestrogenism in dogs*. Journal Reprod. Fert. Suppl. 39. pp. 115-122
- Banks, J. (1996). *Histología Veterinaria Aplicada*. (Ed. 2nd) El Manual Moderno. (México DF). 639-671.
- Cain, J. L., Lasley, B. L., Cain, G. R., Feldman, E. C. y Stanbenfeldt, G . H. (1989). *Induction of ovulation in bithces withpulsatile of continuos infusion of GnRH*. Journal Reprod. Fert.
- Colby, E. (1970). *Induced estrus and timed pregnancies in cats*. Lab. Anim. Care. 20.
- Concannon, W. P., Temple, M., Montantes, A. y Frank, D. (1993). *Synchronous delayed oestrus in beagle bitches give infusions of gonadotrophin-releasing hormone superagonist following with drwal of progesterone implnts*. Journal Rprod. Fert.
- Concannon, P. W. (1989). *inducción of fertile Oestrus in anoestrus dogs by constant infusion of GnRH agonist*. Jornal Reprod. Fert. Suppl. 39. pp. 149-160.
- Chaffaux, S., Locci, D., Pontois, M., Deletang, F., Thibier, M. (1984). *Induction of ovarian activity in anoestrous Beagle bitches*. Br. Vet. J.
- Del Campo, C. y Ginther, O. (1972). *Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: guinea pigs, rats, hamster and rabbits*. Jour. Vet. Res.
- Dobrowolski, W. y Hafez, E. (1970). *Ovaryuterine vasculature in sheep*. Jour. Vet. Res.
- Dreier, K. (1998). *Reproduction Notes*. En: *Second module of the continuing education programme in South America*. Buenos Aires, Argentina.

Edward, W. (1992). Publicado por Blackwell Scientific Publications Limited, Oxford. *Fertility and obstetrics in the dog*. 1a. ed. España: Acribia.

Englad, G. y Concannon, P.W. (2002). *Determinación del momento óptimo en la perra: Consideraciones básicas*. In Concannon, P.W.; England, G., Verstegen III. J. and Linde-Forsberg, C. (Eds.), *Recent Advances in Small Animal Reproductions*. International Veterinary Information Service, Ithaca, N.Y. (www.ivis.org).

Ettinger, S J, Feldman, E. R. (1995). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Ed. Saunders Philadelphia (United States); p.1664-1662

(Farstad, W. y Andersen, K. (1989). *Factors influencing the success rate of artificial insemination with frozen semen in the dog*. J. Reprod. Fert.

Feldman, C. E. y Nelson, W. R. (1996). *Endocrinología y reproducción canina y felina*. México: Interamericana Mc. Graw-Hill. Mexico.

Fontbonne, A.; Buff, S. y Garnier, F. (2001). *Recent Data in Canin Reproductive Physiology and Hormones*. Summa.

Fontbonne, A. y Badinand, F. (1992). *Canine artificial insemination with frozen semen*. J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 323-327.

Getty, R. (1982). *Anatomía de los animales domésticos*. 5ª. Salvat.

Goodman, M., Cain J. (1993). *Retrospective evaluation of artificial insemination with chilled extended semen in the dog*. J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 554.

Günzel, A., (1989). *Insèmination artificielle de la chienne*. Congres annuel de la C. N. V. S. P. A., paris.

Grandjean, D., Pierson, P., Cacciani, F., Pawlowiez, S. y Michallet, T. (2003). *Guía práctica de la crianza canina*. 3a. ed. Francia: Aniwa.

Hàfez, E. S. (1989). *Reproducción e inseminación en animales*. 5a ed. Mèxico, D.F.:Interamericana Mc. Graw-Hill.

Hart, B. L. (1974). *Physiology of sexual function*. Clinica. North. Am. 4.

Hoogeweg, F. 1970. *Superfetation in a cat*. JAVMA 1156

Jolivet, M. R. (1987). *Uterine torsión in a pregnant cat*. Modern Veterinary Practice.

Jones, E . D., y Joshua, O. J., (1982). *Problemas Clínicos de la Reproducción Canina*. Mèxico: Manual Moderno.

