

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CANINOS COMO ALTERNATIVA PARA
MEJORAR CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS**



ARMANDO ZAMORA GALVIS

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE.
ESPECIALIZACIÓN EN MEJORAMIENTO GENETICO
CEAD FACATATIVÁ**

2016

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CANINOS COMO ALTERNATIVA PARA
MEJORAR CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS**

ARMANDO ZAMORA GALVIS

**Trabajo presentado como Requisito para
Optar al Título de Especialista en Mejoramiento Genético**

Asesor

Luz Mery Bernal Ph.D

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE.
ESPECIALIZACIÓN EN MEJORAMIENTO GENÉTICO
CEAD FACATATIVÁ**

2016

Nota de aceptación

Director

Jurado

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado en primer lugar, a Dios por la sabiduría e inteligencia que me da día a día y el gusto que genera en mí por el aprendizaje.

A mi Esposa Sonia y nuestra hija Isabela, quienes son la principal razón para vivir y salir adelante, ya que a través de su amor, me han dado el apoyo para avanzar y alcanzar las metas propuestas.

A mis padres, pues gracias a ellos he sabido guiar y orientar mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Nacional Abierta y a Distancia, quien a través del personal y de sus profesores me ha orientado y ha permitido reunir toda la información requerida para la elaboración de este trabajo. A todos ellos mil y mil gracias y los mejores éxitos en su labor educativa. A mi hija Isabela y mi esposa Sonia, quienes me han acompañado siempre en la búsqueda de las metas propuestas y a Dios por supuesto, quien es la luz que me guía día a día muchas gracias.

Resumen

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CANINOS COMO ALTERNATIVA PARA MEJORAR CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

El presente trabajo, describe y analiza los diferentes métodos de inseminación artificial en caninos, como alternativa para mejorar aspectos genéticos, así mismo como herramienta clínica en hembras o machos con algún problema reproductivo que impide la monta natural. La inseminación artificial (IA) implica recolectar el semen de un canino o semental y luego introducirlo en el aparato reproductivo de la hembra. Para ello se realiza un programa reproductivo serio donde por medio de una evaluación y examen clínico se elige un macho y una hembra aptos, por sus niveles de instintos, impulsos, temperamento, docilidad, inteligencia y capacidad de concebir una descendencia fenotípicamente bella, genéticamente transmisible y se cruza con hembras que sean capaces de criar a los cachorros, es decir, que tengan buena habilidad materna.

El objetivo primordial de esta monografía, consiste en comprender y detallar los aspectos que permitan identificar avances, teorías y demás escritos sobre inseminación artificial (IA) en caninos, la importancia que esta podría llegar a tener en la transmisión de las características genéticas. Los caninos son maleables, es decir, se adaptan a la forma de vida de las personas, gracias a ello se ha manipulado su apariencia y su carácter durante siglos. Debido a la cría selectiva de las diferentes razas de caninos, los animales han adquirido más variedades físicas y de comportamiento, que otras especies del reino animal. Pero a qué precio, esta obsesión del hombre por las razas puras y las reglas, ha traído consecuencias no planeadas como resultados indeseables que han desencadenado enfermedades como la displasia de cadera, displasia de codo, hipotiroidismo, diabetes y enfermedades cardíacas. Esta situación ha motivado al mejoramiento genético en los caninos y ha originado un interés por la inseminación artificial (IA), incitando a la

Cinofilia y a los científicos a conocer métodos que brinden mayor confianza a criadores, a Instituciones del Estado Colombiano como son la Policía Nacional, Ejército Nacional, Armada Nacional y Fuerza Aérea Colombiana, Fiscalía General de la Nación, Instituto Penitenciario y Carcelario, así como criadores y Empresas de Seguridad Privada, principales tenedores de perros de trabajo.

Palabras Clave: Inseminación artificial, Mejoramiento Genético, Características genéticas, Cinofilia.

Abstract

ARTIFICIAL INSEMINATION IN CANINE AS ALTERNATIVE TO IMPROVE GENETIC CHARACTERISTICS

The present work, it describes and analyzes the different methods of artificial insemination in canine, as alternative to improve genetic aspects, likewise as clinical tool in females or males with some reproductive problem that prevents the natural amount. The artificial insemination implies gathering the semen of canine or breeding and then to introduce it in the reproductive device of the female. For it there is realized a reproductive serious program where by means of an evaluation and clinical examination she is elected a suitable macho and a female, for his levels of instincts, impulses, temperament, docility, intelligence and aptitude to conceive a descent phenotyping beautiful, genetically transmissible and crosses with females who are capable of raising to the puppies, that is to say, that have good mother skill.

The basic aim of this monograph, consists of understanding and detailing the aspects that allow to identify advances, theories and other writings on artificial insemination in canine, the importance that this one might manage to have in the transmission of the genetic characteristics. The canine ones are malleable, that is to say, adapt to the form of life of the persons, thanks to it his appearance and his character has been manipulated for centuries. Due to the selective baby of the different races of canine, the animals have acquired more physical varieties and of behavior, that other species of the animal kingdom. But to what price, this obsession of the man for the pure races and the rules, has brought consequences not planned as undesirable results that have unleashed diseases as the dysplasia of hip, dysplasia of elbow, hypothyroidism, diabetes and cardiac diseases. This situation has motivated to the genetic improvement in the canine ones and has originated an interest for the artificial insemination, inciting the Cinofilia and the scientists to

know methods that offer major confidence to breeders, to Institutions of the Colombian State since they are the State police, National Army, National Navy and Air Colombian Force, General District attorney's office of the Nation, Penitentiary and Prison Institute, as well as breeders and Companies of Private Security, principal holders of dogs of work.

Keywords: Artificial insemination, breeding, genetic characteristics, cinofilia.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	IV
1. INTRODUCCIÓN	12
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	14
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	16
4.1 Objetivo General	16
4.2 Objetivos Específicos.....	16
5. MARCO DE REFERENCIA	17
5.1 Antecedentes históricos.....	17
5.2 Descripción del aparato reproductivo de la hembra	17
5.3 Ciclo estral de la hembra	21
5.3.1 Proestro	22
5.3.2 Estro	25
5.3.3 Diestro	25
5.3.4 Gestación.....	26

5.3.5 Anestro	26
5.4 Determinación etapa fértil de la hembra	27
5.5 Descripción del aparato reproductivo del macho	28
5.6 Uso actual de la inseminación en la Cinofilia	30
5.7 Métodos para la obtención del semen	32
5.8 Evaluación del Semen	34
5.8.1 Características macroscópicas (a simple vista):	34
5.8.2 Características microscópicas:	35
5.8.3 Extenderes o diluyentes.....	35
5.9 Métodos de inseminación artificial	37
5.9.1 Frotis vaginal e inseminación artificial.....	38
5.9.2 Inseminación vaginal con catéter urinario o pipeta de inseminación.....	41
5.9.3 Inseminación uterina transcervical.....	42
5.9.4 Inseminación uterina mediante cirugía.....	42
5.10 Ventajas de la IA.....	43
5.11 Clave del éxito en la inseminación artificial	46
5.12 Métodos de conservación del semen	47
5.12.1 Semen refrigerado	49

5.12.2 Semen congelado.....	49
5.13 Tipo, manejo y calidad del semen utilizado.....	49
5.14 Tipos de inseminación artificial.....	50
5.14 .1 IA con semen fresco.....	50
5.14.2 IA con semen refrigerado.....	50
5.14.3 IA con semen congelado.....	51
5.15 Potencial de la inseminación artificial en hembras.....	52
5.16 Impacto de la IA.....	53
5.16.1 Impacto social.....	53
5.16.2 Impacto ambiental.....	53
5.16.3 Impacto económico.....	54
5.17 Eliminación de los defectos leves y conservación de las cualidades.....	54
6. DISCUSION.....	56
7.CONCLUSIONES.....	59
8.BIBLIOGRAFÍA.....	60

TABLA DE FIGURAS

Figura 1 Órganos esenciales de la reproducción de la hembra.....	18
Figura 2 Funciones de la vagina	19
Figura 3 Estructuras anatómicas del aparato reproductivo de la hembra.....	20
Figura 4 Cambios hormonales y características de la perra durante el ciclo estral	23
Figura 5 Fases del ciclo estral de la hembra.....	24
Figura 6 Representación de los cambios de las células del epitelio vaginal en el ciclo estral	28
Figura 7 Aparato reproductor del macho	33
Figura 8 Frotis vaginal	39
Figura 9 Frotis vaginal e inseminación artificial en caninos	40
Figura 10 Porcentaje de fertilidad y tasas de concepción mediante IA.....	43
Figura 11 Reproducción en el perro salvaje en peligro de extinción.....	43
Figura 12 La inseminación artificial en caninos.....	45
Figura 13 Criopreservación de semen canino.....	47

1. Introducción

Este trabajo investigativo pretende determinar si las diferentes técnicas de inseminación artificial (IA) son alternativas de mejoramiento genético para ser implementadas en entidades estatales, criadores profesionales y empresas privadas que emplean caninos en las diferentes especialidades como son: detección y localización de sustancias explosivas, narcóticas, divisas, investigaciones en incendios provocados, hidrocarburos, cadáveres, fauna silvestre, búsqueda de personas vivas en avalanchas o estructuras colapsadas, actividades asistidas con caninos (canino terapia, perros para ciegos), además de investigar cual es el procedimiento, ventajas y desventajas de su uso en caninos de trabajo.

En ésta investigación documental se abordaran los diversos métodos de inseminación artificial en caninos, con el propósito de ofrecer una alternativa para mejorar las características fenotípicas y genotípicas, teniendo en cuenta que el manejo depende en un alto porcentaje de las características genéticas, morfológicas, estándar racial y función zootécnica; es de gran importancia valorar alternativas de los rasgos y caracteres genéticos, para mejorar características fenotípicas, a partir de la recolección de información de diferente material bibliográfico, que permite distinguir la viabilidad que los métodos de inseminación artificial (IA) ofrecen para el mundo de los caninos, aficionados como criadores profesionales y expositores. A lo largo del documento se tratan los métodos de inseminación artificial (IA), importancia en la Cinofilia, descripción de la reproducción y ciclo estral, así como el aparato reproductivo de la hembra y del macho.

El objetivo es comprender y detallar los aspectos que permitan identificar avances, teorías y demás escritos sobre inseminación artificial en caninos, al igual la importancia que esta podría llegar a tener en la transmisión ideal de las características genéticas y morfológicas.

La inseminación artificial (IA) es el traspaso de células espermáticas del macho a la hembra a través de formas diferentes a la monta natural. Esta biotecnología reproductiva es empleada con el objeto de copiar y transferir el material genético para transmitir buenos caracteres (Lucas, 2011).

Feldman & Richard (1996) indica que las aplicaciones clínicas de la inseminación artificial (IA) en caninos son variadas: hembras inquietas o con alteraciones del comportamiento que rechazan la monta o se manifiestan agresivas hacia el macho, hembras con vagina estrecha, lo que dificulta la penetración y origina dolor, motivo por el cual la canina rehúsa el apareamiento, machos con tetanización o poca fuerza en miembros posteriores, en quienes la erección del pene se presenta rápidamente, entorpeciendo la penetración gracias al aumento del glande, machos más pequeños que las hembras, lo cual hace imposible la monta y reproductores muy distanciados geográficamente de la hembra durante el estro, entre otros factores.

2. Definición del problema

Las múltiples enfermedades que sufren los caninos de trabajo hoy en día, sumados al gran número de alteraciones genéticas van en aumento. La causa principal de este fenómeno se debe a que los caninos criados actualmente son peligrosamente endogámicos; se han cruzado indiscriminadamente sin emplear protocolos de selección de parentales de forma seria, entonces se puede llegar a inferir de donde proviene el problema, que en algunas ocasiones será hereditario, pero en otras no, radica entonces en la autocrítica y honestidad de los criadores para llegar a ser capaces de determinar los errores y corregirlos.

Por su parte la industria de las mascotas así como el sector cinófilo y de adiestramiento en el mundo, han buscado en la inseminación artificial en caninos, una herramienta de mejoramiento genético, ofreciendo razas de caninos especializadas de acuerdo a lo que el cliente desea. La inseminación artificial (IA), presenta abundantes ventajas sobre la monta natural, que son de naturaleza clínica, gracias a la facilidad de transmisión de genes de caninos con características morfológicas deseables. Es así que las diferentes técnicas de inseminación artificial (IA) han alcanzado gran popularidad y surgen como alternativa para criaderos, que presentan algún tipo de imposibilidad médica o física para realizar la monta de manera natural y mejorar sus características genéticas.

Ante lo expuesto se formula el planteamiento de problema: analizar las técnicas de inseminación artificial (IA) y estudiar su uso en caninos; resulta entonces una necesidad dado el alentador panorama que ofrecen los beneficios que se citan, por lo tanto se plantea la siguiente pregunta de investigación, ¿cuáles son los instrumentos y avances alcanzados con la incorporación de las técnicas de inseminación artificial (IA) en caninos para mejorar características morfológicas y genéticas?

