

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Inseminación intravaginal en caninos utilizando  
semen refrigerado de 5 días”.**

**TESIS**

**POR**

**ALESSANDRA RODRÍGUEZ LEAL**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA**

**JUNIO DE 2011**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Inseminación intravaginal en caninos utilizando  
semen refrigerado de 5 días”.**

**TESIS**

**POR**

**ALESSANDRA RODRÍGUEZ LEAL**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**ASESOR:**

**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ**

**TORREÓN, COAHUILA**

**JUNIO DE 2011**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**“Inseminación intravaginal en caninos utilizando  
semen refrigerado de 5 días”.**

**TESIS**

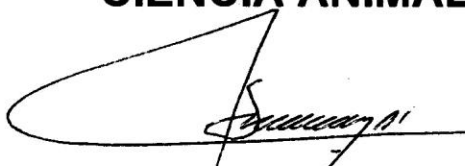
**APROBADO POR EL COMITÉ  
PRESIDENTE DEL JURADO**



---

**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE  
CIENCIA ANIMAL**



---

**M.V.Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO**



**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**“Inseminación intravaginal en caninos utilizando  
semen refrigerado de 5 días”.**



---

**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ  
PRESIDENTE**



---

**M.V.Z. EDMUNDO GUZMÁN RAMOS  
VOCAL**



---

**M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ  
VOCAL**



---

**M.V.Z. CUAUHTÉMOC FELIX ZORRILLA  
VOCAL SUPLENTE**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

Por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida y lograr otra meta más en mi carrera.

### **A MIS PADRES**

Por su cariño, comprensión y apoyo sin condiciones ni medida. ya que jamás en toda mi carrera me faltó absolutamente nada.

### **A MIS HERMANOS**

Por su apoyo en todo este tiempo y nunca haber perdido la fe en mi, y demostrarme cariño incondicional a pesar de estar lejos.

### **A MI NOVIO PEPE**

Por su amor, apoyo y comprensión durante mis practicas profesionales y en la elaboración de mi tesis. Que sacrificamos muchos momentos juntos para ello.

### **AL M.V.Z. CARLOS RASCÓN DÍAZ**

Por su disposición, apoyo, dedicación, esfuerzo, paciencia, amistad en mi formación como alumno y su tesista. Tanto dentro como fuera de la escuela.

### **A MIS MAESTROS**

Ya que con su enseñanza, consejos y amistad brindada, he llegado a terminar mis estudios.

### **A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS**

Con los cuales compartí muchas experiencias tanto buenas como malas durante mi estancia y me brindaron su apoyo.

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES:**

Por su apoyo incondicional, por todos los consejos, sacrificios y sobre todo por el amor que me brindan desde el momento que nací hasta este día tan importante en mi vida, que es el entregar una hija profesionalista.. mil gracias padres.

### **A Mis Hermanos**

**Andy:** gracias hermana por compartir todo tu amor y amistad que tenemos desde siempre, te quiero.

**Poncho:** gracias hermano por soportarme tantos años y aguantar mis bromas tan pesadas, te quiero.

### **A MIS ABUELOS**

Por los consejos y la educación que me brindaron durante mi infancia.

### **AL MVZ CARLOS RAUL RASCÓN DIAZ:**

Por su dedicación en mi formación como medico veterinario y elaboración de mi tesis, también por su apoyo y amistad y sobre todo haber sido como un padre para mi.

### **A TODAS MIS MASCOTAS:**

Que viven conmigo y las que ya no están aquí, así como a todo animal viviente y todos aquellos que me ayudaron en el transcurso de mi carrera.

**Para la persona que me comprende y entiende todo lo que sucede en mi alma.. a ti mi amor con todo mi corazón... Pepe...**

## INDICE

Introduccion..	1
----------------	---

### I. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

1.1 Órganos genitales de la hembra.....	2
1.1.2. Ovarios.....	2
1.1.3. Trompas uterinas.....	3
1.1.4. Útero.....	3
1.1.5 Cérvix.....	4
1.1.6 Vagina.....	4
1.1.7 Vestíbulo vaginal.....	4
1.1.8 Genitales externos.....	5
1.1.8.1 Vulva.....	5
1.1.8.2 Clítoris.....	5
1.1.8.3 Uretra femenina.....	6
1.1.8.4 Glándulas mamarias .....	6

### II. ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN

2.1 Hormonas Hipotalamicas.....	6
2.1.1 Hormona Liberadora de Gonadotropina (GnRH) .....	6
2.2 Hormonas Hipofisarias.....	7
2.2.1 Hormona Folículo Estimulante ( FSH ) .....	7
2.2.2 Hormona Luteinizante (LH ) .....	7
2.2.3 Prolactina.....	8
2.3 Hormonas foliculares.....	8
2.3.1 Estrógenos.....	8
2.3.2 Progesterona.....	9
2.3.3 Prostaglandina.....	10

### III. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

3.1 Fisiología de la reproducción de la hembra.....	10
3.1.1 Ovogénesis.....	10
3.1.2 Fisiología del ciclo estral.....	11
3.1.3 Etapas del ciclo estral	
a) Proestro.....	12
b) Estro.....	14
c) Diestro.....	16
d) Anestro.....	16

#### **IV. MÉTODOS DE DIAGNOSTICO DEL ESTRO**

4.1 Citología vaginal.....	18
4.1.1 Clasificación de células vaginales .....	19
4.1.2 Tipos de células presentes en cada fase del ciclo estral	
4.1.2.1 Proestro.....	20
4.1.2.2 Estro.....	20
4.1.2.3 Diestro.....	20
4.1.3 Técnica de citología vaginal exfoliativa.....	21
4.2 Frotis Salival como diagnóstico del estro. ....	22
4.2.2 Historia del frotis saliva.....	22
4.2.1 Frotis salival.....	23

#### **V. HISTORIA DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

5.1. Origen de la inseminación artificial.....	25
5.1.1 Historia de la inseminación artificial en caninos.....	25



## **VI. INSEMINACION ARTIFICIAL EN CANINOS**

6.1	Objetivos de la inseminación artificial en caninos.....	28
6.1.1	causas de uso de la inseminación artificial en hembras .....	29
6.1.2	Dosis de inseminación.....	30
6.1.3	Técnica de la Inseminación artificial intravaginal.....	30
6.1.4	Ventajas y desventajas de la inseminación artificial en caninos.....	33
6.1.5	Limitaciones de la inseminación artificial en caninos.....	34

## **VII. CARACTERÍSTICA DEL SEMEN REFRIGERADO**

7.1	Semen fresco vs. refrigerado.....	35
-----	-----------------------------------	----

<b>VIII. OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
-----------------------------	-----------

<b>IX. HIPÓTESIS.....</b>	<b>37</b>
---------------------------	-----------

<b>X. MATERIAL Y METODOS.....</b>	<b>37</b>
-----------------------------------	-----------

<b>XI. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
----------------------------	-----------

<b>XII. DISCUSIONES.....</b>	<b>41</b>
------------------------------	-----------

<b>XIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
--------------------------------	-----------

<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>44</b>
--------------------------	-----------

## **INDICE DE TABLAS**

### **CUADRO # 1**

Se muestra las perras inseminadas con semen fresco y refrigerado, también se observa el tamaño de camada que presentó cada una de las hembras en el estudio.....	40
--	----

## **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1 . Técnica de inseminación artificial.....	31
--	----

## RESUMEN

Si bien la inseminación artificial se define como la transferencia de espermatozoides del macho a la hembra, por medios diferentes al servicio natural (Vega Gordon, 1998). En las especies de interés zootécnico, es una biotecnología usada principalmente con el objeto de producir el mejor material genético (Mc Donald, 1975). En lo cual varia el costo, según la técnica y el tipo de semen utilizado (fresco, refrigerado, congelado).

La fisiología reproductiva de la perra es compleja, lo que ha provocado que los propietarios o los médicos veterinarios se confundan al recomendar el momento preciso para la cruce. El ciclo estral de la perra presenta ciertas particularidades a diferencia del ciclo de otras especies domésticas, por lo tanto el conocimiento de las características reproductivas de esta especie es muy importante para optimizar la producción de cachorros (Esquivel, 2002). Ya que existe gran variabilidad en la duración de las etapas del ciclo estral, un ejemplo clásico es el hecho de cruzar a la perra después del día 9 ó cuando el sangrado desaparece, lo que da como resultado un margen de error muy alto ( Allen, 1992; Davol, 2000; Hutchison, 2001; Esquivel, 2002).

En nuestro estudio de inseminación artificial “vaginal”, con el fin de comparar la tasa de preñez y tamaño. El margen de error muchas de las veces no se debe a la técnica, sino la inestabilidad relativa del semen canino cuando se congela o refrigera (Foster y Smith, 2001), pero la mejora de métodos de refrigeración y de equipos de IA; dio a la IA utilidad, como una técnica de reproducción para perros (Farstad, 2000).

En los últimos años, las técnicas de inseminación Artificial en caninos se han aplicado con éxito en investigación básica, para estudiar la maduración del oocito, en fertilización en vitro, criopreservación de embriones y transferencias de embriones en canidos (Farstad, 2000).

Los laboratorios que proporcionan prueba cuantitativas radioinmunes el mismo día o el día siguiente, proporcionarán información más exacta que los equipos de ELISA. Con estos adelantos en manejo reproductivo canino, el uso

exitoso de semen refrigerado y congelado se está volviendo rutinario en perros (Purswell y Parker, 2000).

En el estudio se utilizaron 5 machos y 5 hembras, con diferente peso, raza y clínicamente sanos. Para realizar la técnica de inseminación artificial vaginal, se observo el inicio del proestro, apoyándose con la técnica de citología vaginal exfoliativa; mediante la tinción de Diff Quick y el frotis salival, observándose en ella la arborización (cristalización), por lo tanto de esta manera, teniendo el resultado de la citología vaginal exfoliativa se realizó la inseminación artificial intravaginal; para lo cual el semen colectado fue primeramente evaluado y después en los casos correspondientes se procedió a la refrigeración del mismo, una vez evaluado se realizó la técnica correspondiente a cada ejemplar, en todas las hembras se practicaron 3 inseminaciones, cada una de ellas se aplicaban 2 pajillas de semen, a partir del tercer día del estro. El semen fue refrigerado bajo la técnica de preservación con el kit comercial Chill 5; Teniendo el semen una motilidad del 65-75%, con una morbilidad del 70 %; con una dosis 150 millones de espermatozoides por mililitro, con un volumen por eyaculado de promedio de 3 ml. obteniendo una tasa de preñez del 100% y un tamaño de camada promedio de 3.8 cachorros por perra, concluyendo así, la técnica con semen refrigerado es una buena opción, para los diferentes criadores de razas caninas, ya que es de gran utilidad cuando tenemos un número mayor de hembras, en las cuales podemos dosificar la cantidad de semen obtenido para posteriormente utilizarlo y de esta manera inseminamos un mayor número de hembras con la misma colecta de semen y a su vez podemos recorrer distancias largas o cortas para realizar la técnica, sin tener que movilizar al macho, y en fin un número de ventajas que se mencionan en el contexto del trabajo.

