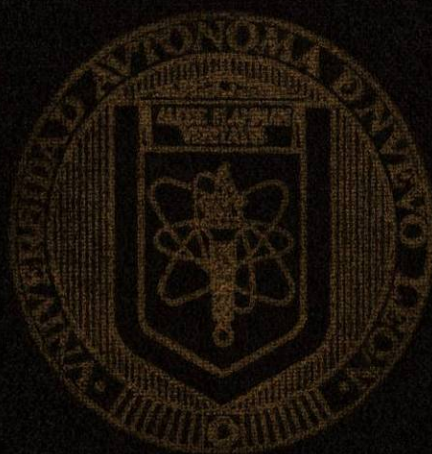


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



MÉTODOS DE PRESERVACION, CONGELACION E
INSEMINACION ARTIFICIAL EN CANIDEOS. (MONOGRAFIA)

TESIS
QUE EN OPCION AL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESENTA
SALVADOR LOZANO GARCIA

MONTERREY, N. L.

JUNIO DE 1987

T

SF4

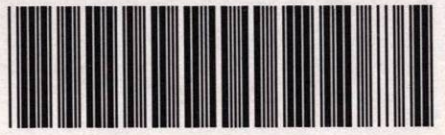
L6

C. 1



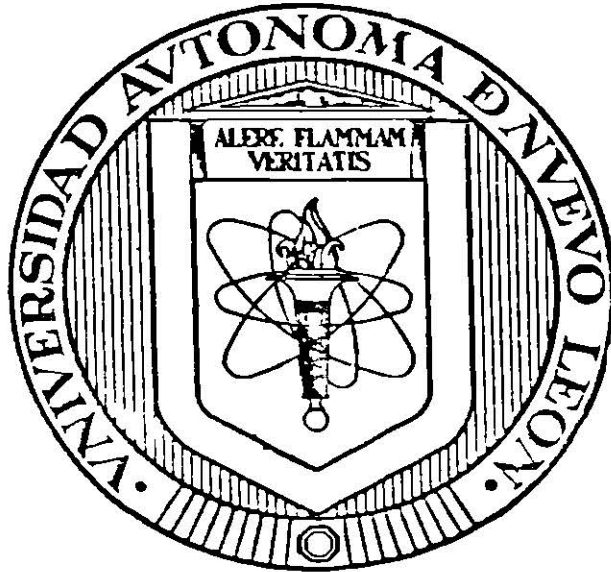
427

1



1080066783

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



METODOS DE PRESERVACION, CONGELACION E
INSEMINACION ARTIFICIAL EN CANIDEOS. (MONOGRAFIA)

TESIS
QUE EN OPCION AL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

PRESENTA
SALVADOR LOZANO GARCIA

MONTERREY, N. L

JUNIO DE 1987

T
SFC/27
L6



En memoria de mi padre:

Sr. SALVADOR LOZANO NAVARRO.

Por su esfuerzo y trabajo para dejarme ésta herencia que son mis estudios.

A mi señora madre:

BLANCA GARCIA VDA. DE LOZANO.

**Por sus consejos y su gran caracter
para conducirnos adelante.**

A mi hermano:

Dr. JESUS M. LOZANO GARCIA.

Por su sentido de cooperación.

A mis demás hermanos:

BLANCA ROSA

MARIA TEREZA

LUZ VENTURA

JOSE ALFONSO

Por impulsarme en mi preparación.

A mi novia:

Lic. MARTHA J. COLLAZO V.

**Por alentarme y trasmitirme
su espíritu de superación.**

A mi facultad:

**Por abrirme sus puertas para obtener
ésta riqueza que son mis conocimientos.**

A nuestro director:

M.V.Z TELESFORO VERA GARZA

**Por contribuir al mejoramiento
académico de nuestra facultad.**

A nuestro secretario académico:

M.V.Z FRANCISCO J. PICON RUBIO.

**Mi agradecimiento por su valiosa cooperación
en la elaboración de este trabajo.**

Con admiración y respeto a mi asesor:

M.V.Z ELIAS R. SOLIS RUIZ

**Por confiar en mí, ofreciéndome su ayuda
para la realización de la presente.**

A mis maestros:

Por su apoyo moral y académico.

A mis amigos y familiares:

Por sus consejos y apoyo.