3. Justificación

El tema ha generado interés en gran parte, por el abordaje que se ha hecho mediante la biotecnología reproductiva, para perfeccionar características genéticas y para mejorar parámetros reproductivos en el caso de animales productivos. La demanda de servicios relacionados con la reproducción de caninos, cuyo fin no es otro sino el de conservar los genes de las razas puras, se convierte entonces en una prioridad para el sector reproductivo, reconocer las diversas tecnologías como una opción para mejorar características deseables. Desde el punto de vista institucional, para las Fuerzas Militares, Empresas de Seguridad y Vigilancia y demás Entidades Estatales que emplean caninos de trabajo para su labor diaria como herramienta de apoyo, resulta muy importante la inseminación artificial (IA) como alternativa para la reproducción, en especial en caninos con limitaciones médicas o que deben trasladarse entre ciudades, lo que permitiría establecer la crianza de caninos genéticamente aptos para desempeñarse en este campo de una manera más profesional. Es necesario entonces que se lleve a cabo un adecuado y riguroso programa de reproducción, donde se realice una evaluación rigurosa de los parentales, para determinar si son aptos para iniciar un programa reproductivo. Esta evaluación adicionalmente permite identificar patologías funcionales o fisiológicas de enfermedades reproductivas, degenerativas y también enfermedades zoonóticas que pueden comprometer la salud de las personas. Es recomendado que las hembras ingresen al programa de reproducción entre los 18 a 24 meses de edad, cuando ha pasado su segundo o tercer celo y los machos de 12 meses de edad respectivamente.

Posteriormente se debe realizar un examen clínico veterinario general a las hembras y machos, que incluya la historia clínica de los mismos, para determinar que no presentan ningún problema de salud y así iniciar con la técnica de inseminación artificial acorde al programa establecido.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Describir la importancia de la inseminación artificial en la transmisión ideal de características morfológicas y genéticas en caninos de trabajo.

4.2 Objetivos Específicos

- Presentar una revisión general sobre las técnicas de inseminación artificial y los usos clínicos de las mismas.
- Documentar las ventajas que presentan las técnicas de inseminación artificial en caninos.
- Analizar las diferentes técnicas de inseminación artificial en caninos.

5. Marco de referencia

5.1 Antecedentes históricos

Como afirma Mayo (2014) la inseminación artificial (IA) en caninos la materializó Lázaro Spallanzani en 1780 en una perra de raza Spaniel de la que nacieron dos cachorros, un macho y una hembra. En los Estados Unidos, en 1956, Harrop obtiene el primer parto en una perra tras ser inseminada con semen recogido en Gran Bretaña. En 1969, Seager, en Estados Unidos, obtiene la primera camada nacida después de una inseminación artificial con semen congelado.

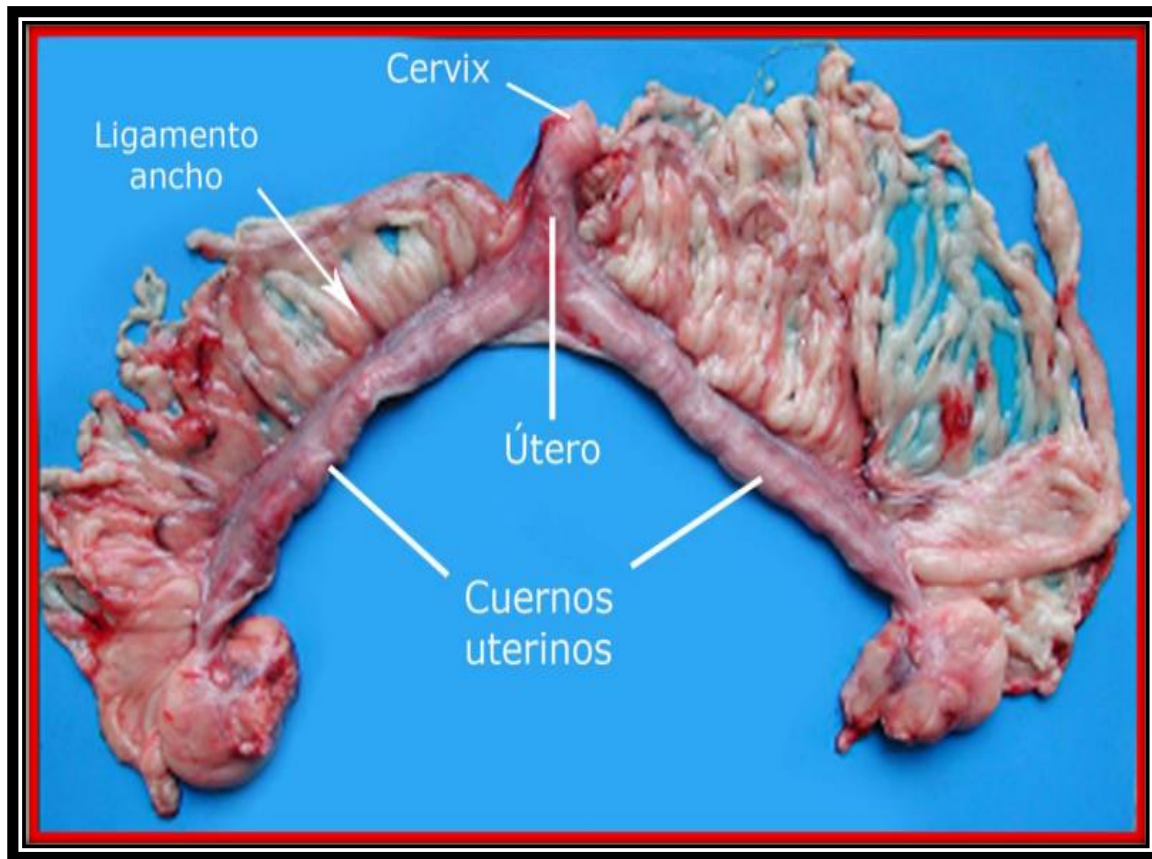
En una revisión documental publicada por Mayo (2014), se describen los estudios realizados por Carbonero Bravo en España (1944), quien fue pionero en emplear la técnica de masturbación para la obtención de semen fresco en USA y de Harrop quien consigue el primer alumbramiento de una canina luego de ser inseminada con semen proveniente de un canino de Gran Bretaña. El Norteamericano Seager en el año de 1956, obtiene los primeros cachorros nacidos tras una inseminación artificial realizada con semen congelado. Durante el año de 1987 Wealter Heape realiza un estudio sobre inseminación artificial (IA) en caninos y deduce que durante una sola eyaculación, se podrían servir varias perras, siendo esto una poderosa herramienta para investigar los diversos componentes genéticos, (Mayo, 2014).

5.2 Descripción del aparato reproductivo de la hembra

Es importante la comprensión de la anatomía funcional del aparato reproductivo de la canina, para establecer bases que encaminen al estudio de la reproducción y de las diferentes técnicas empleadas en la misma.

El aparato reproductor de la hembra se divide en ovarios y órganos tubulares: útero, oviducto, cérvix, vagina, clítoris y vulva. (Páramo & Balcázar, 2008)

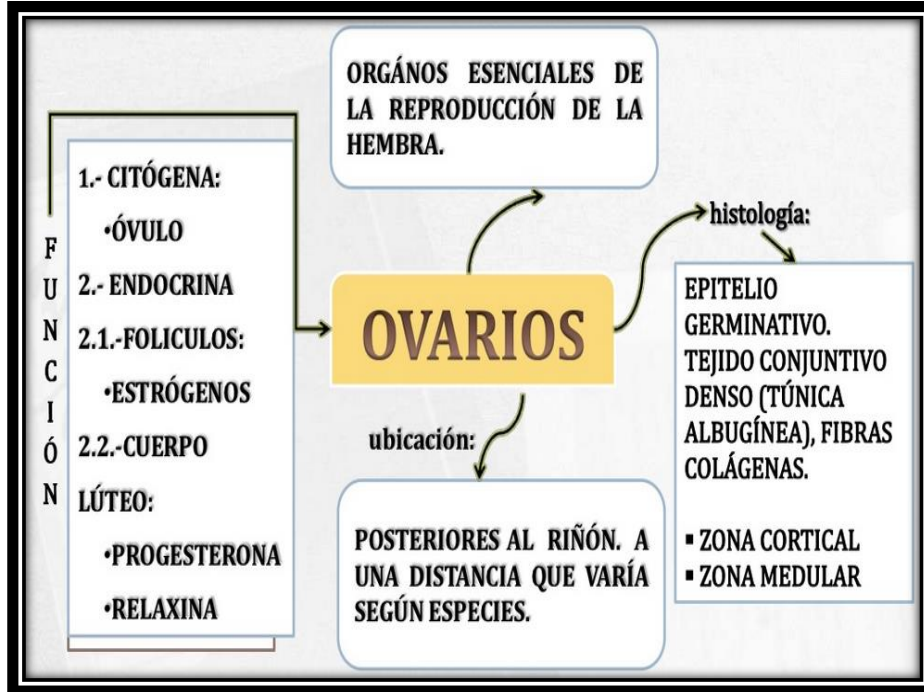
Figura 1. Distribución anatómica del aparato reproductivo de la perra



Fuente: Páramo & Balcázar (2008)

Ovarios: Están albergados en el interior de la bolsa ovárica. Están unidos al útero por medio de un ligamento del ovario y a la última costilla por medio del ligamento suspensorio del ovario llamado Mesovario. Tienen forma helicoidal, su tamaño varía dependiendo de la raza y su superficie según la etapa del Ciclo estral en la que esté la hembra. Tiene 2 funciones: la primera es producir óvulos y la segunda secretar hormonas. (Paramo Ramirez, 2005)

Figura No 2 Ovarios: Función, ubicación e histología.



Fuente: Lambayeque (2012)

Oviducto: El oviducto constituye un tubo muscular pequeño sostenido por el mesosálpinx. Su abertura cercana al ovario tiene forma de embudo y se le denomina infundíbulo, el cual se continúa con el ámpula y finalmente con el istmo, que se unirá a la cavidad uterina en la os uterina o unión útero-tubárica. (Páramo & Balcázar, 2008)

Útero: El útero, posee un cuerpo y dos cuernos; el de la perra se clasifica como bicórneo de Fusión baja, pues los cuernos son mucho más grandes que el cuerpo del útero. (Páramo & Balcázar, 2008)

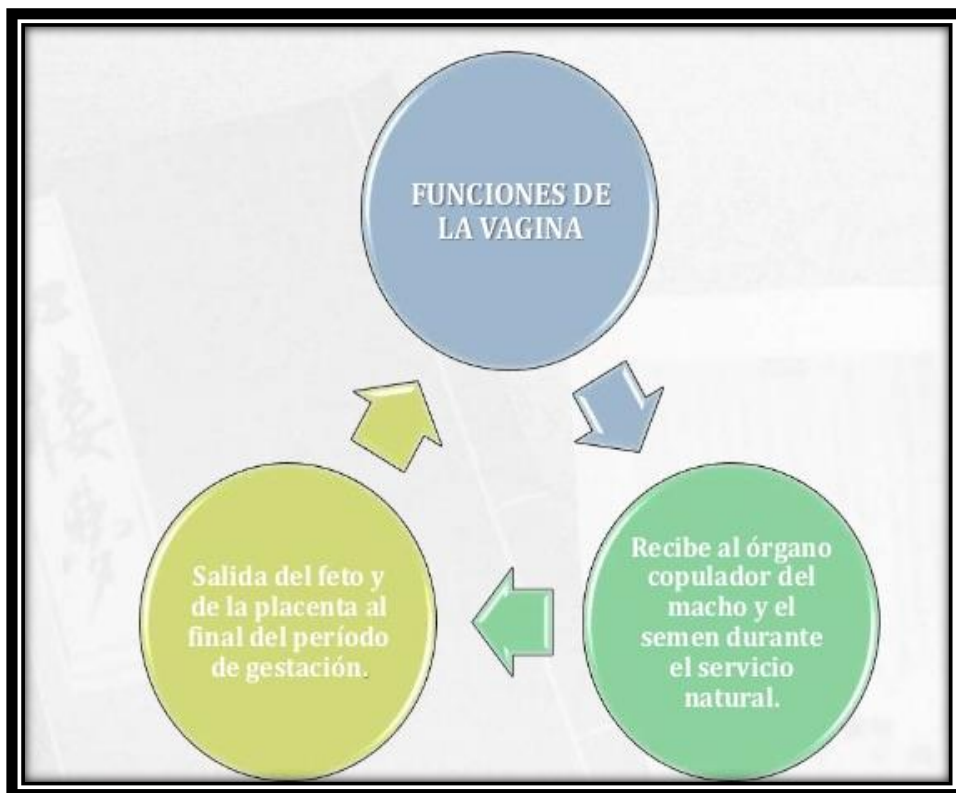
Cérvix: El cérvix es el órgano que separa el útero de la vagina, protege al primero del contacto externo, con excepción del momento del parto y el periodo de estro. El lúmen del cérvix se denomina canal cervical; se encuentra en la parte posterior y dorsal de la vagina, se halla limitado en su parte inferior por un fondo de saco, cuya función es llenarse de semen, para que después

pase por el cérvix hacia el útero. La mucosa cervical forma gran cantidad de pliegues, cuyo epitelio

contiene células productoras de moco. (Páramo & Balcázar, 2008)

Vagina: La vagina representa un órgano fibromuscular de pared gruesa, se extiende desde el cérvix hasta la vulva. Consiste de mucosa muscular y adventicia. A ésta la forma un epitelio escamoso estratificado que descansa sobre una gruesa lámina propia. Éste es capaz de variar en grosor y tipo celular con el ciclo ovárico y la producción diferencial de hormonas esteroides, por ello puede determinarse la etapa del ciclo estral. (Paramo Ramirez, 2005)

Figura 3. Funciones de la vagina



Fuente: Lambayeque (2012)

Vulva: La vulva constituye la porción terminal del aparato genital femenino. Está formada por labios vulvares, izquierdo y derecho, que se unen en las comisuras dorsal y ventral. En la comisura ventral de la vulva se encuentra el clítoris, que es el homólogo del pene. (Paramo Ramirez, 2005)

5.3 Ciclo estral de la hembra

Feldman & Richard (1996) manifiesta que la reproducción está regulada por dos sistemas: El primero o general en el cual, participan el hipotálamo, la hipófisis y las gónadas masculinas o femeninas según el caso y el segundo, en la cual intervienen las células del ovario como son: granulosa y teca y del testículo, células de Leyding y células de Sertoli. En ambos casos la ínfima relación que hay entre cada una de sus partes es ampliamente significativa, lo que ratifica la agrupación de fenómenos de retroalimentación positiva y negativa para un adecuado funcionamiento del desarrollo reproductivo. Estas regulaciones se realizan a través de la segregación de factores de liberación (hipotálamo-hipófisis) que algunas veces ocasionan alteraciones en órganos indirectamente involucrados con el sistema. Como sostiene (Feldman & Richard, Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 1996) la regulación general está controlada principalmente por los siguientes factores:

- a.- El fotoperiodo, del orden ambiental
- b.- Tipo y cantidad de receptores en la célula blanca
- c.- Factores genéticos
- d.- Variables del orden social macho y hembra
- e.- Elementos del tipo retroalimentación positiva y negativa
- f.- Cantidad y estructura química de las hormonas incluidas
- g.- Metabolismo de la combinación hormona y receptor

El ciclo estral canino, se cataloga como monoéstrico, ya que incluye un tiempo de inactividad sexual conocido con el nombre de anestro. Como norma universal, las perras tienen dos ciclos al año, sin embargo en algunos casos como en la raza Basenji, Siberian Husky y Alaskan Malamute, se puede presentar solo un ciclo al año. Es decir, se cree que uno de los aspectos que interviene en la presencia del ciclo estral es la raza, pero, algunas investigaciones han concluido que el medio ambiente tiene un efecto considerable sobre la actividad reproductiva de la hembra, presentándose una mayor cantidad de celos durante el otoño y la primavera.