### **PALABRAS CLAVE**

- Semen Refrigerado
- Caninos
- Hospital Veterinario
- Diagnostico De Preñez
- Inseminación

## INTRODUCCIÓN

El primer informe sobre el uso de la inseminación artificial en animales domésticos data de 1780, cuando el abate y filósofo italiano Lázaro Spallanzani obtuvo cachorros después de inseminar una perra con semen fresco (Heape, 1897). En la actualidad y dado que la reproducción y crianza de los perros es una afición de distribución mundial, la preservación de semen y la inseminación artificial en la especie canina se ha constituido en tema de alto interés para los médicos veterinarios y criadores de perros de muchos países (Sánchez, 1998).

Si bien la inseminación artificial se define como la transferencia de espermatozoides del macho a la hembra por medios diferentes al servicio natural (Vega Gordon, 1998). En las especies de interés zootécnico, es una biotecnología usada principalmente con el objeto de reducir el mejor material genético (Mc Donald, 1975). En lo cual varía el costo, según la técnica y el tipo de semen utilizado (fresco, refrigerado). En la especie canina representa además una herramienta clínica entre ellas podemos mencionar.

Hembras nerviosas o con problemas de conducta, que rehúsan el apareamiento o se comporta de manera agresiva con el macho, hembras con vagina estrecha, lo que dificulta la penetración y origina dolor, motivo por lo cual la perra rehuye el apareamiento (Sánchez, 1998). Perros incapaces de montar por enfermedades musculares, artritis entre otros (Vega Gordon 1998).

## **I. ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA PERRA**

### **1.1 ORGANOS GENITALES DE LA HEMBRA**

#### **1.1.2 Ovarios**

Son pequeños, tienen forma oval alargada y son aplanados, y su tamaño depende de la fase del ciclo estral en la que se encuentre la hembra.

La longitud media es de 2 cm.. en la perra ( Allen, 1992; sisson et al., 1993 ). Cada ovario está situado comúnmente a corta distancia ( 1 a 2 cm. ) caudal, o bien, en contacto con polo caudal del correspondiente riñón, y por lo tanto, asienta a la altura de las vértebras L III o L IV, o la mitad del recorrido existente entre la última costilla y la cresta del ilion. El ovario derecho asienta entre la parte derecha del duodeno y la pared abdominal lateral. El izquierdo está relacionado lateralmente con el bazo ( Esquivel, 2002; sisson et al., 1993).

En la perra cada ovario está completamente envuelto por la bolsa ovárica, que tiene una hendidura que se abre centralmente . Las dos capas que forman esta bolsa contienen una gran cantidad de grasa y músculo liso. Se continúan por el cuerno del útero, para constituir el mesosalpinx y el ligamento propio del ovario ( sisson et al., 1993). El ovario es considerado como glándula de función exócrina por la liberación de óvulos ; y de función endocrina por su producción hormonal ( Esquivel, 2002).

### 1.1.3 Trompas uterinas

Las trompas uterinas (falopinas) son estructuras tubulares que tienen de 5 a 8 cm de longitud (Sisson et al., 1993). comunican con el ovario con el útero, constan de un istmo en el extremo uterino y de una ampolla más ancha (cuando se produce fertilización) en el extremo ovárico (Allen, 1992; Esquivel, 2002).

Se encuentran sostenidas por el mesosalpinx y están formados por tres porciones :

- 1) Infundíbulo : Tiene forma de embudo y está cerca del ovario, es la estructura que capta al óvulo cuando es liberado.
- 2) Ampolla: Es la porción media y su lumen es de diámetro más amplio que el istmo.
- 3) Istmo : Es la conexión del cuerno uterino con el oviducto ( Esquivel, 2002).

### 1.1.4 Útero

El cuerpo del útero es muy corto y tiene dos cuernos extremadamente largos (Allen, 1992; Esquivel, 2002; Sisson et al. , 1993). En una perra de tamaño medio, el cuerpo mide 2 a 3 cm y los cuernos 12 a 15 cm de largo ( Esquivel, 2002; Sisson et al., 1993), pero la longitud y la anchura del útero dependen de cambios tanto patológicos como fisiológicos ( Allen, 1992). Estos cuernos son de diámetro uniforme, casi rectos y asientan totalmente dentro del abdomen. Divergen del cuerpo en forma de V hacia el riñón. Sus partes caudales están unidas por el peritoneo ( Sisson et al . , 1993). El cuerpo tiene una capa muscular gruesa (Allen, 1992; Sisson et al., 1993), con una luz estrecha que conecta la vagina con el útero ( Allen, 1992). Dorsalmente, no existe líneas de demarcación entre el

útero y la vagina, pero el cuello uterino es mucho más grueso que la vagina (Sisson et al., 1993).

#### **1.1.5 Cervix**

Es el órgano que separa al útero de la vagina, evitando el contacto del lumen uterino con el exterior, a excepción del momento del parto y del periodo del estro. El conducto cervical en la perra se caracteriza porque es vertical, con la abertura uterina dorsal y la abertura vaginal en posición ventral. El cervix está formado por una capa circular de fibras musculares elásticas y una mucosa formada por un epitelio que contiene células productoras de moco ( Esquivel, 2002).

#### **1.1.6 Vagina**

Es un órgano largo y estrecho, que sirve para la cópula, se encuentra situada entre el cervix y el vestíbulo vaginal (Esquivel, 2002). Se dirige cranealmente desde la unión vestíbulo-vaginal hasta el cuello uterino, a la altura de la 4 o 5 vértebra lumbar ( Allen, 1992).

La vagina está formada por la serosa, una capa muscular formada por fibras musculares gruesas y una mucosa con pliegues longitudinales y pequeños pliegues transversales, que facilitan el aumento de su diámetro y longitud ( Allen, 1992; Esquivel, 2002; Sisson et al., 1993 ). Está cubierta por epitelio estratificado que es influenciado por cambios hormonales ( Allen, 1992).

#### **1.1.7 Vestíbulo vaginal**

El vestíbulo vaginal conecta la vagina y la entrada de la uretra con la abertura genital externa ( Allen, 1992; Sisson et al., 1993). En la unión vestíbulo-

vaginal es importante la presencia de una estructura conocida como cingulum, la cual, constituye un problema para explorar la vagina, ya que es muy estrecha cuando la perra no está en estro ( Esquivel, 2002). La luz vestibular asciende en un ángulo de 60 grados, y posteriormente recorre una distancia corta hacia delante en la pelvis hasta su unión con la vagina ( Allen, 1992).

En el piso vestibulo se encuentra los bulbos vestibulares, que son masas de tejido eréctil relativamente grandes ( homólogos al bulbo peneano del macho), y están comúnmente, unidos centralmente por una especie de istmo ( Esquivel, 2002; Sisson et al ., 1993). Son considerados músculos circulares estriados que conectan el vestibulo y la vulva ( Sisson et el., 1993).

Sobre la pared ventral, en posición craneal a la comisura vulvar ventral se encuentra el clítoris suspendido en un pliegue trasversal de la mucosa ( Allen, 1992).

## **1.1.8 GENITALES EXTERNOS**

### **1.1.8.1 Vulva**

Es la abertura del aparato genital femenino ( Allen, 1992 ). La vulva tiene dos labios gruesos que forman una comisura ventral puntiaguda, la mucosa que la recubre es lisa y de color rojo (Allen, 1992; Sisson et al ., 1993) Está situada en posición ventral al suelo de la pelvis, su tamaño depende de la raza y de la fase del ciclo estral en la que se encuentre la hembra ( Allen, 1992).

### **1.1.8.2 Clítoris**

Es el homólogo del pene en la hembra, es pequeño, ancho y plano, tiene unos 3 a 4 cm de longitud en un animal de tamaño medio ( Esquivel, 2002; Sisson



et al ., 1993). Está situado sobre la pared ventral del vestíbulo, en posición craneal a la comisura vulvar ventral suspendiendo en un pliegue transversal de la mucosa (Allen,1992).

Está formado por el cuerpo y el glande. El cuerpo del clítoris no tiene estructuras eréctiles, está infiltrado de grasa , y su contenido es arterias grandes y numerosos nervios en su parte ventral. El glande está compuesto por tejido eréctil y está situado en una gran fosa. Un pliegue de mucosa se extiende caudalmente sobre el glande y la fosa ( Esquivel, 2002; 2002; Sisson et al ., 1993).

### **1.1.8.3 Uretra femenina**

La uretra es grande, situada en el suelo de la pelvis y la vagina, está marcada sobre el suelo de la vagina, por un engrosamiento longitudinal, que alcanza el vestíbulo ( Sisson et al., 1993).

### **1.1.8.4 Glándulas mamarias**

Son normalmente diez y están dispuestas en dos series, que se extienden desde la parte caudal de la región pectoral hasta la región inguinal y se designan, según su localización, como torácicas (4), abdominales (4), e inguinales (2). Los pezones (papilla mammea) son cortos y sus vértices presentan de 6 a 12 orificios pequeños, llamado conductos excretores ( Sisson et al., 1993).

## **ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN**

### **1.1 Hormonas hipotalámicas**

#### **1.1.1 Hormona liberadora de gonadotropina ( GNRH )**

Es producida en el hipotálamo ( en la base del encéfalo ) y liberada de forma pulsátil y transportada hasta la glándula pituitaria anterior ( adenohipofisis ) mediante un sistema especializado de vasos sanguíneos. Esta hormona de forma selectiva libera la Hormona Folículo Estimulante ( FSH ) y la Hormona Luteinizante (LH) ( Allen,1992; Ruckebusch et al., 1991; Edward,1992).

La hormona liberadora de gonadotropina ( GnRH ), se libera en pulsaciones casi cada dos horas. Su liberación se aumenta por la noradrenalina y el estradiol. También influye en la liberación de GnRH las feromonas que estimulan el bulbo olfatorio y señales luminosas que actúan en la retina. La dopamina, opiodes y endorfinas inhiben la descarga de GnRH. También el tratamiento prolongado con corticosteroide y el estrés tienen una retroalimentación negativa en la producción de GnRH por el hipotálamo. Cuando los niveles de estradiol son altos, el GnRH favorece la producción de la Hormona Luteinizante (LH) en lugar de Hormona Folículo Estimulante (FSH). En contraste, altas concentraciones de progesterona y bajas de estrógenos apoyan una reproducción hipotalámica de GnRH, dando así prioridad a producir FSH ( Ruckebusch et al., 1991 ).