Jhonston, D J, Kuztritz, M V R, Olson, P. (2001). *Canine and feline theriogenology*. Ed. Saunders. Philadelphia (United States); 16:287-306.

Kibble, R. (1965). *Artificial insemination in dogs*. Aust.

Kirk, W. R. y Banagura, D. J. (1994). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 12a ed. México: Interamericana Mc. Graw-Hill.

Linde-Forsberg, C. y Forsberg, M. (1993). Results of 527 *controlled artificial insemination in dogs*. J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 313-323.

Létard, E., Szumowski, P. y Theret, M., (1957). *Insèmination artificielle chez le chien*. Rec. Mèd. Vèt.

Mialot, J., Dumon C. y Cassou, B. (1985). *Insèmination artificielle de la chienne: mise en plase de semence fraiche avec le pistolet souple "Osiris"*. Prat. Mèd. Chir. Anim. Comp. 20, 213-220.

Mc. Cracken, J.; Glew, M. y Scaramuzzi, R. (1970). *Corpus luteum regression induced by prostaglandin*. 2a.ed. J. Clin. Endocrinol. Metanol.

Mc. Donal, E. L. y Pineda, H. M. (1989). *Endocrinología veterinaria y reproducción*. 4a ed. México: Interamericana Mc. Graw-Hill.

Millar, Evans L. (1972). *Diseccción del perro*. Interamericana.

Paisley, L., Fahning, M. (1977). *Effects of exogenous follicle estimulatín hormona in biches*. J. Am. Vet. Med. Assoc.,

Pemberton, P. L. (1984). *Control del comportamiento canino y felino: Terapia con progestina*. En *Terapeutica Veterinaria*. Editado por Kirk, R. B. México: Continental.

Pradere, J. (2002). *Derivaciones arteriovenosas en el pedículo vascular uteroovárico de la perra (Canis familiaris)*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay. Venezuela. (Trabajo de Ascenso).

Rosenstein, E. (1992). *Prontuario de Especialidades Medicas*. 38a. ed. México, D. F. PLM.

Seager, W. y Fletcher, W. (1973). *Artificial insemination and frozen semen in the dog*. Vet. Clin. North Am.

Sisson, S. y Grossman, J. D. (1986). *Anatomía de los animales domésticos*. México, D.F.: Salvat.

Sokolovsky, J. H.; Zinbelman R. G.; Goyings L. S. (1978). *Canine reproduction, reproductive organs, and related structures of the nonporous and post-partum bitch*. Jour Vet Res.

Sokolowski, J., Medernach, R., Helper, L. (1968). *Exogenous hormone therapy to control the estrous cycle of the bitch*. J. Am. Vet. Med. Assoc.

Sorribas, C. E. (2005). *Superfetaciones en gatos*. Pet`s. Ciencia 2.

Thun, R., Watson, P., Jackson, G. L. (1977). Induction of estrus and ovulation In the bitch, using exogenous gonadotropins.

Vatti, G. (1980) *Ginecología y obstetricia veterinaria*. Mexico, D. F.:UTEHA.

Wildt D E, Seager S W. J.;Chakraborty, P. K. (1981). *Behavioral ovarian and endocrine relationships in the pubertal bitch*. J. Anim. Sci. 53; 182-191.

Wilson, M. (1992). *Non-surgical intrauterine artificial incemination in bitches using frozen semen*. J. Reprod. Fértíl. Suppl. 47, 307-311.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

Comparación de resultados entre métodos de inducción de estro en perras.

Recuperado el 7 de abril de 2008 en:

(<http://www.ansi.okstate.edu/course/3443/study/Notes/comp-dog/>)

(http://www.foyel.com/cartillas/20/citologia_vaginal_canina.html)

www.perrosargentinos.com.ar

http://www.infomascota.com/articulos/veterinaria/perros/2001/10/23/perros_veterinaria/index.html

http://www.infomascota.com/articulos/veterinaria/perros/2001/10/23/perros_veterinaria/index.html