Jones (1984) explica que el ciclo estral de la hembra tiene 4 periodos: proestro, estro, diestro y anestro.

5.3.1 Proestro

Es el inicio del ciclo estral con predominancia de sangrado vaginal y con una duración de nueve días en promedio.

Esquivel Carlos (2013) define esta etapa como el origen del ciclo estral, pues es cuando la hembra empieza a “sangrar”, lo que se hace un signo evidente. Dura aproximadamente 20 días y en promedio 7 a 9 días. En este periodo se evidencia aumento folicular y es la etapa que antecede al estro. La Hormona Estimulante del Folículo (FSH) es la encargada del crecimiento folicular y de la secreción de los estrógenos produciendo la presencia de los siguientes signos característicos:

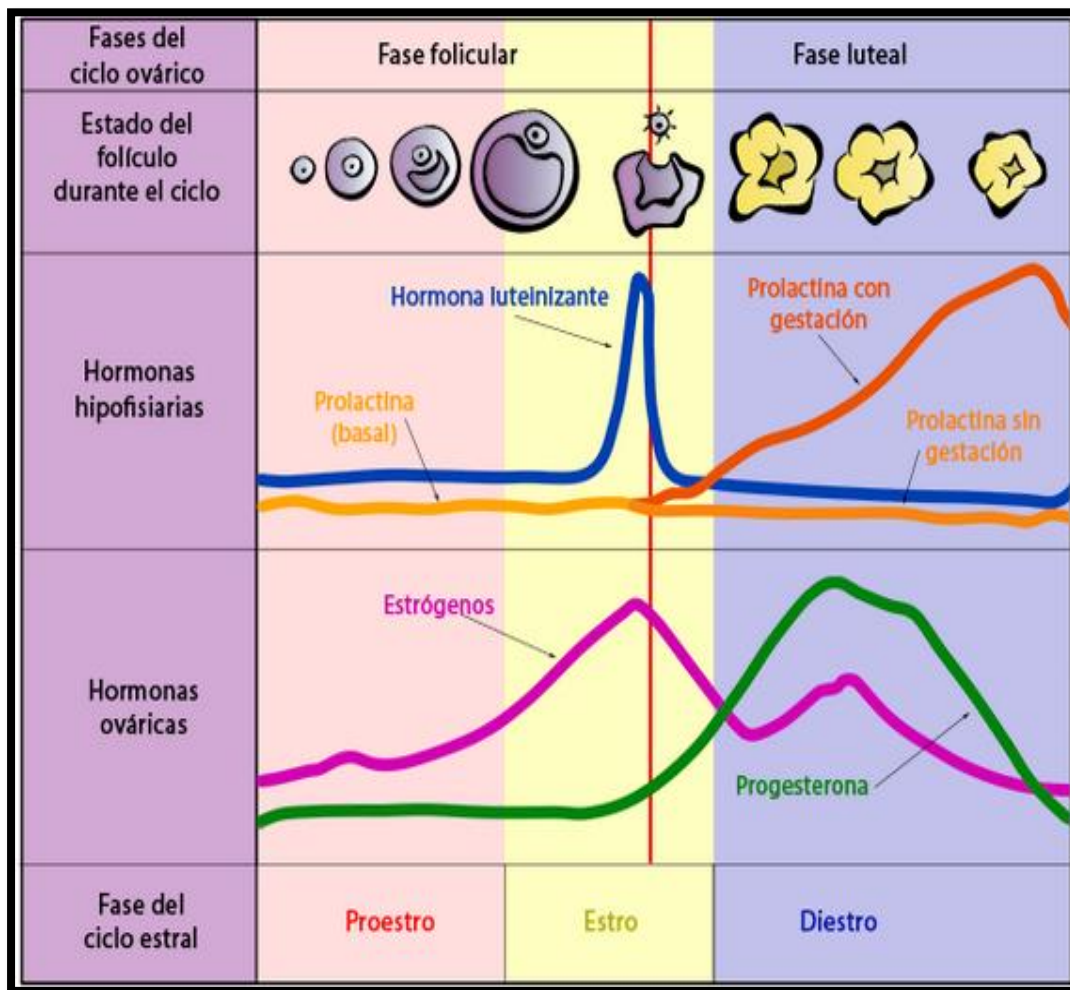
- El edema o inflamación vulvar.

- La secreción vaginal mucosanguinolenta que se transforma en cuanto a cantidad según la raza, lo que puede producir confusión en el momento de la detección, sobre todo en perras de largo pelaje. Esta secreción se produce por diapédesis es decir la ruptura de capilares del

endometrio. En algunas perras solo se puede observar un lamido excesivo de la zona perianal y en hembras de pelaje negro algunas veces no se evidencia la secreción.

-La segregación de feromonas que atraen al macho, a partir de la orina o de las glándulas paranales, aunque la perra no esté lista para la monta aún.

Figura 4. Cambios hormonales y características de la perra durante el ciclo estral



Fuente: Páramo & Balcázar (2008)

Figura 5 Fases del ciclo estral de la perra

FASES DEL CICLO ESTRAL	DURACIÓN	CARACTERÍSTICAS	CAMBIOS HORMONALES
PROESTRO	3 - 17 días	Desarrollo de los folículos ováricos Mayor irrigación del aparato genital Aumento del tamaño de la vulva Sangrado vaginal Dispersión de feromonas	Aumento de estrógenos Ligero aumento de progesterona al final de esta fase Ligero aumento de testosterona al final de esta fase
ESTRO	3 - 17 días	Ovulación Edematización vaginal Desarrollo del cuerpo lúteo Aceptación del macho	Pico de LH al comienzo de esta fase Aumento de progesterona Descenso de estrógenos
DIESTRO	60 - 150 días	Gestación / pseudogestación y lisis del cuerpo lúteo	Estrógenos a nivel basal Progesterona a nivel basal al final de esta fase Aumento de prolactina
ANESTRO	Variable Promedio de 120 días	Inactividad ovárica Desinterés sexual Momento propicio para practicar OVH	Progesterona a nivel basal Aumento de estrógenos al final de esta fase

Fuente: Lees & Castleberry (1977)

5.3.2 Estro

Es el periodo fértil de la hembra que se encontrará receptiva al comienzo de esta etapa. Tiene una duración promedio de nueve días.

Para Esquivel Carlos (2013) el estro conocido también como celo, se deriva del griego oistros que significa deseo manifiesto. Se considera el inicio del estro, cuando hay receptividad sexual y la perra recibe al macho dejándose montar y el final cuando esto ya no sucede. La duración del estro puede variar de 3 a 5 días, a partir de terminado el proestro, por lo tanto resulta difícil establecer una fecha exacta para todas las perras. Por otro lado la concentración de progesterona en sangre aumenta de 72 a 96 horas antes de la ovulación. Esta progesterona es producida por las células del cuerpo lúteo dentro del ovario y contribuye a que se presente la ovulación.

El tope más alto de los estrógenos se alcanza 1 a 2 días antes del inicio del celo, y la ovulación ocurre 24 a 48 horas después de haberse iniciado el estro. La hembra evidencia los signos clínicos de celo siempre y cuando existan niveles adecuados de estrógenos en la sangre. Los signos clínicos más habituales son alteraciones en el comportamiento; la hembra se hace receptiva al macho, retrae la región perineal al contacto con el mismo y se queda quieta afirmándose en sus extremidades para favorecer la penetración. También se observan ciertos aspectos físicos como que la vulva se hace flácida, y agrandada en su tamaño como una fresa, la secreción vaginal continua aunque de un color rosado a transparente como clara de huevo.

5.3.3 Diestro

Es la etapa post estral de ciclo, si la hembra queda preñada, la duración del diestro será de 63 días promedio, de lo contrario tendrá una duración aproximada de 100 días.

Según Esquivel (2013) es la etapa que se sucede después del celo y empieza el primer día en que la perra ya no acepta al macho, la duración es de 63 días en la perra gestante y de 100 días en

perras no preñadas. Después de ocurrida la ovulación, continúa el crecimiento del cuerpo lúteo dentro de la cicatriz folicular y por consiguiente los niveles de progesterona en sangre siguen elevándose, alcanzando su tope máximo 20 a 30 días después de la ovulación o quizás hasta 2 o 3 semanas después del inicio del diestro manteniéndose aproximadamente por 1 ó 2 semanas.

Signos clínicos del diestro:

- La perra rechaza la monta del macho.
- La hembra ya no atrae con sus feromonas y hormonas al macho.
- La vulva involuciona a su tamaño habitual (tamaño anebral), desapareciendo la flacidez y la secreción.

5.3.4 Gestación

Esquivel Carlos (2013) sostiene que la gestación en la perra dura aproximadamente de 58 a 63 días promedio, con variaciones que van hasta los 66 días. Se inicia con la fecundación, que ocurre durante el celo, aunque debido a algunas características del desarrollo embrionario de la perra la gestación se debe contar a partir del final de la receptividad sexual-monta o cuando el examen de citología vaginal indique que el estro ha concluido. En las perras gestantes como en las no gestantes, los niveles de progesterona son muy similares, disminuyendo sus niveles hacia el día 63, en las hembras preñadas para la presentación del parto y a los 100 días en las hembras no gestantes.

5.3.5 Anestro

Es un intervalo de tiempo entre 4 y 9 meses en el cual no existe actividad ovárica. Esquivel (2013) define este periodo 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). El anestro también se ha definido como un período de inactividad del eje ovario – hipófisis. 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. En cambio en las perras gestantes es evidente que el parto marca la demarcación entre gestación y el inicio del anestro. Durante el anestro ocurre la involución uterina posparto o bien la preparación del útero para el siguiente ciclo.

Según Galina & Valencia (2006) la duración del anestro varía dependiendo de diversos factores como la raza, estación del año y la edad teniendo como promedio 4 a 7 meses si la perra cicla 2 veces al año y 9 a 11 meses si cicla una sola vez.

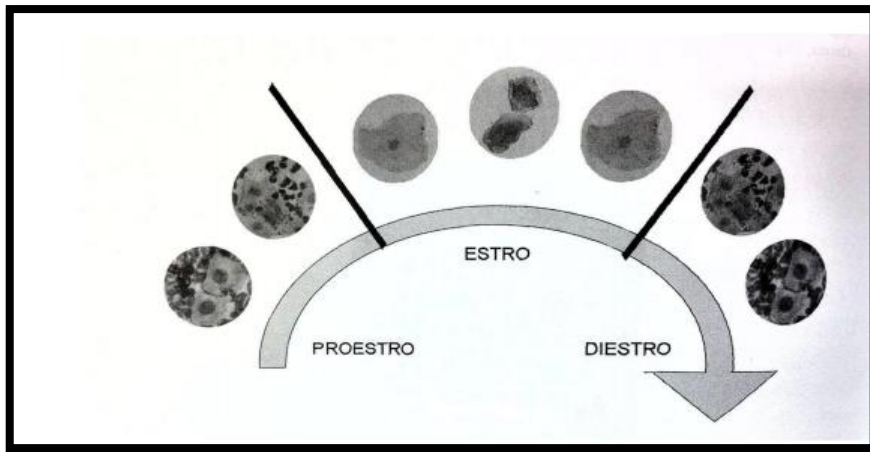
5.4 Determinación etapa fértil de la perra

Cronje, P.B. (2000) explica la técnica usada para detectar las etapas del ciclo estral de la perra y por consiguiente la etapa fértil de la misma, se denomina Citología vaginal exfoliativa, y consiste en comprobar el tipo y la cantidad de células en las diferentes fases del ciclo estral de la hembra, debido a cambios hormonales que suceden en la mucosa vaginal durante este ciclo los cuáles se reflejan en la morfología de las células del epitelio. Así mismo, Velásquez E. (2013) manifiesta que los efectos de los estrógenos al comienzo del ciclo estral en el epitelio vaginal, tienen que ver con un aumento de la irrigación sanguínea que a su vez estimula el epitelio vaginal para que se vaya engrosando, al mismo tiempo que los niveles de estrógenos van aumentando, generando cambios en la forma de las células. Al aproximarse el estro se incrementa el número de capas del epitelio vaginal y se acelera el proceso de descamación de las mismas. El paso de los eritrocitos a través de la membrana basal y de todas las capas celulares se hace evidente, y no hay presencia de neutrófilos, pues no deben de encontrarse en la vagina durante el estro ya que su presencia sería indicativo de una enfermedad infecciosa.