## **1.2 Hormona hipofisiarias**

### **1.2.1 Hormona folículo estimulante ( FSH )**

Es sintetizada y liberada en la adenohipófisis por estimulación de la hormona liberadora de gonadotropina hipotalámica (GnRH ) (Mcdonald,175; Ruckebusch et al., 1991). El efecto en la hembra es la responsable de estimular el desarrollo de los folículos en los ovarios ( Allen, 1992; Ruckebusch et al., 1991 ). No han sido bien determinados las concentraciones circulares en la perra (Allen,1992). Las síntesis y liberación de Hormona folículo Estimulante (FSH), está bajo la influencia de altas concentraciones sostenidas de estradiol. Por el contrario una elevación de progesterona aumenta la producción de GnRH, estimula la producción de FSH ( Ruckebusch et al., 1991).

### **1.2.2 Hormona luteinizante ( LH)**

Es producida en la adenohipófisis por estimulación de la hormona liberadora de gonadotropina hipotalámica( GnRH )( Ruckebusch et al.1999 ). En la hembra es liberada en forma de pulsaciones cortas y la frecuencia de éstas pulsaciones aumenta 1 ó 2 semanas antes de comenzar el proestro. Las concentraciones circulares aumentan hasta alcanzar un máximo 48 horas antes de que ocurra la ovulación, por eso se le conoce como hormona ovulatoria (Mcdonald,1975 Allen,1992; Ruckebusch et al., 1991), y su efecto es de mantener la luteinización folicular en la hembra que ovula (Mcdonald,1975; Ruckebusch et al., 1991 ), por lo cual se considera luteotrófica (mantiene el funcionamiento de los cuerpos luteos )(Allen, 1992).

### **1.2.3 PROLACTINA**

Producida y liberada por la adenohipófisis. Actúa sobre la glándula mamaria para estimular la producción de leche. Sus concentraciones en sangre suelen aumentar de acuerdo a la disminución de las concentraciones de progesterona, aunque en algunos casos la progesterona pueden estimular la liberación de prolactina. La prolactina también es considerada luteotrófica ( mantiene el funcionamiento del cuerpo lúteo).(McDonald,1975; Allen,1992 ; Desachy,2000).

## **1.3 Hormonas foliculares**

### **1.3.1 Estrógenos**

Hormonas esteroideas producidas en la perra por los folículos en crecimiento. Los principales son  $17\alpha$ -estradiol ,  $17\beta$ -estradiol y estrona, algunos de

los cuales pueden ser conjugados. Las concentraciones circulares aumentan poco días antes del inicio del proestro, posteriormente se produce un aumento brusco de sus concentraciones en sangre, alcanzando su máximo 48 horas antes de la oleada de LH ( Allen 1992).

Los estrógenos determinan cambios que tienen lugar en el proestro, como pueden ser : ( Allen, 1992 , Concannon, et al; 2001).

- a) Flujo serosanguinolento vaginal
- b) Engrosamiento de la mucosa vaginal
- c) Cambio en la consistencia de la mucosidad cervical
- d) Tumefacción de la vulva
- e) Producción de la feromonas

### **2.3.2 Progesterona**

Es una hormona esteroide producida por folículos maduros y por el cuerpo lúteo. Las concentraciones circulares aumenta cuando los estrógenos alcanzan su máximo, al final del proestro. La hormona es producida por las células de la granulosa en vías de luteinización en los folículos intactos ( Allen, 1992; Desachy, 2000 ).

Los valores normales en el plasma aumentan de forma constante a un promedio de 2 a 3 ng./ml y se incrementa en el momento de la ovulación a más de 5ng./ml. ( 5 a 8 ng./ml. ), las concentraciones máximas se alcanzan unos 20 días después de la finalización del estro, se encuentra en la perra en gestación o no. Posteriormente se produce un descenso gradual hasta sus valores mínimos, que

son alcanzados 60 a 70 días después de la ovulación ( Allen, 1992, Davol, 2000, Edward et al. 2000; Hutchison, 2001, Concannon et al ; 2001).

### **2.3.3 Prostaglandinas**

En la perra 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 en la perra dejan de ser funcionales de forma gradual debido a la ausencia de un apoyo trófico ( LH y/o prolactina) o porque tienen un ciclo vital limitado ( Allen, 1992 ), de 63 días en la hembras preñadas y de 100 días en las hembras no gestantes ( Esquivel, 2002 ).

## **III. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

### **3.1 Fisiología de la reproducción de la hembra**

#### **3.1.1 Ovogénesis**

En los ovarios , los óvulos se encuentran dentro de folículos que crecen hacia la superficie del ovario. Cuando FSH y LH comienzan a ser secretadas en cantidades altas durante el inicio de la madurez sexual, en los ovarios los folículos comienza su desarrollo. Dentro de estos folículos, se secreta la hormona llamada estrógeno. Esta hormona es un químico biológico que produce cambios fisiológicos y sociales en la perra, que señalará el deseo de aparearse ( Davol, 2000).

La perra ovula liberando un óvulo en un estado de inmaduros conocido como ovocito primario de tal manera que la segunda meiosis concluye después de la ovulación en el segmento distal del oviducto. En estudios in vitro se ha visto que el espermatozoide del perro es capaz de penetrar ovocitos inmaduros y formar el pronúcleo masculino sin embargo el término fertilización se refiere a la fusión del pronúcleo femenino con el masculino, situación que se presenta hasta

la maduración del ovocito. El tiempo exacto de la maduración del ovocito no ha sido determinado aún, sin embargo, algunos estudios sugieren que este fenómeno puede ocurrir desde 2 hasta 6 días después de la ovulación. ( Morton, 1986; Allen,1992; Hutchison , 2001; Esquivel ,2002)

### **3.1.2 Fisiología del ciclo estral**

La fisiología reproductiva de la perra es compleja, lo que ha provocado que los propietarios o los médicos veterinarios se confundan al recomendar el momento preciso para la cruce. El ciclo estral de la perra presenta ciertas particularidades a diferencia del ciclo de otras especies domésticas, por lo tanto el conocimiento de las características reproductivas de esta especie es muy importante para optimizar la producción de cachorros ( Esquivel, 2002 ).ya que existe gran variabilidad en la duración de las etapas del ciclo estral, un ejemplo clásico es el hecho de cruzar a la perra después del día 9 o cuando el sangrado desaparece, lo que da como resultado un margen de error muy alto ( Allen, 1992; Davol, 2000; Hutchison, 2001; Esquivel, 2002).

Antes de la madurez sexual de la perra , se secretan hormonas gonadotropicas en cantidades muy pequeñas y por con siguiente, los ovarios permanecen inactivos. Sin embargo, alrededor de la edad de 6 meses , la hipófisis empieza a secretar los niveles mas altos de las hormonas gonadotropicas llamadas Hormonas Folículo Estimulante ( FSH ) Y Hormona Luteal ( LH ). La elevación de FSH Y LH en la perra darán inicio al ciclo sexual ( Davol, 2000). La edad a la que las perras alcanzan la pubertad es muy variable. La raza es un factor determinante para la presentación del primer estro. Generalmente las perras tienen su primer celo algunos meses después de alcanzar su peso y tamaño adulto, lo que ocurre entre los 6 y 10 meses de edad en las razas pequeñas y entre los 18 y 24 meses en las razas grandes ( Davol, 2000; Esquvel, 2002 ).

Los aumentos cíclicos y disminuciones en FSH y LH , a su vez, controlan los cambios ováricos cíclicos, lo cual, es responsable de los eventos fisiológicos en el ciclo reproductor normal de la perra ( Allen,1992;Davol, 2000; Ruckebusch et al., 19991).

La historia de ciclos estrales anteriores de una perra, ayudará a conocer sus variaciones normales ( Purswell y Parker, 2000), aunque el momento de la ovulación puede no ser constante durante los celos sucesivos en la misma perra ( Allen, 1992).

La perra ha sido clasificada como una hembra monoéstrica ya que presenta un periodo de aceptación sexual en la época reproductiva y en promedio presenta dos celos al año con un intervalo de 6 meses aproximadamente pudiendo variar de 4 hasta 12 meses dependiendo de la raza (Edward et al. 2000; Davol,2001;Esquivel, 2002).

El ciclo reproductivo normal de la perra comprende las cuatro fases : proestro, estro, diestro y anestro (Allen,1992; Davol, 2000; Desachy,2000, Concannon et al. 2001. ), aunque hay autores que consideran una fase de metaestro ( Foster y Smith, 2001), como la cita Ruckebusch (1991).

Ruckebusch ( 1991 ), clasifica el ciclo estral en dos fases :

- a) Fase folicular : que incluye el proestro y el estro.
- b) Fase lútea : que comprende el metaestro y el diestro.

### **3.1.3 Etapas del ciclo estral**

#### **a) Proestro**

También conocido como la fase folicular ( Davol, 2000;Edward et al.,2000). Se considera como el inicio del ciclo estral ( Esquivel, 2002). En el ciclo normal

de la hembra canina, tiene una duración de 7 a 9 días ( Foster y Smith,2001;Allen,1992;Desachy ,2000), aunque hay quien sostiene que normalmente dura de 2 a 21 días ( Storneli et al., 2001; Esquivel,2002;purswell y parket, 2000), y quien afirma que tiene una duración media de 9 días con un rango de 3 a 17 días( Davol,2000;Edward et al; 2000 ), por lo que se exige flexibilidad para acomodar estas grandes variaciones.

El principio de la fase del proestro empieza cuando se observa por primera vez el sangrado y termina cuando la perra se deja que la monte el perro (Edward et al. 2000). Lo indican, la inflamación de la vulva, el tejido externo de la apertura vaginal atracción de machos y el sangrado( Allen,1992;Davol, 2000; Edward, 2000;Foster y Smith; 2001), resultando de una diapedésis y de una ruptura capilar subepitelial del endometrio ( Esquivel,2002). La descarga sanguinolenta puede no verse en algunas perras porque eliminan lamiéndose, también es difícil de identificarla en hembras de pelo largo, y en perras de color negro no se aprecia ( Allen, 1992;Edward et al. 2000;Esquivel, 2002 ). La presentación del proestro se puede predecir en algunas perras por cambios en su pelaje ( Allen, 1992).

En algunos casos la vulva se puede inflamarse varios días antes del inicio de la descarga sanguinolenta, y es posible también que las perras atraigan a perros varias semanas antes del inicio de ésta descarga ( Purswell y Parker, 2000), ya que los perros pueden detectar las feromonas asociadas con elevaciones de estrógenos antes del inicio del proestro clínicamente aparente ( Purswell y Parker, 2000; Foster y Smith, 2001). La emisión de orina en el proestro es más frecuente ( cantidades pequeñas ) para diseminar las feromonas , la perra resulta atractiva para los machos aunque generalmente no permitirá la monta (Allen, 1992; Esquivel, 2002 ).