Davidson (2004) explica la citología vaginal exfoliativa como la manera de identificar la etapa del ciclo estral en que se encuentra una perra, dado que resulta de gran valor para determinar

el momento preciso para realizar la monta o una inseminación artificial, teniendo en cuenta que la ovulación ocurre durante el estro; además de servir para la detección de patologías del aparato reproductor como vaginitis, identificación de células tumorales como es el caso del tumor venéreo transmisible (TVT) o diversos carcinomas, pero su uso principal es para determinar la etapa del ciclo estral con alta actividad estrogénica. La citología vaginal es considerada una herramienta diagnóstica de bajo costo y de fácil realización ya que requiere poco material y tiempo para su interpretación y diagnóstico. Cuando forma parte de un plan diagnóstico, la citología vaginal ayuda al clínico para conocer la fecha probable de parto.

Figura 6 Esquema que muestra los cambios que sufren las células del epitelio vaginal durante el ciclo estral



Fuente: Galina, C; Valencia, J (2008)

5.5 Descripción del aparato reproductivo del macho

Páramo & Balcázar (2008) define el aparato reproductivo del macho, como el responsable de producir los espermatozoides, que son las células que se encargarán de fertilizar el óvulo de la hembra y las secreciones o fluidos ayudarán a su transporte y mantenimiento. Los testículos por

su parte son dos órganos de forma ovoide ubicados en la región inguinal del macho y están cubiertos y sostenidos por el escroto, constituido por fibras musculares muy delgadas (llamadas músculo cremaster), el peritoneo o membrana que recubre internamente a los testículos y a los conductos deferentes, nervios, vasos sanguíneos y linfáticos. El testículo está formado por los túbulos seminíferos en donde se producen los espermatozoides, hormonas y los líquidos que nutren y transportan a los mismos.

Los espermatozoides y los fluidos caen en los conductos deferentes y de allí son llevados hacia el Epidídimo, estructura que cubre la parte superior de los testículos, y lugar donde terminan su maduración y se almacenan. A partir de éste sitio, éstos circulan a través de los conductos deferentes que entran en el abdomen atravesando el canal inguinal y se conectan con la uretra. Otro órgano de igual importancia es la próstata; que consiste en una glándula formada por tejido muscular liso, ubicado en el inicio de la uretra y rodeado cerca del cuello de la vejiga. Tiene canales para evacuar los fluidos prostáticos que desembocan en la uretra. La uretra por su parte, está constituida por membranas mucosas formadas por tejido cavernoso eréctil, y tiene como función transportar tanto orina como secreciones seminales, es larga y en su primera porción está conectada con la vejiga urinaria.

La segunda parte constituye el pene que está sostenido a los huesos de la pelvis por tejido fibroso y está situado en medio de los muslos del perro, tiene una parte fija cilíndrica, ligeramente aplastada a los lados y una parte movable formada por el glande que en su extremo anterior es cónico. Este tejido al llenarse de sangre, con ayuda del músculo erector del pene permite la erección para la monta. También en el pene se encuentra lo que se denomina el hueso del pene llamado Ossa Penis (conformado por cuerpo esponjoso osificado) que en conjunto con el glande colabora en la penetración del órgano durante la cópula. Luego se encuentra el bulbo

del pene, también formado por tejido eréctil de la uretra, hasta llegar al prepucio, piel que protege al glande y recubre al pene.

5.6 Uso actual de la inseminación en la Cinofilia

Para Velásquez E. (2013) la inseminación artificial está indicada cuando se presenta incompatibilidad genital: como es el caso de cruzar perros de diferente talla. Cuando se presenta indiferencia sexual, es decir en perros que provienen de una misma camada y que han vivido juntos por mucho tiempo. En el caso de problemas en la estructura del pene en el macho o de la vagina en el caso de la hembra. En ausencia del reflejo sexual, generalmente a través de captación de feromonas o de hormonas, de este modo la ausencia del reflejo sexual determina una excitación sexual inútil acompañada por consiguiente de incapacidad reproductiva. Por razones productivas, en los caninos existe gran variedad de razas y cada una tiene una función determinada por lo que es necesario conservar sus características de acuerdo a su trabajo, económicamente interesante debido al valor que adquieren los animales de razas muy selectas cuando provienen de padres campeones.

Existen razas como el bulldog en los que la reproducción generalmente se lleva a cabo por inseminación artificial ya que el macho por la disposición de su nariz (braquiocefálicos) se cansa fácilmente y no puede llevar a cabo la cópula.

Al respecto, Feldman & Richard (1996) afirman que algunas aplicaciones clínicas de la inseminación artificial en perros, son:

Hembras nerviosas o con problemas de conducta hacia el macho que evitan el apareamiento. Así como con baja libido.

Machos con rigidez o debilidad de las extremidades posteriores.

Machos en los cuales la erección del pene ocurre demasiado temprano, imposibilitando la penetración debido al engrosamiento del glande.

Por su parte Sánchez (1998) explica otros usos clínicos durante los cruces, bien sea por anatomía de las razas o por la diferencia de peso con respecto a las hembras al momento de la monta.

- Cuando se emplea semen importado o por dificultad en la presencia de alguno de los progenitores.
- Para evitar enfermedades de transmisión sexual como Tumor Venéreo Transmisible (TVT).
- En perros agresivos para mantener la integridad de alguno de los reproductores.
- En perros de óptima calidad genética que sean incapaces de la cópula por la edad, eyaculación precoz o por problemas musculares o locomotores, tanto del macho como de la hembra.
- En algunas ocasiones, cuando los perros viven juntos, la indiferencia sexual de los reproductores, hace que el macho no quiera montar a la hembra.
- Es más económico el traslado de semen que el de reproductores.

En la actualidad y dado que la reproducción y crianza de perros es una afición de distribución mundial, la preservación de semen y la inseminación artificial en la especie canina es un tema de gran interés para los médicos veterinarios y criadores de muchos países.

Para Galina & Valencia (2006) las expectativas de cruzar razas en todo el mundo se ven satisfechas con la IA. La inseminación artificial (IA) en caninos, se realiza con semen fresco, refrigerado y congelado, siendo las asociaciones de registro canófilo de cada país las encargadas de regular esta práctica, restringiendo el derecho de uso de esta biotecnología, así como la congelación y el almacenamiento del semen, sólo a determinadas entidades. El principal punto a tener en cuenta para las asociaciones canófilas, es que la identidad del semen sea controlada en

forma muy estricta, para asegurar la procedencia de los machos que se desean utilizar. Asimismo, se requiere de un registro de los perros a los cuales se les tiene semen guardado así como la cantidad de cada uno y el tiempo de preservación o si un propietario desea congelar semen pero no puede desplazarse a un banco de semen, existen kits que permiten el envío de semen refrigerado a un banco de semen para que posteriormente se realice la congelación y almacenamiento o envío.

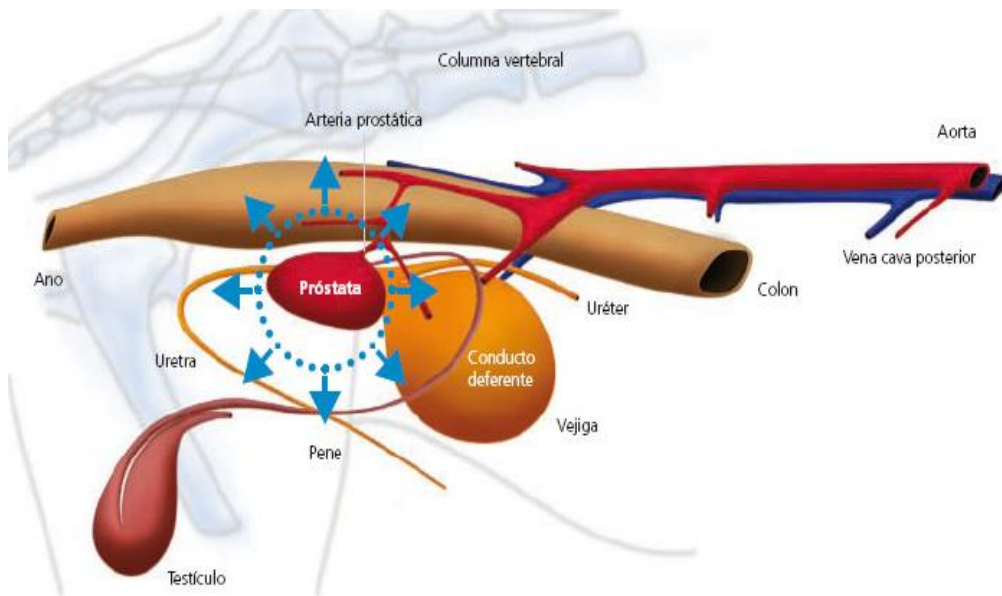
5.7 Métodos para la obtención del semen

Según Velásquez R. , (2008) antes de la toma de la muestra se requiere realizar una adecuada limpieza de la zona prepucial y de la cavidad abdominal, ya que generalmente la mejor forma de extraer la muestra es por medio de la masturbación prepucial. Con el fin de facilitar la eyaculación, resulta útil contar con la presencia de la hembra en celo, o en su defecto, con un hisopo empapado de secreciones vulvares de una perra en celo. Es importante también evitar al máximo la presencia de personas en lo posible, para disminuir el estrés y los distractores en el macho en el momento de tomar la muestra. Luego el médico veterinario debidamente capacitado, realiza una leve estimulación del bulbo del pene mediante un suave masaje a través del prepucio y rápidamente, antes de que se produzca una erección total, a desenfundar el pene por detrás del bulbo. Una vez retirado el prepucio se hace una leve presión sostenida en la parte trasera del bulbo del pene y en ese momento el pene se gira 180 grados hacia atrás, simulando el abotonamiento en la monta natural, continuando con la presión hasta que empiece a eyacular para hacerlo lo más natural posible y no generar traumatismos en el perro.

La primera fracción que el animal eyacula es la pre-espermática, que es pobre en espermatozoides y muy escasa y es proveniente de la próstata, y generalmente es un líquido transparente e incoloro. Posteriormente sigue la fracción espermática, rica en espermatozoides y de color blanquecino lechoso.

Para García (2008) es importante realizar presión pulsátil sobre la uretra para facilitar la eyaculación en animales no experimentados en este proceso. Luego de la fracción espermática comienzan los movimientos pulsátiles de la uretra y es en este momento que comienza a eyacular la tercera fracción también proveniente de la próstata, nuevamente carente de espermatozoides y traslucido e incoloro. Terminando de ésta manera con la recolección del semen y evaluación del mismo. Se debe tener un especial cuidado con el manejo del eyaculado completo, ya que cualquier cambio en la temperatura y un mal manejo podrían producir la destrucción de los espermatozoides.

Figura 7. Aparato reproductor del macho



Fuente: Tomada de: <https://jesade.wordpress.com/category/inflamacion/>

5.8 Evaluación del semen

Para Jiménez (2005) la evaluación del semen especialmente cuando va a someterse al procedimiento de congelación es un fundamental, pues no todos los machos poseen un semen susceptible de ser congelado, y el éxito que se obtendrá dependerá en muchas ocasiones de las condiciones del manejo y del eyaculado.

5.8.1 Características macroscópicas (a simple vista):

Martin, Espinosa, & Josa (1977) explican que desde el momento del eyaculado se evalúa el color, siendo este normal cuando es "banco nacarado" la tonalidad varía de un semental a otro; esto depende del tipo de alimentación, nunca deberá ser de color rojizo porque esto indica presencia de sangre a causa de hemorragias en pene o cualquier otro órgano, o infecciones internas. Un experto debe examinarlo y no debe estar contaminado con bacterias, pus u orina.

Por su parte el olor procede de las glándulas prepuciales, saco prepucial y sacos anales, en general podemos decir que en este punto se busca que no presente olor pútrido, ácido, urinoso (amoniacal), teniendo un olor característico de la especie.

Esquivel Carlos (2013) manifiesta que el volumen del eyaculado varía muchísimo en el individuo según la raza (tamaño), edad, experiencia y grado de excitación. Afirman también que se han llevado a cabo estudios en las diferentes razas y se logró determinar que en razas de talla pequeña como el Chihuahua, el volumen es de 1.5 a 5.0 ml; en perros de talla mediana como el Pastor Alemán, el rango es de 4 a 10 ml; en animales de talla gigante como el Lobero Irlandés, es de 20 a 48 ml; lo importante del volumen es que éste se encuentre dentro de los rangos permitidos para esa raza y la segunda fracción (espermática) sea de muy buena calidad para conservar el eyaculado.

Para Feldman (2004) el pH se determina mediante el uso de tiras reactivas; para ello se pone sobre esta tira una gota de semen y el pH adecuado deberá estar dentro de los rangos de 6.5 a 7 y debe ser controlado por un experto.

5.8.2 Características microscópicas:

Existen varias características microscópicas que se han de estudiar para comprobar la calidad del líquido seminal, dentro de las que encontramos la motilidad, que se basa en evaluar la capacidad motora de los espermatozoides, se pone una gota sobre un porta objetos y se ve al microscopio. Se evalúa tanto individual como en masa, este movimiento debe ser progresivo, intenso, un buen semen deberá presentar movimientos de más del 80 a 85% de los espermatozoides para considerarse de buena calidad. (Velásquez E. , 2013)

Jiménez (2005) manifiestan que para observar la morfología, el semen se tiñe con el colorante eosina-nigrosina y se evalúa en el microscopio la cabeza, el flagelo (cola) y el porcentaje de muertos. Estas características se reportan como anormalidades primarias y secundarias y al final se da un total, el cual no deberá ser mayor a 15-20% de anormalidades y mortalidad del 10% si rebasara estos valores el semen no es de buena calidad y por lo tanto, no deberá ser utilizado.