En esta etapa hay crecimiento folicular, la Hormona Folículo Estimulante (FSH ), es la responsable , bajo su influencia el folículo en desarrollo empieza a secretar concentraciones de estrógenos que van de 25pg/ml. (Edward et al. 2000, Esquivel, 2002). Las cantidades crecientes de estrógenos, secretadas por lo



folículos ováricos, causan que las células de las paredes vaginales tomen una forma distintiva, éste es un proceso conocido como cornificación ( Davol, 2000). Las concentraciones de estrógenos en suero son bastante altas que van desde 5 a 15 pg/ml. durante dos meses antes del inicio de la descarga sanguinolenta ( Purswell y Parker, 2000, Edward et al. 2000).Ambos el nivel de estrógenos y la cornificación vaginal son indicadores útiles de proestro (Davol, 2000). Las concentraciones de progesterona durante todo el proestro, salvo las ultimas 24 a 72h, son bajas ( basal : <0.5 ng/ml). El final del proestro y el principio del estro pueden identificarse por cifras plasmáticas de progesterona que aumenta por arriba de una meseta critica ( 1.0ng/ml, concentración de progesterona necesaria para la inducción de los cambios de conducta típicos del estro. ( Allen,1992; Edward et al. 2000)

## **b) Estro**

La palabra estro deriva del griego oistros que significa deseo manifiesto (Edward et al. 2000;Esquivel,2002). Tiene una duración media de 9 días ( Allen,1992;Edward et al.2000, Davol, 2000), con un rango de 3 a 21 días (Davol, 2000; Esquivel,2002), por lo tanto resulta difícil establecer un patrón estándar para las perras. La receptibilidad a la monta (apareamiento) marca el principio de la marca del estro (Allen, 1992; Edward et al. 2000 ; Davol,2000; Esquivel, 2002; Purswell y Parker,2000), y este finaliza cuando la perra rechaza la monta (Allen,1992; Edward et al 2000; Esquivel, 2002). En promedio, las perras aceptaran al macho en los días 9 ó 10 y dejaran de aceptarlo en los días 16 ó 17, considerándose que el día 1 se refiere al primer día de descarga sanguinolenta (Purswell y Parker,2000).

Los signos clínicos, además de que la hembra se torna receptiva al macho, son cambios de comportamiento, contrae la región perianal al contacto con el macho y se queda quieta apoyándose en sus extremidades para facilitar la penetración. También existen algunos signos físicos, la vulva se torna flácida, la secreción vaginal puede continuar (Edward et al. 2000;Esquivel, 2002). el flujo puede ser

menos copioso y menos hemorrágico que en el proestro, aunque este es un hecho constante, es decir algunas perras presentan un flujo escaso durante el proestro y el estro, mientras que otras tienen un flujo sanguinolento abundante que persiste en esta etapa (Allen,1992).

Fisiológicamente, el estro coincide con la presencia predominante de las células cornificadas epiteliales vaginales, con un aumento en el nivel de progesterona sérica a 2 ng./ml. (Davol.2000), y con una disminución en los niveles de estrógeno por debajo de 15pg/ng (Edward et al. 2000, Esquivel, 2002).

Para realizar la cruce por monta natural es mejor llevar a la perra al lugar donde se encuentra el perro debido a consideraciones territoriales. Las perras se sentirán menos dominantes fuera de su territorio de casa, y los perros deben ser mas dominantes que las perras para que las perras permitan la cópula. Perras dominantes (alfa) no permitirán la cópula de perros menos dominantes (beta) (Purswell y Parker, 2000).

Una vez que ha iniciado la conducta de caballete (aceptar al macho) la cruce debe ocurrir cada dos o tres días hasta que la perra ya no acepte la perro (Purswell y Parker, 2000). Sólo durante los 3 a 7 días del estro la perra estará en la fase apropiada para quedar preñada (Foster y Smith, 2001). Tradicionalmente, las perras eran cruzadas el día 14<sup>abo</sup> día después del inicio del proestro. Esto porque fue observado que la mayoría de las perras exhibía “señales con la cola” ( desviación lateral de la cola con elevación de la vulva). Después, cuando se adopto la norma para realizar uniones múltiples, la perra se apareaba en los días 12 y 14 ( para el servicio doble), o en los días 11, 13 y 15 (para el servicio triple) (Davol, 2000).

aunque estas reglas son adecuadas para asegurar una cruce óptima y tamaño de camada en la perra promedio, no todas las perras ovulan el día 12 del inicio de proestro. algunas pueden ovular en el día 5 o tan tarde con el día 25, en tal caso utilizando esta regla resultará un fracaso en el momento de apareamiento (Allen, 1992; Davol, 2000).

### **c) Diestro**

Es la fase donde predomina la progesterona y tiene una duración media de 2 meses (Edward et al;2000,Davol, 2000), pero hay quienes sostienen que la hembra que no esta preñada su duración promedio de 100 días (Edward et al. 2000;Esquivel, 2002). Aproximadamente 6 días después de la ovulación las células epiteliales cornificadas vaginales se revertirán a un estado no cornificado.

Esta condición marca el principio del diestro (Davol, 2000). También se puede considerar que comienza el primer día en que la perra no acepta al macho (Edward et al.2000;Esquivel, 2002).Dentro de los signos diestro figuran:

- ❖ La hembra rechaza la monta del macho.
- ❖ La hembra ya no atraen a los machos.
- ❖ La vulva regresa a su tamaño normal ( anebral ), desapareciendo la flacidez y la secreción (Edward et al. 2000;Esquivel, 2002).

Después de la ovulación, continúa el desarrollo del cuerpo lúteo dentro de las cavidades foliculares y por lo tanto, la concentración de progesteronas sigue elevándose como alcanzando su pico de 20 a 30 días postovulación o bien 2 a 3 semanas después del inicio del diestro y se mantienen en una concentración de 15 a 60 ng./ml. Aproximadamente por 1 ó 2 semanas (Edward et al. 2000;Esquivel, 2002). Tanto en las perras gestantes como en las no gestantes, los niveles de progesterona son muy similares en esta fase. El diestro termina cuando el nivel de progesterona decae a menos de 1 ng./ml. (Davol., 2000). Esto sucede a los 63 días en las hembras preñadas para la presentación del parto, y a los 100 días en las hembras no progestantes ( Esquivel , 2002), aunque Davol (2000), afirma que en las hembras no gestantes los niveles de progesterona disminuyen aproximadamente 2 meses después de la ovulación.

### **d) Anestro**

El anestro se define como el tiempo que transcurre entre el final de la fase lútea ( diestro en perras vacías o gestación en perras gestantes ), y el principio de

la fase folicular ( proestro) ( Esquive, 2002 ), es decir, el principio de esta fase es marcado por el descenso del nivel de progesterona sérica a menos de 1ng./ml. , y la aparición del sangrado proestral indica el final de esta fase (Edward et al. 2000; Davol,2000).

El inicio del anestro en perras que no quedaron gestantes es difícil de detectar, ya que no existe un cambio claro entre la finalización del diestro y el inicio del anestro, es decir , no hay diferencia clínica entre la perra diéstrica y la perra anéstrica ( presentan los mismo signos) . En cambio en las perras gestantes es evidente que el parto marca la demarcación entre gestación (diestro) y el inicio del anestro (Edward et al. 2000; Esquivel,2002).

El anéstro constituye un periodo de inactividad ovárica (Allen,1992; Esquivel, 2000). Tiene una duración media de 4 a 4.5 meses (Edward et al, 2000 Allen,1992; Davol, 2000 ) pero hay citas de que dura de 4 a 7 meses si la perra cicla dos veces al año, y de 9 a 11 meses si cicla una sola vez ( Esquivel, 2002).

Esta duración puede durar de 1 mes a 2 años, ya que se ve influenciada según (Allen, 1992;Edward et al. 2000) por:

- ❖ Época del año : Algunas perras tienen la tendencia primitiva de un periodo de proestro/ estro por año, por ejemplo la raza Basenjí, mientras que en otras razas muchas hembras pueden iniciar la fase proestro/estro durante la primavera con preferencia a otra época del año.
- ❖ Feromonas: Las perras que se mantienen juntas suelen mostrar la fase proestro/estro en las misma época; se cree que los olores de una perra en fase de estro puede estimular a otras.
- ❖ Factores desconocidos : Sigue siendo un misterio la señal que pone en marcha el desarrollo folicular en las perras.

- ❖ También tiene influencia la salud, la edad, el ambiente.

Durante el anestro ocurre la involución uterina postparto o bien la preparación del útero para el siguiente ciclo (Edward et al.2000; Esquivel,2002).

#### **IV. MÉTODOS DE DIAGNOSTICO DEL ESTRO**

En términos endocrinos el periodo fértil,( estro), sea definido cuando los estrógenos disminuye, la progesterona aumenta y el pico de LH aparece lo que resulta difícil de detectar, dando como resultado la constante confusión de creer que la fertilidad inicia cuando la perra acepta la monta, que no siempre ocurre. Por lo tanto, se debe implantar otras alternativas como la citología vaginal exfoliativa o la vaginoscopía para detectar el momento optimo para realizar la crusa o la inseminación artificial ( Esquivel,2002).

##### **4.1 Citología vaginal**

Es una técnica para determinar en que etapa del ciclo estral se encuentra la perra y principalmente el momento mas adecuado para realizar la monta natural o la inseminación artificial. La ovulación ocurre al inicio del estro y por lo tanto es importante identificar esta etapa . También ayuda a detectar patología del aparato femenino (Hutchison, 2001; Esquivel, 2002).

Fundamentos de la citología vaginal exfoliativa

El principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en identificar el tipo y cantidad de células de las diferentes etapas del ciclo estral, ya que los cambios hormonales que sufre la vagina durante el ciclo se refleja en la morfología de sus células epiteliales. Al inicio del ciclo, las célula epitelial recibe una mayor irrigación sanguínea ( nutrición celular). Conforme los niveles de estrógenos se incrementan el epitelio vaginal se va engrosando ocasionado que las células epitelial se vaya separando del aporte sanguíneo, dando como resultado una transformación que va

de célula para basal a célula anucleada o escama (Edward et al. 2000, Esquivel, 2002). Los practicantes de la citología vaginal deben comprender por qué ocurren los cambios citológicos y lo que indican estos cambios (Edward et al. 2000; Purswell y Parker, 2000).

#### 4.1.1 Clasificación de células vaginales

En cuanto al tipo de células vaginales estas se clasifican según (Esquivel 2002), en :

- A. **Célula parabasal** : Es una célula grande de forma oval o redonda con núcleo aparente y pequeña cantidad de citoplasma. Esta célula se desprende de la capa de células germinales cercanas a los vasos sanguíneos y predominan en el anestro y principio de proestro.
- B. **Célula intermedia** : Es una célula grande de bordes irregulares con núcleo más pequeño o más grande que la parabasal pero con mayor cantidad de citoplasma. La presencia de esta célula indica la etapa anterior a su transformación superficial, predomina a la mitad del proestro.
- C. **Célula superficiales**: Son células muertas típicas que reviste la luz vaginal de la perra y son pequeñas, de borde angulosos, con núcleo de menor tamaño que las anteriores y picnotico . Es característica del proestro y todo el estro, que es cuando la vagina se encuentra bajo la influencia del pico estrogénico.
- D. **Célula anucleada**: Son células vaginales grandes, muertas que también se le conoce como escama, es una célula pequeña, sin núcleo, de borde angulosos e irregulares que predominan en el estro y marca el final del proceso de descamación de la célula para basal .