Así mismo se evalúa la concentración, la cual varía dependiendo de la raza, así como de la experiencia del semental, de las recolecciones y montas que se le hayan dado antes, sin embargo, se puede decir que una concentración aceptable va de 200 a 500 millones de espermatozoides por eyaculado.

5.8.3 Extenderes o diluyentes

Held (1997) explica que para que un diluyente sea efectivo debe contener sustancias parecidas al plasma seminal, pues este lo debe proteger durante un tiempo determinado, por ello un diluyente

debe tener ciertos compuestos básicos como son:

Una fuente de energía (azúcares) cuya función es reemplazar el agua molecular, los disacáridos como la sacarosa o la lactosa han sido utilizadas porque se ha observado que protege la integridad acrosomal mejor que la glucosa o fructosa Held (1997). Un buffer o amortiguador para mantener el balance de pH (Tris o citrato de sodio); Osmolaridad de la solución (sustancias iónicas o no iónicas). Una fuente de lipoproteínas o material con alto peso molecular para prevenir el choque térmico, tal como la leche o la yema de huevo que protege durante la congelación, pues que se adhiere a la membrana y la recubre, esta facultad de protección se debe a la gran densidad de la fracción de lipoproteínas según lo afirman (Stornelli, Stornelli, & Arauz, 2001)

Un crioprotector (glicerol o DMSO); así como aditivos (enzimas y antibióticos)

Una tasa de dilución del semen típica sería de 1: 3, es decir, una parte del semen por tres partes de Extender, por lo que es necesario un suplemento con el 4 % de glicerol, para dar lugar a una concentración final de glicerol del 3 % después de una dilución 1: 3. (England, Russo, & Freeman, 2009)

Según la FCM Federación Canófila Mexicana (2012) los medios de dilución que son agregados al semen deben cumplir estas funciones:

- Aportar nutrimentos como fuente de energía.
- Proteger contra el efecto nocivo del enfriamiento rápido.
- Ser amortiguadores que impiden cambios perjudiciales en el pH.
- Mantener la presión osmótica apropiada y el balance electrolítico.
- Inhibir la proliferación bacteriana
- Incrementar el volumen del semen.
- Proteger durante el proceso de congelación.

5.9 Métodos de inseminación artificial

Según Feldman & Richard (1996) la inseminación artificial en caninos con semen fresco o congelado es una práctica común en algunos países, es poco conocida a pesar de que ofrece numerosas ventajas para el desarrollo de una Cinofilia eficiente, esto quizá se debe a la escasez de trabajos realizados en esta área.

El término inseminación artificial significa colectar el semen de un macho, para posteriormente introducirlo en el aparato genital de la hembra. La Inseminación Artificial (IA) ha sido recomendada en aquellos casos en que la monta natural no se pueda llevar a cabo, ya sea por factores anatómicos, psicológicos u otros.

Varios factores pueden ocasionar que los dueños de perras con problemas para aparearse normalmente recurran a la IA, ya sea con semen fresco o congelado, siendo contraindicada en caso de que exista la posibilidad de transmitir alguna enfermedad de origen hereditario en la progenie, por ejemplo, el criptorquidismo. Por lo tanto, al empezar a realizar el manejo reproductivo del paciente canino se debe tener el historial clínico completo de los pacientes. Se debe identificar la etapa del ciclo estral en que se encuentra la canina (de preferencia la perra debe ser llevada al médico veterinario 2-3 días después de iniciado el sangrado) esta identificación puede ser realizada por medio de la citología vaginal exfoliativa que determina el momento propicio para la inseminación. Además debe realizarse una exhaustiva evaluación del semen por personal especialista en esta técnica.

Según Stornelli & Arauz (2001) la técnica para inseminar con semen congelado es más complicada porque se realiza intracervicalmente no intravaginalmente como ocurre con el semen fresco. Sin embargo, a pesar de estas complicaciones técnicas, es factible realizar la congelación de semen canino siempre y cuando se cuente con los conocimientos, el equipo y la técnica adecuada para poder hacerlo lo cual implica que la IA así como la evaluación reproductiva de los pacientes

debe ser realizada por un especialista. La fertilidad obtenida cuando se insemina con semen congelado, es menor en comparación con la fertilidad obtenida con semen fresco (83.8 % y 69.3 % respectivamente). Por lo tanto puede ser adecuado simplemente inseminar una hembra con semen fresco, en lugar de considerar la criopreservación, ya que los espermatozoides son propensos a sobrevivir más tiempo en el tracto femenino que en el medio de criopreservación. (England, Russo, & Freeman, 2009).

Andersen (1980) define los factores anatómicos a tener en cuenta para realizar la IA en caninos:

- a) Animales con hiperplasia vaginal.
- b) Alteraciones en genitales como la estrechez vulvar y traumatismos en el pene.
- c) Problemas en sistema locomotor como son los traumatismos, las heridas, etc.
- d) Predisposición de raza (conformación anatómica).
- e) Vaginitis crónica.
- f) Himen persistente.
- g) Erección temprana.
- h) Cicatrices en vagina provocadas por distocia.
- i) Exceso de peso

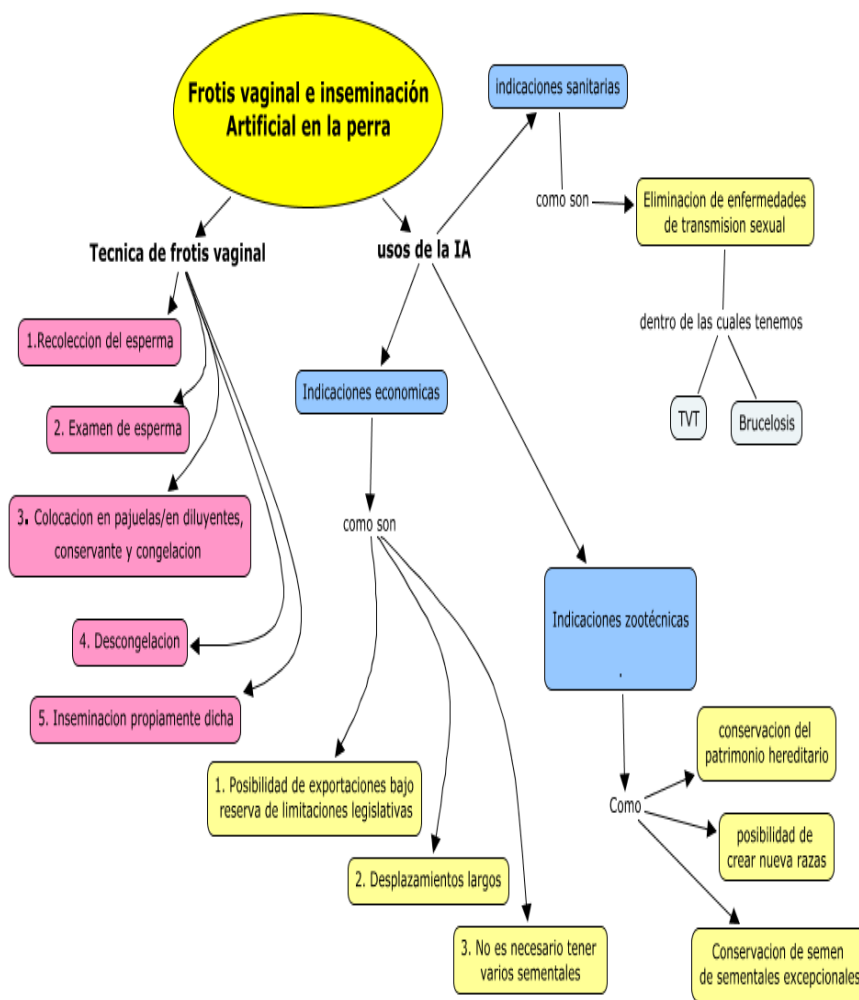
Existen dos métodos de inseminación artificial en caninos: vaginal y uterino (Lucas, 2011). Para el primero, el semen se deposita dentro de la vagina craneal, cerca del cuello uterino, con una pipeta de inseminación larga. Este método suele utilizarse con el semen fresco o refrigerado. Para la inseminación uterina, el semen se introduce directamente en el útero. Este último método requiere instrumentos especializados o cirugía y se recomienda cuando se emplea semen

congelado y descongelado, debido a la viabilidad reducida de los espermatozoides sometidos a tal proceso

5.9.1 Frotis vaginal e inseminación artificial

Dumon (1989) describe y evalúa la técnica de frotis vaginal en perras, igualmente discute el método y la utilidad de la inseminación artificial (IA) en la perra.

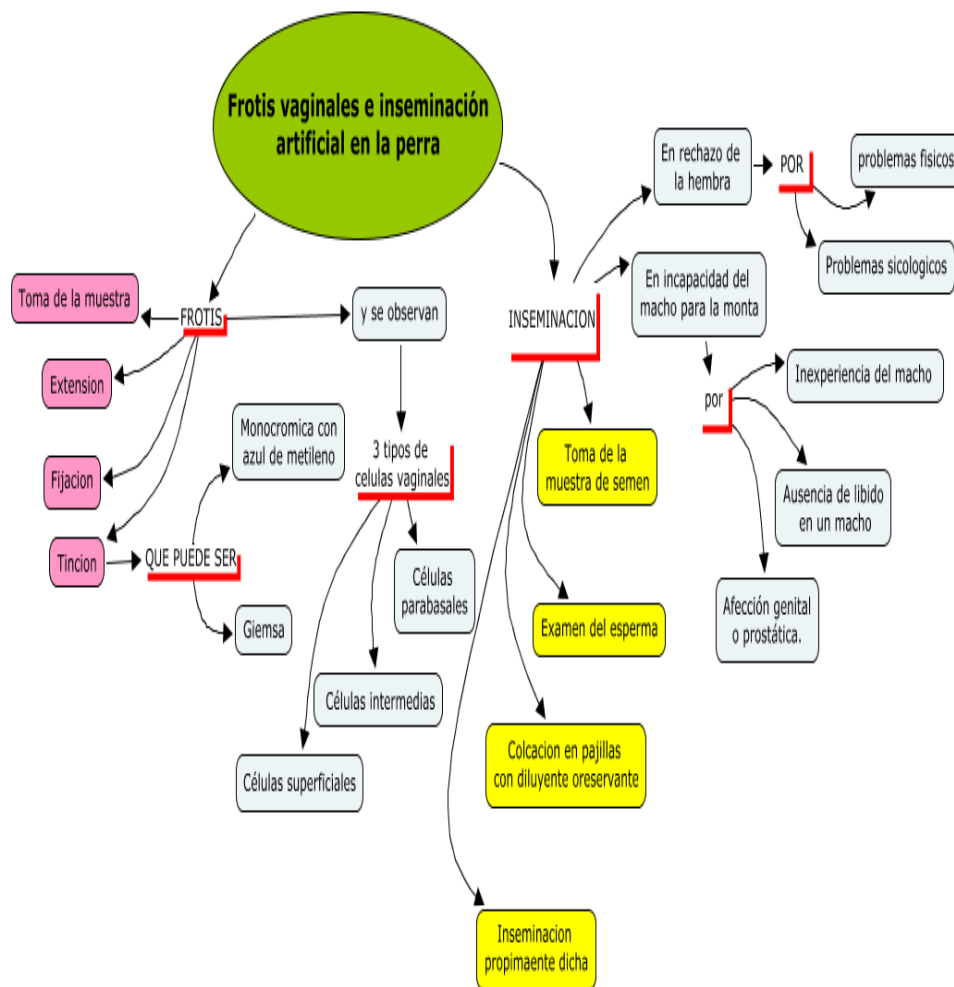
Figura 8 Frotis vaginal



Fuente: El autor

Podría decirse que los resultados de este método, son excelentes cuando el único motivo por el que se ha aconsejado la inseminación ha sido el rechazo de la monta; se consiguen del 80 al 85% de gestaciones, lo cual está muy cerca de las condiciones naturales de acoplamiento en las que estadísticamente se considera un 92% de gestaciones obtenidas. Por el contrario, los resultados son mucho menos alentadores si el procedimiento se realiza a continuación de tratamientos hormonales contra la infertilidad (38-45% de éxitos) o si el propietario ha exigido la utilización de un semental cuyo esperma era de calidad mediocre.

Figura 9 Frotis vaginal e inseminación artificial en la perra



Fuente: El autor

5.9.2 Inseminación vaginal con catéter urinario o pipeta de inseminación

Como se manifestó anteriormente una de las técnicas más empleadas es la descrita por Lucas (2011) el procedimiento consiste en emplear una jeringa de 12ml, 1 catéter urinario flexible descartable para macho o pipeta de inseminación plástica y guantes quirúrgicos. El catéter o la pipeta deben ser lo suficientemente largos como para alcanzar la vagina anterior, longitud que se mide por la distancia existente entre los labios de la vulva y el arco formado por las costillas. Una vez colocados los guantes, se aspira la muestra de semen fresco con la jeringa, se le incrusta el catéter estéril y se carga con la jeringa un adicional de 1 a 3ml de aire. La grupa de la hembra se eleva por encima de su cabeza inmediatamente después de terminada la inseminación. Se sostiene la grupa hacia un lado, y se introduce el dedo índice enguantado y sin lubricar dentro de la bóveda vaginal, con la palma de la mano hacia arriba. El catéter se desliza sobre la punta del dedo y se inserta dentro de la cavidad vaginal, evitando de esta forma la introducción accidental del semen dentro de la uretra. Esta maniobra también ayuda a evitar la fosa del clítoris. El catéter sigue la curvatura dorsal de la bóveda vaginal y se inserta hasta encontrar resistencia. El catéter debe ser avanzado suavemente de manera craneal todo lo que sea posible antes de depositar el semen, de modo que se asegure la colocación de espermatozoides cerca del cuello uterino.