#### 4.1.2 Tipos de células presentes en cada fase del ciclo estral

#### **4.1.2.1 Proestro**

Debido a la elevación de la estrogenemia en el proestro, el número de capas celulares del epitelio vaginal aumenta. Este hecho hace que las células luminales se alejen de la irrigación sanguínea evolucionando hacia la muerte. Este fenómeno podrá visualizarse claramente en los extendidos vaginales en los cuales aumentará el porcentaje de células superficiales (cornificadas) a medida que se acerca el fin del proestro y el comienzo del estro (Edward et al. 2000; Johnston et al., 2001).

#### **4.1.2.2 Estro**

Bajo la influencia de estrógeno, el epitelio vaginal engruesa de 20 a 40 capas de células. Este espesor protege la vagina durante la cópula. Cuando el epitelio vaginal espesa, la citología vaginal exfoliativa muestra el cambio de células no cornificadas a células cornificadas del epitelio. Cuando las células cornificadas del epitelio predominan, la perra o está en proestro (Purswell y Parker, 2000), o estro (Daval, 2000; Purswell y Parker, 2000).

#### **4.1.2.3 Diestro**

El valor de la citología se sobreestima a menudo en el manejo reproductivo, pero hay un hallazgo absoluto en citología vaginal que indica el inicio del diestro. La citología vaginal cambia abruptamente y dramáticamente durante 24 a 48 horas de un predominante modelo de células cornificadas a un modelo de células cornificadas. Los neutrófilos están presentes en números grandes. El primer día de este cambio citológico dramático es llamado día 1 del diestro o D1. Esta información es valiosa porque puede usarse para predecir la duración de la

gestación. Las perras paren 56 a 57 días típicamente después del inicio del diestro citológico ( Purrswell y Parker, 2000).

#### **4.1.3 Técnica de citología vaginal exfoliativa**

Para tomar una muestra de citología vaginal se introduce hisopo estéril por la comisura dorsal de los labios vulvares ( previa limpieza de estos ). Se puede suavemente hasta atravesar el cingulun ( unión vestíbulo-vaginal) para llegar a la porción caudal de la vagina, en la cual, mediante movimientos rotatorios de hisopo, se colectará el material celular.

Hecho esto, se retira el hisopo y se hace un frotis por rodamiento sobre un cubreobjetos, se fija en alcohol al 95% durante 5 a 10 minutos y se tiñe para observarla al microscopio.

Existen técnicas de tinción como la de Papanicolau, Diff-quick, Giemsa, Wright y Shorr que pueden ser utilizadas para teñir muestras de citología vaginal, de las cuales la técnica de Diff-quick se describe a continuación ( Nuria, 2001).

Es un método práctico muy usado como colorante, eficaz de glóbulos rojos y células epiteliales, además permite que las muestras sean fijadas y guardadas para un estudio posterior.

Esta técnica de tinción está disponible comercialmente, aportan un buen detalle celular, buena definición de organelos citoplasmáticos y detalle nuclear aceptable.



La tinción cuenta de 2 soluciones, una eosinofílica y otra basofílica, y un fijador. La secuencia de tinción incluye entre 5 a 10 inmersiones de un segundo de duración, en fijador, en colorante rojo, y en colorante azul. Para finalizar con el lavado y posterior secado al aire de la preparación.

## **4.2 Frotis Salival como Diagnóstico del estro**

### **4.2.1 Historia del Frotis salival**

1945: Papanicolau fue el primero que observó 'helechos' (partículas cristalinas) en el líquido secado del cuello de la matriz.

1969 Dr. Biel Cassals, ginecólogo español, estudiaba la cristalización de la saliva y concluyó que la apariencia del 'helecho' de la saliva en realidad es idéntica al fenómeno de la arborización del líquido en el cuello de la matriz.

1991 : Los estudios de M. Guida, Instituto de Ginecología y Obstetricia en Neapoli, Italia, alcanzaron el resultado positivo de 92% en correspondencia de 'helecho' de saliva y el periodo pre-ovulatorio y ovulatorio.

1992 : Los estudios de M. Barbato, A. Pandolfi, M. Guida encontraron correlación directa entre el fenómeno de 'helecho' de la saliva y el periodo de fertilidad,

afirmando que 'el fenómeno de helecho se puede usar como el parámetro para ayudar a las mujeres detectar el periodo de ovulación en combinación con otros métodos síntoma-termales.

1994 :El Centro Clínico de Serbia realizó el estudio, 'Determinación de los días ovulatorios y no ovulatorios en el ciclo menstrual de la mujer por medio del test de cristalización de la saliva', y determinó que ese test es tan efectivo como análisis de la mucosidad en el cuello de la matriz. (MaybeMOM).

El fenómeno conocido como arborización del moco cervical de la mujer fue descubierto por Papanicolau en 1946 sirviendo como base importante para el estudio de este evento en otras especies tales como los bovinos y cerdos. Esta cristalización se presenta después de que una muestra del moco cervical sin teñir se deja secar en un portaobjetos presentándose un patrón microscópico en forma de helecho.

Muchos investigadores han relacionado estos hallazgos con los diversos estadios del ciclo estral encontrando que existe mayor arborización durante la fase folicular del ciclo en comparación con la fase lútea del mismo alcanzando la máxima cristalización en el principio de la etapa de estro.

En 1948 Rydberg encuentra arborización del moco cervical humano detectando la presencia de sustancias como el cloro, sodio y la mucina lo cual resultó importante ya que cuando estas sustancias son agregadas a otros fluidos como la **saliva** se presenta una cristalización igual a la del moco cervical del humano, bovino y suino. (Abusineina; 1962 ).

#### **4.2.1 Frotis salival**

Con base en las investigaciones realizadas en el moco cervical humano y bovino, surge la idea en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de estudiar la arborización de la saliva de la perra como una técnica auxiliar para el seguimiento del ciclo estral con el propósito de aumentar

la eficiencia en la detección de la etapa de ovulación. Esto se realiza tomando una gota de saliva, se deja secar sobre un portaobjetos para posteriormente hacer la observación al microscopio.

En la reproducción canina uno de los problemas más comunes con el que se encuentra el médico veterinario así como los propietarios de perras es el poder determinar el momento preciso para realizar la monta o bien para llevar a cabo la inseminación artificial debido a la gran variación que se presenta en la duración de las etapas del ciclo estral lográndose la elaboración de técnicas como la de citología vaginal exfoliativa para detectar la etapa de estro en la cual ocurre la ovulación.

Como ya se sabe la arborización está íntimamente ligada con el nivel estrogénico que en el caso de la hembra canina alcanza su pico aproximadamente 2 días antes de la ovulación lo que hace suponer que el máximo de cristalización estará presente en el periodo ovulatorio.

Estudios realizados para la detección de hormonas esteroides han postulado que más del 95 % de los estrógenos (E2) circulantes se encuentran unidos a proteínas y que estas moléculas son eficientemente secuestradas para su destrucción en el hígado sin embargo los estrógenos fisiológicamente libres difunden con facilidad a todos los líquidos secretados intercelularmente como es el caso de la saliva (lo cual es aplicable a la mayoría de las hormonas esteroides) donde se han encontrado niveles de 2 - 11pg/ml durante la fase folicular del ciclo menstrual y niveles de .8 - 8 pg/ml durante la fase lútea recordando que una de las funciones de los E2 es regular la retención del fósforo y sodio además de provocar la acumulación de líquido en los tejidos y la excreción del potasio lo que resulta en la hipótesis de que la arborización de la saliva y del moco cervical son cristales de sodio, cloro ó potasio.

La arborización se ha clasificado en tres tipos de acuerdo al momento de su presentación:

a) *TIPO A*: Son helechos abundantes anchos y grandes, se presentan en el máximo nivel estrogénico (principio del estro).

b) *TIPO B*: Son helechos más delgados que el tipo A que se acomodan de manera longitudinal se presentan cuando hay descenso de E2. (mitad del estro).

c) *TIPO C*: Son helechos muy pequeños casi fragmentos y se presentan cuando hay dominancia de progesterona.(final del estro). (Esquivel, 2002 ).

## **V. HISTORIA DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

### **5.1. Origen de la inseminación artificial**

Es difícil fundamentar que los veterinarios establecieron la inseminación Artificial ( IA), pues son varios los antecedentes de la IA que se pueden citar, y no precisamente de veterinarios. Ya los árabes parecen haber usado la IA en equinos en el siglo ( Pérez,2001). Spallanzani en Italia en 1780 usó semen canino fresco para inseminar una perra en estro directamente en el útero ( Pérez ,2001; Farstad, 2000). Ya en 1776 Spallanzani había observado que las bajas temperaturas provocaban una reducción reversible de la actividad metabólica de los espermatozoides, lo cual permitía almacenarlos ( Stornelli et al., 2001 ).

Joan Hunter fertilizó exitosamente a una mujer en 1799 por medio de la IA. E. Ivanov condujo exitosamente sus estudios hasta perfeccionar en Rusia a partir de 1899 la técnica de IA aplicándola tanto en equinos como en vacunos y ovinos ( Pérez, 2001 ). En 1956 Harrop logra la primera preñez con semen refrigerado

abriendo las puertas a la criopreservación. Posteriormente, en 1969, se comunicó por primera vez una IA satisfactoria con semen congelado ( Stornelli et al., 2001).

### **5.1.1 Historia de la inseminación artificial en caninos**

Aunque en el campo es relativamente nuevo en producción canina, ha sido practicando con éxito en ganado y otras especies durante muchas décadas ( Foster y Smith, 2001). Los estudios sobre semen canino se iniciaron con la invención del microscopio óptico por Leeuwenhoek en 1678 ( Esquivel, 2002). Sin embargo, las tecnologías de asistencia reproductiva en perros comenzaron en el siglo XVIII ( Farstad, 2000), reportándose que la primera Inseminación Artificial científicamente registrada se realizó en 1779 en Italia por Lázaro Spallanzani, que llevó al nacimiento de tres cachorros, dos machos y una hembra (Esquivel, 2002; Pérez, 2001; Farstad, 2000).

En 1782 , Rossi repitió este experimento obteniendo buenos resultados, ya que la perra que inseminó parió 4 cachorros después de 62 días de gestación. No hubo más referencia sobre inseminación Artificial ( IA) de perras hasta 1884, cuando una serie de experimentos fueron realizados por Sir Everett Millais,, quien para comprobar que la IA era factible cruzó diferentes razas como el Basset Hound y Blood Hound, las cuales de manera natural no se aparean. En 1914, Amantea empezó a utilizar la primera vagina artificial para coleccionar semen de perro, observando además que el semen canino es eyaculado en 3 porciones bien diferenciadas ( Esquivel, 2002).

Aunque se cuenta con la investigación y experiencia desarrollada en la práctica bovina, no se ha logrado su porción de éxito en caninos ( Foster y Smith, 2001). El progreso en esta área se desarrolló lentamente, el subsecuente desarrollo incluyó al equipo de IA y métodos para la preservación a corto plazo de semen fresco, y más tarde para semen congelado, que condujo a la primera camada del mundo producida de semen congelado en 1969 ( Stornelli et al., 2001; Farstad, 2000). En el período comprendido entre 1971 y 1977, nacieron

aproximadamente 800 cachorros concebidos mediante IA, con semen congelado. El American Kennel club (AKC) desde 1981 aprobó el registro de camadas obtenidas mediante Inseminación Artificial con semen congelado, sucediendo eventos similares en otras partes del mundo ( Esquivel, 2002).

El margen de error muchas de las veces no se debe a la técnica , sino la inestabilidad relativa del semen canino cuando se congela o refrigera ( Foster y Smith, 2001), pero la mejora de métodos de congelado y de equipos de IA de 1970 dio a la IA utilidad como una técnica de reproducción para perros ( Farstad, 2000).

En paralelo, la IA en zorros se desarrolló en Escandinava a principios de 1980; esto produjo la valiosa cruce de zorros plateados y zorros azules para la producción de pieles ( Farstad, 2000).

Además, en el ganado, la regularidad y competencia de la fisiología reproductiva de la hembra se ha seleccionado de forma consistente para la reproducción, mientras que no es el caso en perros. El ejemplar que no tiene un ciclo estral predecible o altos niveles de fertilidad se elimina del hato. Mientras que en caninos , los criadores son más atados emocionalmente a sus animales y muchas veces intentan reproducir perras problemas y con ciclos irregulares, manteniendo así características genéticas indeseables ( Foster y Smith, 2001 ).

En los últimos años , las técnicas de inseminación Artificial en caninos se han aplicado con éxito en investigación básica para estudiar la maduración del oocito, en fertilización en vitro, criopreservación de embriones y transferencias de embriones en canidos ( Farstad, 2000).

Los laboratorios que proporcionan prueba cuantitativas radioinmunes el mismo día o el día siguiente proporcionarán información más exacta que los equipos de ELISA. Con estos adelantos en manejo reproductivo canino, el uso exitoso de semen refrigerado y congelado se está volviendo rutinario en perros ( Purswell y Parker, 2000).

Desgraciadamente , debido a la fisiología particular de la hembra canina, los progresos en las técnicas de reproducción artificiales se ha retrasado ( Farstad, 2000). Además el éxito de la IA depende de el estado da salud y nutrición de los animales reproductores, así como el manejo del momento de inseminación, semen utilizando y la técnica utilizada (Stornelli et al., 2001).

La técnica actual y los métodos de inseminación Artificial ( IA ) son relativamente fáciles y son realizados por muchos criadores y la mayoría de las clínicas veterinarias ( Foster y Smith, 20001).

En la actualidad la IA se realiza con semen fresco, refrigerado o congelado, cada tipo de semen nos brindará distintas posibilidades de aplicación así como también exigirá un manejo de diferente complejidad ( Brown, 1992; Stornelli et al., 20001).

## **VI. INSEMINACION ARTIFICIAL EN CANINOS**

### **6.1 Objetivos de la inseminación artificial en caninos**

La inseminación artificial ( IA ), es una técnica que cada vez se utiliza más, y con el uso del semen refrigerado y/o congelado, abrirá un enorme campo de posibilidad especialmente para los criadores y Médicos veterinarios dedicados a los caninos ( Villalba, 1997).

Un macho excepcional, escogido por su inteligencia, personalidad o estructura puede continuar produciendo descendencia largo tiempo después de su muerte o puede aparearse con hembras de las que está separado por grandes distancia ( Allen,1992; Foster y Smith,2001; Stornelli et al., 2001).

Esta técnica, si bien se practica tanto en perras como en gatas, está mucho más extendida en las primeras, siendo poco frecuentes en las gatas debido quizás al menor valor económico de éstos y a que técnica resulta (Villalba,1997).

A veces la inseminación Artificial se utiliza aunque ambos perros están presentes. Esto normalmente ocurre cuando el perro o la perra tienen un problema reproductivo. O en casos en los que, el macho no monta o no muestra interés por la hembra, o la hembra no le permitirá al macho montarla ( Allen, 1992, Davol,2000; Esquivel, 2002). A menudo éstos simplemente son problemas de perros inexpertos. En perros salvajes, la reproducción tiene un componente sabio donde los machos más jóvenes aprenden la conducta sexual de manera interactivo y observando a los adultos. Se parando a los cachorros de sus unidades familiares a las siete u ocho semana de edad, nosotros hemos eliminado ésta parte del proceso de aprendizaje ( Forter y Smith, 2001 ).

La IA es una técnica útil, de baja o mediana complejidad, de moderado costo, que brinda grandes posibilidades en la clínica reproductiva diaria y el desarrollo biotecnológico. Sin embargo, si no se tiene en cuenta algunos factores sumamente importantes en su aplicación, puede tomarse una práctica desalentadora ( Stornelli et al., 2001).

#### **6.1.1 Causas de uso de la inseminación artificial en hembras**

Comportamiento agresivo hacia el macho o conductas que imposibiliten la monta del macho. Malformaciones congénitas o adquiridas de vagina y/o vulva como : Hiperplasia vaginal, estrechez vulvar, vaginitis crónica, himen persistente, cicatrices en vagina provocadas por parto distócico. Debilidad de las extremidades posteriores que no permiten soportar el peso del macho en la monta. Enfermedades como la artrosis o artritis con las mismas consecuencias ( Esquivel, 2002;Villalba, 1997). Perras con enfermedades uterina u ovárica sospechosa, es



decir, perras con historias de fracaso reproductor en las que el problema se puede resolver con una inseminación quirúrgica ( Hutchison, 2001).

### **6.1.2 Dosis de inseminación**

La dosis de la inseminación debe contener 150 a 200 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides, por lo menos (Stornelli et al., 2001; Linde-Forsberg, 1991), pero tratándose de semen congelado se estima que 200 x 10<sup>6</sup> espermatozoides viables al descongelado son necesarios para obtener tasas aceptables de preñez (Jhonston et al., 2001). Sin embargo, se han comunicado preñes con 20 x 10<sup>6</sup> de espermatozoide depositando quirúrgicamente semen fresco en la porción proximal del cuerno uterino y dos dosis de 30-35 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides realizando IA intrauterina por medio de caracterización cervical con endoscopio (Stornelli et, al., 2001). Las mejores proporciones de concepción pueden obtenerse con una doble inseminación que por una sola inseminación (Gunzel, 1986; Linde-Forsberg 1989).

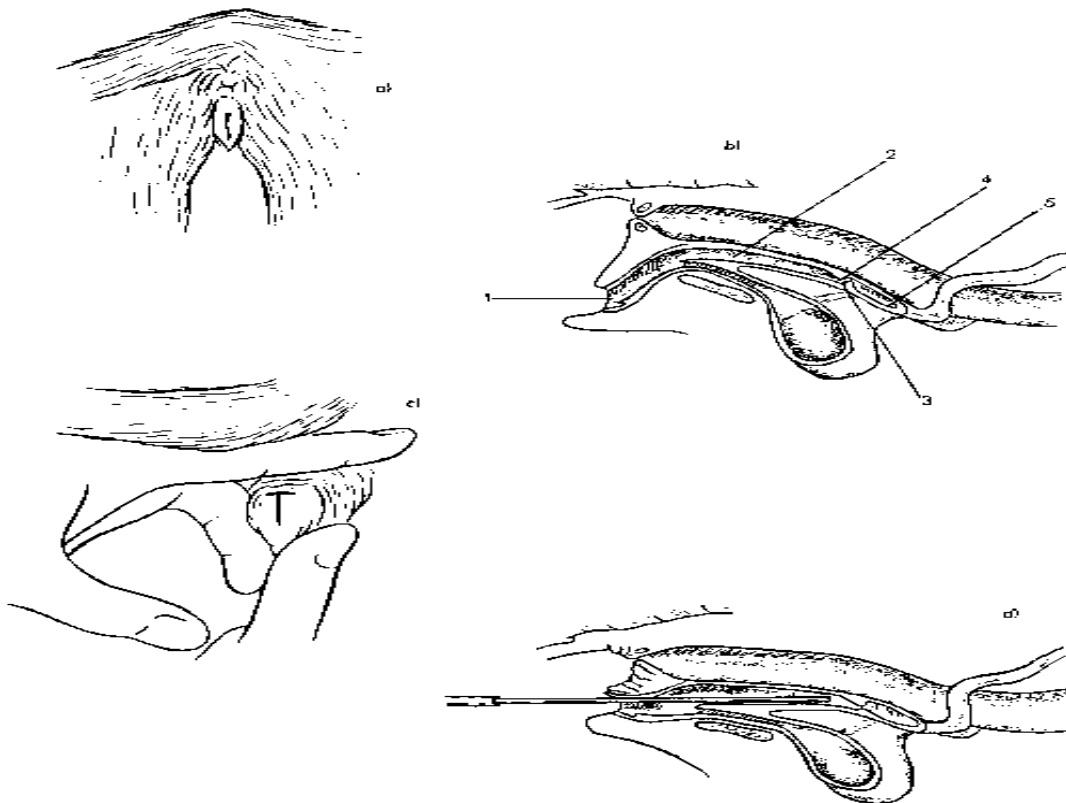
### **6.1.3 Técnica Inseminación artificial intravaginal**

Cuando una cruce natural no es posible, la inseminación intravaginal es una buena opción, que consiste en depositar el semen en la apertura cervical externa. Este método también puede ser aplicable cuando una cruce natural puede ser un riesgo de enfermedad, lesión a los perros, o una molestia al propietario de alguno de los reproductores ( Hutchison, 2001).

Un dedo enguantado (ligeramente lubricado con Agua), se introduce en la vagina y la pipeta se guía por encima del dedo, se prolonga en el pasaje vaginal hasta donde sea posible. El semen se expule entonces de la pipeta seguida por un poco de aire para empujar el semen restante al del tubo. La pipeta se retira, pero el dedo permanece para masajear (suavemente raspando en un movimiento dirigido hacia atrás) la pared de la vagina. Este procedimiento es muy importante porque simula

la acción del suave jalado del pene del macho dentro de la vagina durante la “unión” en la cruce natural. Este procedimiento inducirá contracciones del músculo de las paredes vaginales que ayudaran a la locomoción del semen hacia los óvulos. Después de varios minutos de este estímulo, el dedo enguantado es retirado (Davol, 2000).