Cuando se ha descargado el semen, se llena con unos pocos mililitros adicionales de aire, se reconecta y se vacía nuevamente, depositando así cualquier remanente de semen que hubiera podido quedar dentro del catéter. Se debe evitar inyectar demasiado aire dentro de la vagina, pues ya podría causar la pérdida de semen o que se salga de la vulva.

Después de que se ha completado el tiempo de elevación de los miembros posteriores, la perra debe guardar reposo durante 1 hora o más para reducir la pérdida de semen fuera de la vagina.

5.9.3 Inseminación uterina Transcervical

Resultados obtenidos por Thomassen y colaboradores (2006), indican que la inseminación transcervical no quirúrgica es una herramienta muy valiosa en la cría canina, con la inseminación de semen descongelado frozen en hembras de 6 años de edad, 2 y 3 días después de la ovulación con semen de buena calidad.

Feldman & Richard (1996) explican que éste método requiere el empleo de un catéter rígido que se introduce en forma ciega dentro de la vagina y cérvix, después de la fijación digital del cuello a través de la pared abdominal.

Otro método según Fosberg (1996), consiste en el pasaje de un catéter a través del cérvix, mediante la visualización endoscópica de la abertura cervical externa. Estos métodos de inseminación están indicados para la inseminación con semen congelado y descongelado.

5.9.4 Inseminación uterina mediante cirugía

Stornelli, Stornelli, & Arauz, (2001) describe que el cuerpo del útero es expuesto a través de una incisión caudo ventral sobre la línea media, dentro de la cavidad abdominal. Se coloca un catéter endovenoso sobre la aguja de calibre 22 dentro del lumen del cuerpo del útero y se clampea la porción caudal del lumen para impedir que el semen ingrese en la vagina; éste se vierte lentamente dentro de la cavidad uterina permitiendo que el semen ingrese cerca de los cuernos uterinos.

Las desventajas de este método comprenden la necesidad de anestesia general; la posibilidad de morbilidad secundaria a la técnica quirúrgica y la limitación ética de una única inseminación para tratar de lograr una gestación. Esta metodología debe considerarse sólo para la utilización con semen congelado y descongelado.

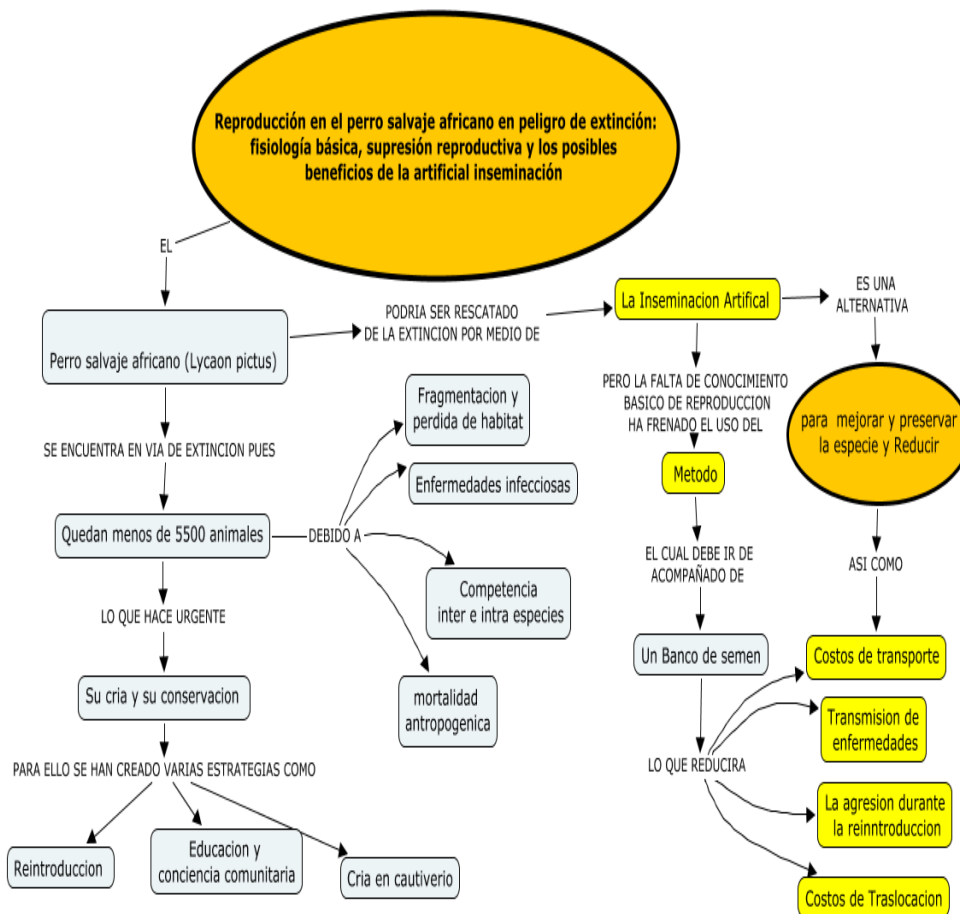
Figura 10. Porcentaje de fertilidad y tasas de concepción mediante IA

Semen Canino	Inseminación Artificial	Porcentaje de Fertilidad	Número de Inseminaciones
Semen Fresco	IAIU, IAIV	85 %	2
Semen Refrigerado	IAIV	70 %	2
Semen Congelado	IAIV	52,6 %	2

Fuente: Silva, Cardoso, & Silva (2009)

5.10 Ventajas de La IA

Figura 11. Reproducción en el perro salvaje en peligro de extinción

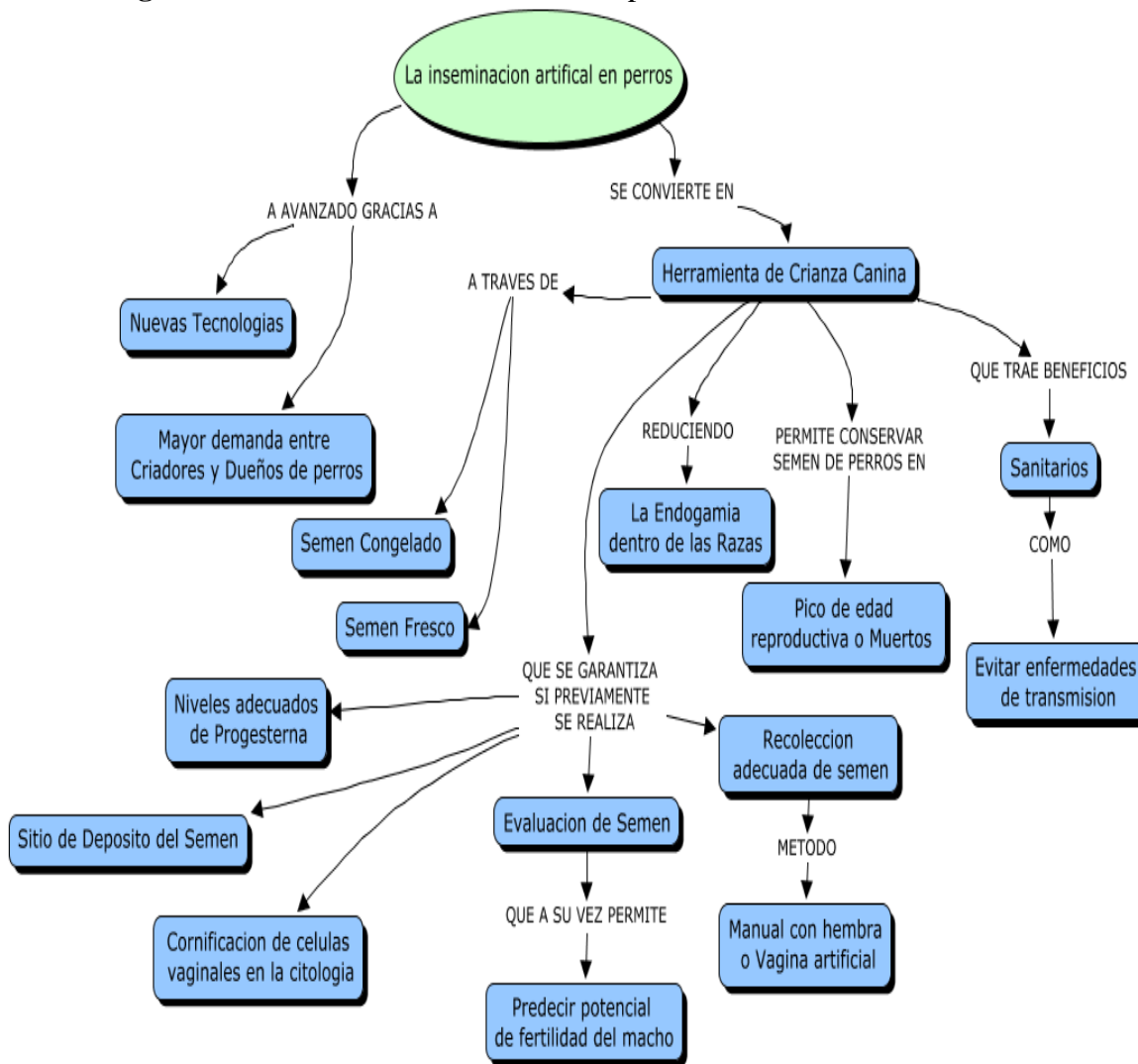


Fuente: El autor

La inseminación artificial, es una de las mejores técnicas desarrolladas para la reproducción asistida y provee un gran número de ventajas. Para empezar previene y evita el contagio de enfermedades de transmisión sexual, como el tumor de Sticker (TVT) y la brucelosis canina. Por su parte evita el contacto de individuos de diferentes criaderos, cuidando así las instalaciones y manteniéndolas libres de enfermedades contagiosas. El pool genético de una raza es lo que garantiza su pureza, bienestar y la supervivencia como grupo.

Roldán & Garde (1995) describe la inseminación artificial, como una alternativa que podría emplearse para la preservación y mejora de especies en vía de extinción, en este caso para conservar el perro salvaje de África, además de presentar otros beneficios como la reducción de costos de transporte de semen, los costos de translocación y reducción de enfermedades de transmisión, lo que afianza la importancia de la Inseminación artificial en la reproducción.

Figura 12. La inseminación artificial en perros



Fuente. El autor

Sánchez (1998) afirma que hoy en día es posible lograr tasas de parto adecuadas, así como tamaño de la camada, independientemente del tipo de semen utilizado, siempre y cuando la Inseminación artificial se lleve a cabo en el momento adecuado y se deposite una cantidad adecuada de semen. La educación al dueño y el costo técnico completan los servicios de la IA que deben proveer los practicantes especializados, en particular cuando se trata de la reproducción de una hembra problemática. Según Esquivel Carlos (2013) el tamaño de la camada es similar al obtenido mediante monta natural. Aumenta la eficiencia reproductiva de los

sementales, porque el macho no se sobre fuerza permitiendo que su producción espermática no se vea alterada. Ayuda a controlar la transmisión de enfermedades venéreas. Peña (1997) afirma que no se desperdicia el celo de la perra cuando ésta no acepta la monta.

En algunos países como en los Estados Unidos y en Inglaterra, específicamente el órgano que legisla todo lo referente a perros, el American Kennel Club de Estados Unidos y el Ministerio de Agricultura en Inglaterra, que controla los permisos para la realización de la IA con semen fresco o congelado, habían determinado que los ejemplares nacidos por esta técnica serían descalificados de los concursos de belleza. Sin embargo, estas mismas instituciones aprobaron el uso de la IA desde hace varios años, (England & Moxon, 1989).

5.11 Clave del éxito en la inseminación artificial

Según Stornelli, Stornelli, & Arauz (2001) el éxito de la IA en caninos está íntimamente relacionado con:

1. Estado de salud y nutrición de los reproductores. La reproducción es una función altamente especializada y es preciso lograr el exacto equilibrio entre la sanidad y la nutrición para que el animal pueda expresar completamente su capacidad reproductiva. La aplicación de IA en animales sanos, fértiles y adecuadamente alimentados hará posible lograr la gestación de una camada numerosa.