Hay técnicas mas sencillas en las que solo se introduce una sonda en la vagina llegando hasta el fondo de la misma y con una jeringa se impulsa el semen (Morton, 1986; Villalba, 1997). Y otras en las que se requieren de un catéter de plástico rígido que inicialmente se introduce verticalmente a través de los labios de la vulva, (evitando la fosa del clítoris), y al llegar a la parte posterior del isquión se dirige cranealmente adecuándose a la anatomía de la hembra canina (Allen, 1992; Stornelli et al., 2001). Si lo permite la perra el catéter será palpado a través de la pared abdominal y el cuello uterino se localiza como una estructura dura (similar a un guisante) craneal al mismo, se levanta del suelo las extremidades de la perra y se expulsa el semen ( Allen, 1992). como se muestra en la **figura 1** .



La totalidad el material deberá estar estéril, libre de sustancias que alteren la viabilidad espermática y precalentado a 37° C para evitar alterar la calidad del eyaculado (Stornelli et al., 2001).

El inconveniente de una inseminación intravaginal es que el semen se deposita en la vagina craneal y debe hacerse de manera que se arrastre o penetre hasta el útero, para que las células espermáticas puedan llegar a los tubos de Falopio (alrededor de los ovarios) donde ocurre la concepción (Hutchison, 2001). Por lo tanto, para inseminar a la hembra se eleva el tercio posterior de ésta favoreciendo la penetración del semen y posteriormente se mantiene durante cinco o diez minutos ( Allen, 1992; Villalba, 1997; Davol, 2000), o hasta quince (Allen, 1992; Stornelli et al., 2001), para evitar el reflujo del semen. El reflujo de una porción del semen indica que se ha realizado una mala inseminación (Allen, 1992). Hay quien recomienda para retener el reflujo del semen, insertar un dedo o algún objeto de plástico del tamaño apropiado en la parte caudal de la vagina ( Morton, 1986 ). Debe tenerse cuidado para asegurar que ninguna presión se haga alrededor del abdomen, por consiguiente, el alzado de la perra debe ser realizado sujetándola de sus rodillas. Después la perra debe ser inmediatamente enjaulada durante 30 o 60 minutos. No se debe permitir que orine (Allen, 1992; Davol, 2000), y se requiere que la perra sea puesta en una jaula en un vehículo, debe ser cargada por dos personas, las personas que alza el tren posterior sujetándola de las rodillas y no del alrededor del abdomen ( Davol. 2000). Por otra parte, Esquivel (2002), asegura que no es necesario considerar ninguno de los aspectos antes mencionados.

La inseminación con semen fresco puede realizarse vaginalmente, por el contrario el semen congelado-descongelado debe depositarse intrauterina mente ( Linde-Forsberg, 1991).

Problemas de la técnica, como colocación impropia de la pipeta de inseminación, colocación de semen impropio, o semen dañado por maltrato, desgraciadamente ha convenido a muchos criadores y veterinarios de que solo deben usar la IA como una última medida (Hutchison, 2001).

Para comparar la importancia de la ruta de inseminación al usar semen fresco o congelado, seis grupos de cinco perras se inseminaron en el útero (grupos 4,5 y 6) o en la vagina (grupos 1,2 y 3 ) con semen fresco (grupos 1 y 4) o semen congelado (grupos 2,3,5y 6 ). El 60 % de las perras inseminadas con semen congelado y el 100% con semen fresco quedaron gestantes, independientemente de la técnica de inseminación usada ( Silva et al., 1996)

#### **6.1.4 Ventajas y desventajas de la inseminación artificial en caninos**

Con IA, en una perra que tiene excelente calidad genética y tiene el potencial para construir un criadero de su descendencia, pero que no este en calor, se puede planear una cruzar conveniente, recolectando el semen y preservarlo hasta que esté lista para ser preñada ( Foster y smith, 2001 ).

La práctica de la inseminación permite obtener camadas de animales que de otro forma hubiera sido imposible, permitiendo a los criadores la introducción de nuevas líneas de sangre con el uso de semen congelado, la disminución de enfermedades genéticas con el uso de sementales probados ( Morton, 1986). Permite el cruzamiento de perros de diferente países sin las limitaciones que impone la cuarentena ( Allen, 1992).

Pero también se puede difundir y transmitir múltiples problemas o alteraciones genéticas reproductivas indeseables. Por esta razón la inseminación Artificial es una técnica que en las perras debe manejarse con criterios muy rígidos en cuanto a la elección de los reproductores en los que se va a realizar ( Villalba,1997).

Actualmente, en muchas razas, numerosos individuos están mostrando fisiología reproductiva y conducta anormal. La fase de proestro se prolonga durante 3 a 5 semanas, los machos tienen la cuenta espermática anormal, el macho o la

hembra nunca entra en verdadero estro, los números de camada disminuye drásticamente, las madres rechazan su descendencia, etc., todo esto a causa de la mala selectiva en los progenitores cuando se realiza la cruce ó se utiliza la IA. Por otro lado los machos se pueden acostumbrar al manejo lo que puede ocasionar dificultades posteriores para realizar la monta natural, sin embargo esto es poco frecuente ( Esquivel, 2002). Los buenos criadores observan sus líneas de cruzamiento y reconocen estos problemas. Ellos deben intentar eliminar estos rasgos, porque usando la IA para reproducir perros con limitaciones sólo potencializan el problema ( Foster y Smith, 2001).

La IA puede favorecer la utilización fraudulenta del semen ( Esquivel, 2002). Otra preocupación del uso de inseminación artificial, es cuando uno de los perros es vicioso y constantemente ataca al otro. Sería recomendable no cruzar, así como tampoco el emplear la inseminación artificial en estos casos, y no por miedo a ser mordidos; la conducta es un rasgo que debemos seleccionar ( Foster y Smit, 2001).

Muchos criadores también creen que si se usa la inseminación Artificial no pueden transmitirse enfermedades que requieren del contacto sexual para su transmisión. Efectivamente, el macho no podrá contagiarse de la hembra, porque él nunca está en contacto con ella. sin embargo, la hembra puede contraer varias enfermedades contenidas en el semen ( Foster y Smith, 2001; Esquivel, 2002). Además, debe recordarse que la inseminación Artificial en medicina canina no tiene el nivel de éxito que una cruce natural. Dependiendo de la técnica y habilidad de aquellos que la realizan, se pueden esperar sólo tasas de 65 a 68% de concepción ( Foster y Smith, 2001).

### **6.1.5 Limitaciones de la inseminación artificial en caninos**

Se han identificado dos grandes limitaciones en la utilización de la IA en perros; la longevidad de células espermáticas caninas disminuye grandemente refrigerado o congelado el semen; y la anatomía del cerviz canino que actúa como una barrera a la deposición intrauterina del semen vía inseminación vaginal ( Brown, 1992).

## **VII. CARACTERÍSTICA DEL SEMEN REFRIGERADO**

### **7.1 Semen fresco vs refrigerado**

#### **SEMEN FRESCO**

Solamente se utiliza la segunda fracción ( rica es espermatozoides); la misma se recoge en forma independiente ( Allen, 1992). La recolección de la fracción espermática es suficiente para realizar la IA, parte de la fracción prostática puede recolectarse sólo para asegurarse que se ha recolectado toda la segunda fracción . si el volumen de la fracción espermática es escaso, La fracción prostática puede servir para aumentarlo y facilitar el manejo del semen ( Stornelli et al., 2001).

Para cada inseminación se utiliza un eyaculado , es decir no constituye un procedimiento para aumentar el número de perras inseminadas ( Allen, 1992).

La inseminación deberá efectuarse en un plazo no mayor a 15 minutos ( Allen, 1992; Esquivel ,2002).

El semen fresco usado en intervalos de inseminación de 48 horas se ha demostrado favorable, considerando que con semen conservado el intervalo de la inseminación no debe exceder 24 horas ( Gunzel,1986).

La tasa de gestación obtenida con el semen fresco es 60% aproximadamente ( Allen, 1992), aunque hay quien afirma que se puede obtener un 8.3% ( Esquivel, 2002). Y el tamaño de camada es 21.5% más pequeño en perras inseminadas con semen fresco, comparando con perras naturalmente apareadas ( Linde-Forsberg y Forsberg, 1989).

Mientras el semen de eyaculados frescos puede aplicarse con buen éxito intravaginalmente la inseminación intrauterina mejora las condiciones para concepción usando semen congelado ( Gunzel, 1986).

## **SEMEN REFRIGERADO**

Enviar el semen en lugar de enviar la perra se ha hecho común. Los criadores han escogido la utilización del semen refrigerado por inseminación intravaginal para sus perras, en espera de buenas proporciones de concepción ( Hutchison, 2001).

Mediante el agregado de diluyentes, el semen puede ser refrigerado y de esta manera conservado y transportado. Las bajas temperaturas disminuyen las tasas metabólicas del espermatozoides y prolongan su longevidad. Los diluyentes protegen a las membranas del espermatozoide del daño causado por los cambios de temperatura, proveen energía y mantienen estables el PH y la osmolaridad. Los antibióticos agregados a los diluyentes evitan la proliferación bacteriana, en especial en los que contienen yema de huevo (Stornelli et al., 2001). Sin embargo, el refrigerar el semen produce un aumento inmediato en el número de anormalidades del cromosoma y una disminución subsecuente en la en la viabilidad del semen ( Burgess et al., 2001).

Las tasas de preñez obtenidas utilizando semen refrigerado son de 50-60% ( W.Edward,1992). Según ( Linde- Forsberg, 2000) la tasa de parición con este mismo semen es de 45.1% y el tamaño de camada es de 5.8+/-3.0.

### **VIII.- OBJETIVOS**

- ❖ Saber tasa de preñez y tamaño de camada con la utilización de semen refrigerado.
- ❖ Aprender a realizar la técnica de inseminación artificial intravaginal y saber las ventajas que tienen en la actualidad en esta especie .
- ❖ Comprender bien el ciclo estral y cada una de sus etapas de esta especie ya que es muy compleja y muy diferente a las otras.
- ❖ Aprender a interpretar los resultados de una citología vaginal exfoliativa como ayuda para el diagnóstico del estro.
- ❖ Aprender también a interpretar el frotis salival como ayuda para el diagnóstico del estro.

### **IX.- HIPÓTESIS**

- ♣ Con la inseminación artificial intravaginal con semen fresco se tiene mas índice de preñez y un mayor numero de camada que con el semen refrigerado.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se realizo un estudio en la ciudad de Torreón, Coahuila para determinar el porcentaje de preñez y tamaño de camada mediante inseminación artificial con semen refrigerado. Para este trabajo de investigación se ocuparon 5 machos y 5



hembras de diferentes; edades, pesos y razas, clínicamente sanos. Lo cual las hembras se inseminaron con semen refrigerado.

#### Material utilizado para la citología vaginal exfoliativa

- ❖ Guantes látex
- ❖ Hisopos
- ❖ Porta objetos
- ❖ Microscopio óptico
- ❖ Tinción de Diff-quick

En cuanto al equipo utilizado en la inseminación artificial “ Intravaginal ” se menciona a continuación:

Un catéter de plástico rígido, que tendrá unos 30 cm de longitud para una perra grande. Lo cual se une a una jeringa de plástico mediante un embolo de caucho para que posteriormente se deposite el semen hacia la vagina y luego el catéter es retirado y la hembra es mantenida 10 a 15 minutos con el tren posterior sobre elevandose en forma de carretilla( allen,1992; Stornelli, 2001;Edward ,2000 ).

Posteriormente se prosiguió a evaluar a los perros

**Evaluación de la hembra:** En todas las hembras fueron controladas para observar el inicio del proestro a través de signos de actividad estrogénica, tales como el edema vulvar ( **Johnston, 1995**); una vez entrando al proestro las perras se obtuvieron frotis vaginales se introdujo un hisopo estéril en la comisura dorsal de los labios vulvares como se muestra en la **figura 1** , los cuales fueron fijados con alcohol del 96° durante 15 minutos, teñidos con la técnica de Diff-quick Y examinados con microscopio de luz directa a 100( **Sánchez, 2000**) y así

observando los cambios de descamación de las células superficiales (  $\frac{\text{N. de células superficiales}}{\text{N. de células totales}} \times 100$ ). Cuando el % de células superficiales fue superior al 80% la perra fue mantenida a la observación a fin de realizar un adecuado control del estro.

**Evaluación del macho:** En los perros se realizó un examen andrológico completo, para así saber si los machos se encontraban en optimas condiciones para su reproducción (Feldman y nelson, 1996).

## RESULTADOS.

El estudio realizado mediante la inseminación artificial intravaginal, y con la utilización de semen refrigerado, en perras de diferente raza, permitió evaluar la tasa de preñez y el tamaño de camada, utilizando técnicas para la determinación del estro, la técnica de citología exfoliativa mediante tinción de Diff Quick y frotis salival, para así observar la arborización. Obteniendo los siguientes resultados.

Cuadro1. Muestra la tasa de fertilidad y tamaño de camada.

Nombre del animal	Raza	Edad (Años)	Gestante	Tamaño de camada	Días de Gestación
Poly	Boxer	2	si	4	Parto
Gary	Pastor Belga	2	si	6	38
Fabiola	Pastor Alemán	4	si	6	46
Greta	Bull dog Ingles	6	si	5	36
Mika	Maltes	4	si	2	48

En todas las hembras se practicaron 3 inseminaciones cada una de ellas se aplicaban 2 pajillas de semen, a partir del tercer día del estro. El semen fue refrigerado bajo la técnica de preservación con el kit comercial Chill 5; Teniendo el semen una motilidad del 65-75%, con una morbilidad que del 70 %; con una dosis 150 millones de espermatozoides por mililitro, con un volumen por eyaculado de promedio de 5ml. obteniendo una tasa de preñez del 100% y un tamaño de camada promedio de 3.8 cachorros.

## DISCUSIONES

La práctica de la inseminación permite obtener camadas de animales que de otro forma hubiera sido imposible, permitiendo a los criadores la introducción de nuevas líneas de sangre, la disminución de enfermedades genéticas con el uso de sementales probados (Morton, 1986). Permite el cruzamiento de perros de diferente países sin las limitaciones que impone la cuarentena (Allen, 1992).

Pero también se puede difundir y transmitir múltiples problemas o alteraciones genéticas reproductivas indeseables. Por esta razón la inseminación Artificial es una técnica, que en las perras debe manejarse con criterios muy rígidos en cuanto a la elección de los reproductores en los que se va a realizar (Villalba, 1997).

Actualmente, en muchas razas, numerosos individuos están mostrando fisiología reproductiva y conducta anormal. La fase de proestro se prolonga durante 3 a 5 semanas, los machos tienen la cuenta espermática anormal, los números de camada disminuye drásticamente, las madres rechazan su descendencia, etc., todo esto a causa de la mala selectiva en los progenitores cuando se realiza la cruce ó se utiliza la IA. Por otro lado los machos se pueden acostumbrar al manejo lo que puede ocasionar dificultades posteriores para realizar la monta natural, sin embargo esto es poco frecuente (Esquivel, 2002). Los buenos criadores observan sus líneas de cruzamiento y reconocen estos problemas. Ellos deben intentar eliminar estos rasgos, porque usando la IA para reproducir perros con limitaciones sólo potencializan el problema (Foster y Smitth, 2001).

La inseminación artificial en caninos con semen refrigerado, mantiene ventajas indiscutibles, ya que con una sola toma de muestra de semen podemos, colectar entre 4 a 8 pajillas, para ser refrigeradas y utilizadas durante 5 días posprocesamiento, lo cual puede representar una gran ventaja por su practicidad en la transportación, dosificación de las muestras para obtener un mejor rendimiento.

La utilización de esta técnica es muy rentable en casos de, hembras nerviosas o con problemas de conducta, que rehúsan el apareamiento o se comporta de manera agresiva con el macho, hembras con vagina estrecha, lo que dificulta la penetración y origina dolor, motivo por lo cual la perra rehúye el apareamiento ( Sánchez , 1998 ). O a su vez en perros incapaces de montar por enfermedades musculares, artritis entre otros (Vega Gordon, 1998).

## CONCLUSIONES

La inseminación vaginal con semen fresco es una maniobra fácil y rápida que no lleva más de 15 minutos y permite superar diversos problemas anatómicos tanto del macho como de la hembra. Así, mismo es una técnica útil y de bajo costo, obteniendo una tasa de preñez mayor y un tamaño de camada superior que con la de semen refrigerado. Sin embargo no puede ser discriminada la inseminación con semen refrigerado ya que nos permite trasladar el semen a diferentes partes, mayor numero de inseminaciones con la misma dosis y la utilización del semen en días posteriores sin tener que utilizar nuevamente al macho en ese momento. Es una técnica mas costosa pero que puede estar al alcance de cualquier criador que desee utilizarla en la cual es de gran importancia que el médico veterinario tenga el conocimiento apropiado para realizarla.

Si bien el resultado de esta investigación arroja grandes tasas de gestación con los datos obtenidos, cabe señalar que el óptimo en un programa de reproducción en caninos es precisar el momento de la ovulación de la perra para obtener mayor tasa de preñez y tamaño de camada.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abusineina, M.E.: A study of the fern-like crystalline patterns of the cervical and vaginal mucus of cattle. Vet. Rec., 74: 619-621 (1962).
2. ALLEN , E. 1992 Fertility and obstetrics in the dog. Oxford ( England ): Blackwell Scientific publications limited. p. 1-175.
3. BROWN,R. M. 1992 An update of artificial insemination with fresh, chilled, and frozen semen. Probl vet med. 4(3):p. 445-52.
4. Concannon P.W., England G., Verstegen J. and Linde-Forsbers.2001.Usos de kits comerciales para ensayos de hormona luteinizante y de progesterona en el manejo reproductivo canino
5. DAVOL,P. A. 2000. Canine Reproduction. Part 1: Reproduction and the male dog.<http://www.labbies.com/reproduction4.htm>. ( consulta : 10 de agosto 2004 ).
6. Desachy Forence ; 2000, La reproducción del perro; primer edición; editorial Vecchi.
7. ESQUIVEL ,L. C. 2002 Reproducción en pequeñas especies. Memoria de la XII de ciencia Animal ; 2002 28 Octubre- 2 de Noviembre; Torreón Coahuila. México. Formato electrónico.
8. EDWARD C, Feldman , Richard w, Nelson; 2000 ; Endocrinología y reproducción en perros y gatos; segunda edición, editorial McGraw- Hill interamericana.

9. FARSTAD, W. 2000. Assisted reproductive technology in canid species. *Theriogenology*, 53 (1) : p.175-86.
10. FOSTER, R. Y M. Smith. 2001. Artificial Isemination (AI). petEducation. <http://www.peteducation.com/repro/AI.htm>.
11. GUNZEL, A. R. 1986. Sperm collection, evaluation, preservation and artificial isemination in the dog. *Tierarztl prax*, 14(2):p.275-82.
12. HEAPE, W. 1897. Artificial insemination of mammals and the subsequent fertilisation or impregnation of their ova. *Proc Royal Soc. London*: 61: 52-56.
13. HUTCHISON, R. V. 2001. Canine Reproduction for Breeders, Seminar. Company at the 2001 Westminster kennel club show. <http://www.amchesssieclub.org/conception.html>
14. JHONSTON, D. J., M.V.R. Kuztritz y P. Olso. 2001. Canine and feline theriogenology. Philadelphia (United State) : Ed. Saunders.16:287-306.
15. MaybeMOM; TEST DE SALIVA. Consulta de internet. [http://www.maybemom.com/es/how\\_works](http://www.maybemom.com/es/how_works)
16. MC DONAL, 1975. *Veterinary Endocrinology and reproduction* . 2<sup>nd</sup> Ed. Lea end Febiger.
17. MORTON, D.B. 1986. Review on the use of frozen semen in dog breeding. *Animal Technology*, 37(1):p.67-71.



18. NURIA DE BUEN DE ARGUERO . 2001. Citología diagnóstica veterinaria, Editorial Manual moderno.
  
19. PERÉZ, O. A. 2001 . Historia Veterinaria: Verdades y mitos sobre lo que han hecho los veterinarios.  
<http://www.visionveterinaria.com/historia/04dic2001.htm>.
  
20. PURSWELL, B. J. Y N. A. PARKER 2000. Modern breeding management in dogs. Veterinary Medicine.  
<http://www.hilltopanimalhospital.com/moder%20breeding%management.htm>.
  
21. RUCKEBUSCH, Y., L. P. Phaneuf y R. Dunlop. 1991. Fisiología de pequeñas y grandes especies. México, D.F. El manual Moderno, S.A. de C.V. P.609-16.
  
22. SACHEZ, A. 1998. INSEMINACION ARTIFICIAL EN PERROS. IV Curso internacional de medicina y cirugía en pequeños animales. MEVEPA V Region- Universidad de Chile. Concon, Chile, pp.122-131.
  
23. SÁNCHEZ, A. 2000. Examen clínico reproductivo en la perra doméstica, Curso Tópicos en reproducción de pequeños animales . Universidad de Chile. Santiago, Chile, pp. 60-66.
  
24. SISSON, S., J. D. Grossman y R. Getty. 1993. Anatomía de los animales domésticos. 5 Ed. Tomo II, México: Salvat. P. 1728-41..
  
25. STORNELLI, M. A., M. C. Stornelli , M. S. Arauz y L. Sota. 2001. Inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y congelado. Aplicación y desarrollo en caninos. ANALECTA VETERINARIA, 21,1: p.1728-41.

26. VEGA GORDO ,L; Matas parra, C., 1998 Teconología de la inseminación artificial en caninos.

27. VILLALBA , G. A.1997 La inseminación artificial. Infomascota.  
<http://www.infomascota.com>.