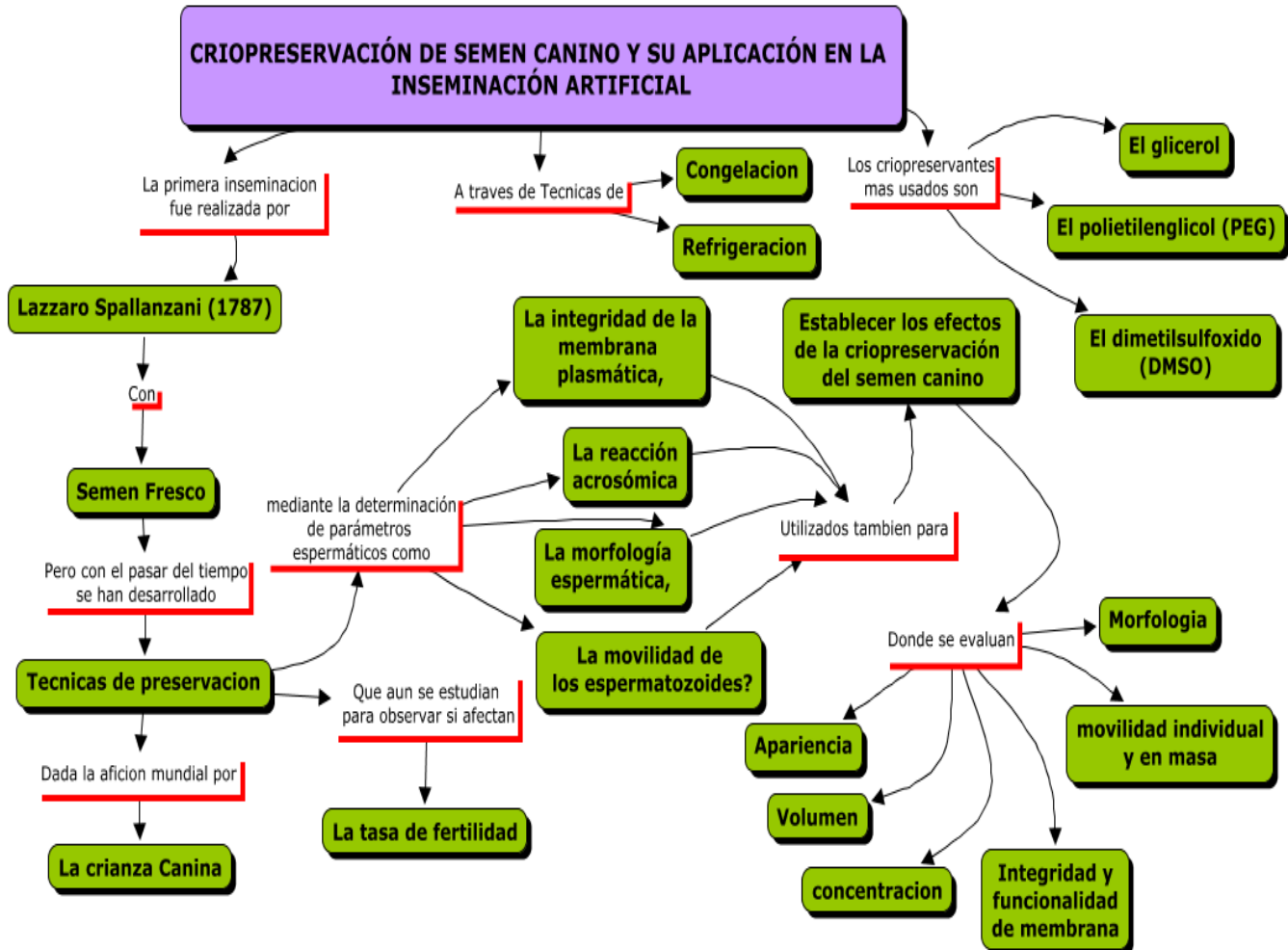
2. Detección del momento de mayor fertilidad de la hembra.

3. Tipo, manejo y calidad del semen utilizado.

4. Implementación de una técnica adecuada de I.A

5.12 Métodos de conservación del semen

Figura 13 Criopreservación de semen canino



Fuente: El autor

En el estudio de Restrepo *et al.*, 2009, se aborda información general y derivada de investigaciones recientes respecto a la inseminación artificial, la evaluación del semen canino y los diferentes procedimientos para su criopreservación. Estos autores establecen que factores como la exposición a bajas temperaturas que originan la formación de cristales intracelulares de hielo generan daños espermáticos por choque térmico y afectan la capacidad fertilizante del semen. Igualmente la exposición a soluciones con algún grado de toxicidad como las que se

utilizan para la criopreservación del semen, puede generar impacto sobre la capacidad de fertilización de este.

Stornelli, Stornelli, & Arauz (2001) explica que el desarrollo de las técnicas de criopreservación de espermatozoides de perros ha legitimado en forma exitosa congelar su semen y desarrollar la IA en esta especie. Este suceso, desplegó las posibilidades en la de industria de bancos de semen a bajas temperaturas, permitiendo así, difundir el material genético de reproductores en todo el mundo. El desarrollo de la criopreservación de semen de los perros, necesita de estudios especiales para mejorar las tasas reproductivas de los machos mediante el uso de esta nueva tecnología.

La creación de bancos de semen canino implica un manejo estricto de las muestras, así como de la existencia de antecedentes clínicos, genéticos y reproductivos, verificación de calidad de semen al momento de su recolección y registro de hembras inseminadas y preñadas de cada ejemplar del cual se tenga semen congelado. Si ese semen además tiene la posibilidad de exportarse o importarse, se deben realizar las respectivas pruebas serológicas al animal antes de la congelación (15 a 20 días).

Es responsabilidad de las asociaciones cinológicas de cada país a través de la Federación Cinológica Internacional (FCI) controlar, llevar estos datos, resguardar y fomentar el uso de ésta biotecnología, así como reglamentar la utilización de esperma congelado a través de los bancos de semen, por lo que se sugiere que las propias asociaciones de registro controlen y verifiquen la utilización de semen de ejemplares valiosos para el mejoramiento de las razas. Por lo tanto la FCI deberá estar a la vanguardia de esta tecnología, los criadores podrán contar con esta institución a muy corto plazo para conservar el semen de sus ejemplares valiosos.

5.12.1 Semen refrigerado

Szász & Solti (2000) afirman que se requiere una perfecta coordinación entre el dueño de la hembra y el del macho, ya que una vez refrigerado el semen su vida útil es tan solo de pocos días. Cuando la perra se encuentra en el momento adecuado del ciclo sexual, gracias a la medición de la progesterona, se extrae el semen del macho, se mezcla con los diluyentes que van a proteger los espermatozoides de los cambios de temperatura y a su vez nutrirlos, posteriormente se refrigera y se introduce en unos kits especiales que lo mantendrán durante su transporte. Una vez llega a su destino se insemina con la técnica más apropiada según las necesidades.

5.12.2 Semen congelado

Tiene la ventaja de que permite almacenar el semen por tiempo prácticamente indefinido y por lo tanto, tenerlo a disposición cuando se necesite, además de permitir su envío a cualquier parte del mundo. El proceso consiste en la extracción de semen del macho, su análisis para comprobar que reúne las características necesarias para su congelación, su posterior mezcla con diluyentes especiales que van a protegerlo de los cambios de temperatura y a nutrirlo. Después se mantiene en nitrógeno líquido.

Estudios realizados por Thomassen y colaboradores (2006) explican que el semen debe ser descongelado en un baño de agua a 70 °C por 8 segundos antes de ser utilizado; el experto evalúa la muestra en un microscopio de luz, empleando una gota de semen en un portaobjetos, se observa la movilidad, motilidad y morfología de los espermatozoides, clasificando las muestras según la calidad del semen empleado.

5.13 Tipo, manejo y calidad del semen utilizado

Para Held (1997) el conocimiento de la calidad de semen de un reproductor permitirá estimar las probabilidades de éxito en la utilización del mismo para realizar IA con semen fresco o

criopreservado (refrigerado o congelado). El semen de baja calidad se relaciona no sólo con bajos porcentajes de preñez, sino también con producción de camadas de escaso número de cachorros. En la actualidad la IA se realiza con semen fresco, refrigerado o congelado, cada tipo de semen brindará distintas posibilidades de aplicación, así como también exigirá un manejo de diferente complejidad.

5.14 Tipos de inseminación artificial

5.14.1 IA con semen fresco

Según Stornelli, Stornelli, & Arauz (2001) la IA con semen fresco es una práctica sencilla y poco costosa que puede implementarse sin inconvenientes en la práctica diaria. La utilización de IA con semen fresco brindará resultados comparables (porcentajes de preñez y tamaño de la camada) con los obtenidos mediante servicio natural. La fracción espermática del eyaculado es colectada en un recipiente adecuado y el semen es aspirado con una jeringa y depositado inmediatamente luego de la extracción en la vagina craneal mediante una sonda de longitud variable según el tamaño de la hembra. Es muy importante asegurarse de que se ha obtenido un eyaculado de buena calidad, mediante la evaluación de la concentración y motilidad espermática a través de la observación rápida de una alícuota de semen separada con este fin. Esta práctica no debe ser llevada a cabo cuando la imposibilidad del servicio se relacione con problemas de transmisión hereditaria.

5.14.2 IA con semen refrigerado

Stornelli, Stornelli, & Arauz (2001) afirman que mediante la adición de diluyentes, tales como; el tris-buffer con el agregado de 20 % de yema de huevo (TYH) y diluyentes compuestos por yema de huevo y crema o leche descremada el semen puede ser refrigerado y de esta manera

conservado y transportado. Esto lo ratifica Fosberg en 1996 quien expone que la implementación de refrigeración de semen con diluyentes protectores, permite conservar espermatozoides con buena capacidad fecundante por un período de tiempo suficiente, como para trasladar el semen e inseminar animales ubicados en localizaciones geográficas distantes. Lo que hace posible la IA de una hembra con el semen de un macho que se encuentre en otra ciudad u otro país limítrofe o cercano con mínimo gasto y baja complejidad de manejo. De ésta manera se evitará el traslado de animales para la realización de una monta natural reduciendo así costos y esfuerzo. Así, se amplían las posibilidades de uso de un reproductor, permitiendo la comercialización de semen y facilitando el intercambio genético entre diferentes establecimientos. Por otro lado, el semen refrigerado puede utilizarse realizando inseminación artificial intravaginal, técnica poco costosa y de baja complejidad. La simplicidad de manejo del semen refrigerado y su bajo costo, lo convierten en una excelente opción para Colombia.

5.14.3 IA con semen congelado

Sánchez (2000) manifiesta que mediante la congelación es posible el uso del semen de un macho cuando este ya no pueda ser usado como reproductor, inseminar una hembra que se encuentre en una localización geográfica distante y almacenar semen en épocas en las cuales el reproductor no sea requerido para servicios. Así mismo, un banco de semen puede constituir un importante reservorio genético para la Cinofilia

Para Smith (1986) los resultados obtenidos en IA con semen congelado (porcentaje de preñez y tamaño de camada) son inferiores a los obtenidos en IA con semen fresco, sin embargo son lo suficientemente buenos como para utilizarla cuando un reproductor es realmente valioso. Los mejores resultados se logran utilizando inseminación intrauterina (mediante cirugía o cateterismo cervical).

Szász & Solti (2000) afirman que el semen mezclado con los diluyentes se puede mantener almacenado dentro de los tanques de nitrógeno líquido de dos maneras. Uno de los sistemas, que ha sido copiado de su uso en el ganado, es mediante pajuelas (tubos de plástico finos y alargados, que contienen entre 0,25 y 0,5 mililitros de semen y diluyente). El otro sistema, más adaptado a la especie canina y que ha demostrado tasas de fertilidad más altas, es en forma de pequeños gránulos o pellets, que se depositan dentro de tubos de plástico. Tanto los viales como las pajuelas se deben identificar con todos los datos del macho donador.

5.15 Potencial de la inseminación artificial en hembras caninas

Dobrinski & Barth (1993) explican que quizás la IA es uno de los logros más importantes, para avanzar en el mejoramiento de la selección animal, que incluye obviamente al perro y que se constituye como una de las herramientas fundamentales, por las siguientes razones:

1.- Justifica el alto costo económico y de tiempo, que significa a su vez efectuar una adecuada selección de reproductores, con gran selectividad, partiendo de un número elevado de machos y tomando en cuenta gran cantidad de factores, en la raza a seleccionar.

2.-Permite la recolección prácticamente ilimitada de una gran cantidad de hijos, beneficiando rápidamente el mejoramiento de la calidad de cualquier raza.

3.-No limita ni la distancia ni el tiempo, para que el criador utilice cualquier reproductor del mejor nivel internacional, accesible por la vía de la IA en el mundo.

4.- Reduce costos para la fecundación con reproductores de alta calidad por el bajo costo en la compra de pajuelas y en el envío.

5.- Reconoce la utilización de reproductores ya desaparecidos, lo cual resulta de suma importancia cuando se quiere recurrir a ciertos factores de interés en la raza o para desarrollar un linebreeding, conocida también como cruzamiento de línea es decir, entre primos , tíos o sobrinos.

6- Permite extraer semen directamente de los testículos en las primeras 36 horas tras la muerte de un animal. Esto tiene su interés en perros fallecidos de modo súbito, bien por una enfermedad aguda o por un accidente, o en individuos en los que no se puede extraer el semen de otro modo. Una vez extraído este semen se va a procesar del mismo modo que un eyaculado normal.

5.16 Impacto de la IA

5.16.1 Impacto Social

Para Velásquez R. (2008) resulta indispensable aplicar tecnologías de una manera óptima y bajo parámetros que aseguren un éxito reproductivo y económico, aspectos que se pretenden desarrollar en la industria de la Cinofilia, con el fin de que puedan aumentar sus ganancias que es lo que en última instancia, busca toda persona al tener una raza de canino. En la práctica lo que se pretende es que las personas a través de asesorías, consultorías y asistencias técnicas empiecen a utilizar el método de Inseminación Artificial mostrándoles las ventajas del método y generando conciencia sobre la utilización de machos genéticamente probados.

5.16.2 Impacto Ambiental

Según Carranza Juan (1999) el impacto ambiental es positivo, pues reduce significativamente las enfermedades de transmisión sexual como el TVT o tumor de Sticker, así mismo al evitar montas naturales se mitiga el nivel de estrés en animales con problemas fisiológicos, patológicos o de comportamiento.

5.16.3 Impacto Económico

Saldarriaga (2009) manifiesta que el impacto económico es positivo, ya se ve reflejado porque es más barato el traslado de semen que el de reproductores. Además para que pueda haber una adecuada demanda de los productos, debe existir una buena selección genética que garantice productos de excelente calidad para los oferentes. Un sector es competitivo cuando en su producción puede por lo menos, igualar los patrones de eficiencia vigentes en el resto del mundo, en cuanto a validación de recursos y calidad del producto afirma el autor.

5.17 Eliminación de los defectos leves y conservación de las cualidades

Después de la eliminación de las taras, a través de una adecuada selección de reproductores buscando caracteres deseables, viene una fase de eliminación de los defectos más leves y la conservación de las cualidades existentes, Conte Adriana, Marrube Graciela, Pinto Gabriel, Rozen Felisa (2006). Lo cual se puede llevar a cabo con apareamientos bien planteados. Lo malo de estos procesos es que por razones de economía, en la mayoría de los casos, los criadores solo tienen un semental que cubre a todas las perras, lo que no resulta una buena solución, porque generalmente un semental, por bueno que este sea, siempre transporta en su genotipo genes más o menos indeseables y por dicha razón, podrían transmitirse en el cruce. La mejor forma de escoger un progenitor, consiste en observar el mayor número posible de colaterales suyos, es decir, hermanos y hermanas y los colaterales de sus padres.

De esa manera se puede esperar razonablemente que la calidad este bien fijado en el genotipo del semental y que los rasgos dominantes neutralicen el carácter Indeseable expresado.

Tocagni (1987) manifiesta que se debe identificar el propósito de la raza, con el fin de realizar una adecuada escogencia de reproductores, como es el caso de un semental con ciertas características deseables que se puedan transmitir en sus genes. Por ejemplo, perros que van a ser utilizados en las fuerzas militares en los cuales se buscan características de juego y de temperamento para posteriormente ser aprovechadas en el entrenamiento. También se debe conocer el propósito ya que algunas razas han sido creadas con una utilidad específica, como la cacería, pastoreo o diversas actividades humanas. Además es necesario reconocer la tipología, como el estándar de raza, que describe las características propias de los caninos como son la talla, conformación, apariencia, estilo, orejas, cola, entre otras.

Al sumar estas tres características Ancestría + Propósito + Tipología se puede lograr un reproductor conveniente que proporcione cachorros excelentes. Según Carranza Juan (1999) las características se transmiten por herencia a través de los genes y se habla que el 35 % del comportamiento se hereda y el 65 % restante se aprende y generalmente se ve influenciado por el medio ambiente.

6. Discusión

El propósito de esta revisión bibliográfica es destacar y comprender perspectivas que permitan identificar adelantos, experiencias, conjeturas e investigaciones sobre inseminación artificial en caninos, así como la trascendencia que esta práctica podría llegar a tener en la difusión de las características genéticas.

El canino es una especie capaz de ajustarse al estilo de vida de cada persona y por ello se ha seleccionado a través de los cruces sus características fenotípicas, su apariencia, carácter, temperamento y sus genes durante siglos. Gracias a estos avances se observa que a través de la historia el canino ha sido un compañero de vida para el hombre y por ende la genética ha sido fundamental para obtener ejemplares dignos de exposiciones caninas con estándares de alta calidad o simplemente caninos con características particulares para desempeñar alguna función zootécnica.

Sin embargo la monta natural no siempre es posible y se debe recurrir a técnicas como la inseminación artificial, que consiste en recolectar manualmente el semen de un macho y posteriormente depositarlo en la vagina de una perra en celo; se puede utilizar el semen congelado o fresco, sin diluir como también mezclado con un diluyente. Es importante resaltar que para el éxito de este procedimiento el médico veterinario o el operario experto debe tener un buen conocimiento del ciclo estral de la perra, de las técnicas de recolección y conservación del semen.

Nace entonces la posibilidad de buscar alternativas que permitan realizar cruces en animales con incapacidades anatómicas, físicas, psicológicas o que debido a las distancias entre los continentes imposibilitan sus montas y es allí donde la inseminación artificial juega un papel crucial y se muestra como una verdadera opción para mejorar características deseables.

En la revisión bibliográfica se evidencia que la inseminación es una llave de gran ayuda en la cinofilia y una herramienta fundamental para los criadores caninos, al evitar el desgaste físico

que una monta genera en el reproductor, evitar la transmisión de enfermedades y permitir la cruce de ejemplares ubicados en sitios distantes. El uso de sustancias para conservar el semen, permite por su parte contribuir a preservar las muestras haciendo más factible que el semen llegue intacto y sin alteraciones al lugar de destino. Es importante enfatizar también, que la inseminación disminuye costos al permitir que de un solo perro se logren inseminar varias hembras y se reduzca el esfuerzo que la monta natural implica, además de reducir el estrés y las dificultades para la cópula llámense anatómicas o comportamentales de los caninos.

Roldán & Garde (1995) asegura que la inseminación es la mejor manera de tener una reproducción sanitaria al evitar el traspaso de enfermedades como el TVT y brucelosis canina, permite a su vez preservar especies en vía de extinción, un hallazgo bastante interesante si tenemos en cuenta que es el hombre quién está dañando la naturaleza, pero contribuir también a preservarla a través de técnicas como estas.

La inseminación artificial (IA) es un método fiable, que ha estado disponible hace más de 40 años, puede dar buenos resultados en la práctica clínica o en condiciones de campo. Con los actuales métodos de congelación y técnicas de IA, es evidente que los mejores resultados se obtienen con IA intrauterina cuando se utiliza semen congelado. (Thomassen & Farstad, 2009)

La inseminación artificial entonces, mejora las características genéticas porque permite el intercambio genético entre territorios distantes además de que disminuye el estrés ocasionado por las cuarentenas de los animales. Permite por otro lado preservar el patrimonio genético de un reproductor por un tiempo considerable. De esta manera se usa el semen, aunque el perro haya fallecido. Dumon (1989) explica que la inseminación artificial en perras es de gran valor para el clínico y sobre todo, responde a la demanda de numerosos criadores y propietarios de perros de pura raza; como sostiene Sánchez (1998) que manifiesta la posibilidad de cruzar perros que están

en áreas distantes. Además existe la posibilidad de utilizar semen canino criopreservado para crear ejemplares caninos con alto valor genético y permitir el intercambio de material genético, así como permitir su almacenamiento por largos períodos.

Velásquez R. (2008) expresa que la utilización de diluyentes que permiten conservar el semen canino a 4°C, hace posible la entrega de semen a diferentes puntos del país e incluso a países limítrofes o cercanos. Lo que coincide con (Dumon, 1989) al manifestar que se evita el traslado de animales para la realización de servicio natural, disminuyendo así los costos y todo el esfuerzo que esto implica. La demanda de la inseminación artificial canina crece junto con un aumento en la solicitud de preservación de semen en bancos de esperma Roldán & Garde (1995), quien afirma que existe una tendencia a aumentar las demandas por el uso de semen congelado más que con semen fresco, como herramienta para el mejoramiento genético

Restrepo, Vásquez, & García (2009) concluye que la inseminación artificial en caninos ha aumentado su importancia durante los últimos años, dado que la reproducción y la crianza de perros es una afición de distribución mundial; mientras la criopreservación de semen canino se ha constituido en un tema de interés para veterinarios y criadores con el fin de mejorar la reproducción de ejemplares de alto mérito genético, comercial o afectivo; de reproductores separados geográficamente, de perras con problemas de conducta o con vagina estrecha, y de perros con dificultades para la cópula.

7. Conclusiones

- La presente monografía evidencia que la inseminación artificial es una herramienta fundamental, que debe ser extendida en el área de la medicina veterinaria y un servicio que se debe implementar en todos los criaderos integrales especializados en razas de trabajo incluyendo los manejados por entidades del estado y empresas privadas.
- La IA aumenta o mejora las tasas de concepción en caninos, perpetua líneas genéticas y disminuye defectos genéticos.
- Durante la selección de las hembras y los machos para la reproducción, se logra diagnosticar patologías reproductivas, enfermedades zoonóticas y así elegir aquellos parentales que poseen buenos parámetros reproductivos.
- Los resultados obtenidos en IA con semen congelado (porcentaje de preñez y tamaño de camada) son inferiores a los obtenidos en IA con semen fresco, sin embargo son lo suficientemente buenos como para utilizarla cuando un reproductor es realmente valioso. Los mejores resultados se logran utilizando inseminación intrauterina (mediante cirugía o cateterismo cervical).
- A pesar de los avances de la IA en los últimos años, en muchos países esta práctica se realiza de forma empírica y por tal razón, es necesario resaltar la importancia de mejorar los métodos de transferencia tecnológica, así como la capacitación del personal de técnicos y veterinarios encargados en realizar estos procedimientos.
- La base fundamental para la obtención de buenos resultados consiste en generar espacios propicios para la IA, hacer uso de material de alta calidad, un buen manejo del semen y de la técnica seleccionada.

8. Bibliografía

- Andersen, K. (1980). *Artificial Insemination and Storage of Canine Semen*. Philadelphia: Saunders.
- Carranza Juan. (1999). *Etología Introducción a la Ciencia del Comportamiento*. España: Cáceres.
- Conte Adriana; Marrube, Graciela; Pinto, Gabriel; Rozen, Felisa. (2006). *Bases para el Diagnóstico de las Enfermedades Hereditarias en los Animales Domésticos*. Argentina: Universidad de Buenos Aires.
- Cronje, P.B. (2000). *Digestion, metabolism, growth and reproduction*. Inglaterra: Oxon.
- Davidson. (2004). *Diagnostic Cytology of the Dog and Cat*. Estados Unidos: American Veterinary Publications.
- Dobrinski, L., & Barth, A. (1993). *Effects of four extenders three different freezing rates on post that viability of dog semen*. Canada: Western College of Veterinary Medicine.
- Dumon. (1989). Frotis Vaginal e Inseminación Artificial en Perras. *Avepa*, Vol. 9.
- England, G., & Moxon, R. (1989). *Seminal characteristics and fertility in dogs*. Estados Unidos: Vet. Rec.
- Esquivel Carlos. (2013). *Anatomía del Aparato Genital de Perros y Gatos*. México: Universidad de Veracruz.
- Federación Canófila Mexicana. (2012). *Manual de Reproducción Canina*. México.
- Feldman, E. (2004). *Canine and Feline Endocrinology*. California: Elsevier.
- Feldman, E., & Richard, N. (1996). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia: Saunders.
- Fosberg. (1996). *Artificial Insemination with semen fresh, chilled extended and frozen-thawed semen in the dog*. Suecia: Swedish University of Agricultural Sciences.

- Galina, C., & Valencia, J. (2006). *Reproducción de Animales Domésticos. Segunda Edición*. México: Limusa.
- Galina, C., Santiel, A., Becerril, J., Bustamante, G., & Calderon, A. (1986). *Reproducción de Animales Domésticos*. México: Limusa.
- García, A. (2008). *Inseminación Artificial Primera Parte*. Obtenido de <http://www.fcm.mx/invest/inseminacion.shtml>
- Held. (1997). *Critical evaluation of the succes and roles of chilled and frozen semen in todays veterinary practice*. Estados Unidos: American college of theriogenologist.
- Jiménez, C. (2005). *El Libro Latinoamericano de la Reproducción Canina y Felina*. Colombia: Biogénesis.
- Jones. (1984). *Problemas clínicos de la reproducción canina*. México.
- Lucas. (2011). Inseminación Artificial en Perros. *Revista de Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía*.
- Martin, E., Espinosa, E., & Josa, A. (1977). *Conservación en Nitrógeno Líquido del Semen Canino*. España: Facultad de Veterinaria Zaragoza.
- Mayo, P. P. (2014). *La Inseminación Artificial Canina*. Obtenido de <http://portalveterinaria.com/noticias/9752/Artículos/La-inseminación-artificial-canina.html>
- Paramo Ramirez, R. M. (2005). *Manual de Practicas en manejo Reproductivo de Perros*. Mexico: Universidad nacional autonoma de Mexico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Reproducción.
- Páramo, R., & Balcázar, J. (2008). *Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Perros*. México: Universidad Autónoma de México.

- Peña, A. (1997). *Supervivencia y Fertilidad del Semen Canino Sometido a Congelación-Descongelación*. España.
- Restrepo, G., Vásquez, N., & García, A. (2009). Criopreservación del Semen Canino y su Aplicación en la Inseminación Artificial. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootécnia*, Vol. 4.
- Roldán, E., & Garde, J. (1995). *Reproducción en el Perro Africano en Vía de Extinción*. España: Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- Saldarriaga, E. (2009). *Análisis comparativo entre inseminación Artificial a tiempo fijo e inseminación artificial a celo detectado, con sus variables económicas y reproductivas*. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Sánchez, A. (1998). *Inseminación Artificial en Perros*. Chile: Mevepa.
- Sánchez, A. (2000). *Exámen Clínico Reproductivo en la Perra Doméstica*. Chile: Universidad de Chile.
- Smith, F. (1986). *Update on freezing canine semen, in Kirk RW*. Estados Unidos: Current Veterinary Therapy.
- Stillwel, L. y. (1965). *probiotics growth promoting factors produced by microorganisms*. Science 47747-8.
- Stornelli, M., Stornelli, M., & Arauz, M. (2001). *Inseminación Artificial con semen Fresco, Refrigerado y Congelado. aplicación y Desarrollo en Caninos*. Argentina: Analecta.
- Szász, F., & Solti, L. (2000). *Comparative study of different methods for dog semen cryopreservation and testing under clinical conditions*. Hungary.
- Tocagni, H. (1987). *El Ovejero Alemán*. España: Albatros.
- Velasco, J. (2008). *La Inseminación Artificial y su Efecto Sobre los Indices de Productividad Parcial en Fincas Ganaderas de Doble Propósito*. Venezuela: Universidad de Zulia.

Velásquez, E. (2013). *Manual de Prácticas de Fisiología*. México: Universidad Autónoma de México.

Velásquez, R. (16 de 08 de 2008). *Exámen y Diagnóstico Andrológico en el Perro. Extracción del Semen*. Obtenido de <http://reynaldovelasquez.wordpress.com/2008/08/16/examen-y-diagnostico-en-el-perro-extraccion-de-semen/>