INDICE

	Página
RESUMEN	
INTRODUCCION	1
REVISION DE LA LITERATURA	5
Métodos de obtención del semen	5
Evaluación del semen.	11
Preservación, congelación y almacenado del semen.	16
Tiempo de la inseminación	21
Inseminación en fresco y con semen congelado-descongelado	26
DISCUSION	36
CONCLUSION	37
LITERATURA REVISADA	40

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura # 1	6
Vagina artificial (sup.) y embudo con tubo para recolección de semen (inf) por manipulación digital descritas por Harrop.	
Figura # 2	7
A. Vagina artificial usada para la recolección de semen canino.- B. La misma vagina pero en menor tamaño, para perros chicos.	
Figura # 3	9
Vagina artificial sobre el pene erecto del perro antes de la eyaculación.	
Figura # 4	9
Vagina artificial sobre el pene erecto al inicio de la eyaculación.	
Figura # 5	10
Eyaculación dentro de la vagina artificial.	
Figura # 6	10
Manipulación de los bulbos del glande para la obtención del eyaculado.	
Figura # 7	15
Fracciones del semen por separado (1) primera fracción, (2) segunda fracción, (3) tercera fracción.	
Figura #. 8	15
La fotografía muestra el total del eyaculado del semen.	
Figura # 9	24
Frotis vaginal del proestro, se observan eritrocitos y leucocitos.	
Figura # 10	24

	Página
Figura # 11	24
Frotis vaginal del estro, células queratinizadas en abundancia.	
Figura # 12	25
Frotis vaginal del metaestro. el inicio del metaestro está indicado por la aparición de leucocitos.	
Figura # 13	25
Frotis vaginal del anestro, hay una gran variedad de células. La perra se encuentra en reposo sexual.	
Figura # 14	27
Equipo para inseminación. Una varilla de plástico de 45 cm. partida en 2, un corto conector de hule y una jeringa desechable.	
Figura # 15	29
Introducción del dedo índice lubricado dentro de la vagina de la perra en posición elevada. La pipeta de inseminación es guiada por el dedo índice hasta el borde pélvico.	
Figura # 16	29
La pipeta es introducida verticalmente, el semen es depositado lentamente dentro de la vagina y la os del cervix.	
Figura # 17	31
De izq. a der. adhesión de agua con temperatura aprox. de 70° c., tanque con nitrógeno líquido y extracción de la muestra de semen congelado. Descongelamiento de la muestra en el termo descongelador.	
Figura # 18	33
Camada de cachorros Dachshund, producto de la inseminación artificial con semen congelado.	

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla # 1	35
Porcentaje de concepciones anuales en perros después de la inseminación artificial con semen congelado por el método de pellets.	
Tabla # 2	35
Comparación de concepción en perras después de inseminación natural e inseminación artificial con semen fresco o semen congelado.	

R E S U M E N

El presente trabajo es una recopilación informativa de artículos publicados y libros especializados en el campo de la reproducción.

La inseminación artificial como técnica especializada en las pequeñas especies se ha venido desarrollando desde 1950.

Los métodos descritos por diferentes autores contribuyen a la elaboración de una mejor técnica en la recolección e inseminación del semen.

La inseminación artificial y los métodos de preservación y congelación del semen canino son desarrollados para la obtención de camadas de cachorros y mejoramiento de la raza.

Las técnicas de la inseminación artificial en la especie canidea se realiza mediante métodos muy similares a los ya descritos en otras especies, una pipeta para inseminación en bovinos partida en 2, una jeringa desechable y el semen del perro son algunos de los materiales mas importantes para la ejecución de la misma.

Los procedimientos para la recolección del semen se logran mediante los siguientes métodos: VAGINA ARTIFICIAL, MANIPULACION DIGITAL Y ELECTROEYACULACION, siendo la primera la más utilizada y que consiste de una hoja de latex cónica unida a un tubo para centrifuga de plástico.

Después de la recolección del semen es necesario la evaluación del mismo, lográndose ésto por medio del estudio de la segunda fracción del eyaculado, que es la más importante de las tres fracciones.

La preservación del semen a corto plazo se logra con la utilización de leche pasteurizada, leche tratada por el calor o yema de huevo-citrato.

Para la conservación a largo plazo se utiliza un diluyente conteniendo 11% de lactosa con 4% de glicerina y yema de huevo pasando a través de un período de enfriamiento a 4° C para finalmente adquirir un congelamiento a -195° C, almacenándose en contenedores de nitrógeno líquido en forma de pellets, pajilla o ampolletas hasta su posterior uso.

La inseminación se realiza en el período de estro de la perra, en el 10° o 12° día del inicio de su ciclo, o dos veces en días alternos cuando la mayoría de las células epiteliales vaginales son maduras, apoyándose esto en un frotis vaginal, (citología vaginal exfoliativa).

INTRODUCCION

La historia de la inseminación artificial, se remonta desde el año de 1780, cuando el Científico Italiano Lázaro Spallanzani llevó a cabo la inseminación de una perra (Andersen, 1975; Boucher, Foote y Kirk, 1959).

Entre 1844 y 1896 Millais inseminó artificialmente 19 perras de las cuales 15 parieron.

Experimentos e investigaciones en la congelación del semen canino son comparables con aquella de la industria lechera y un gran número de cachorros se han obtenido mediante este método, teniendo las camadas gran similitud a los apareamientos naturales.

La preservación, congelamiento e inseminación artificial en esta especie, ha tenido gran éxito en los últimos años, algunos investigadores tales como Harrop, Boucher, Gutiérrez Nales y Kirk, han hecho grandes aportaciones en la elaboración de vaginas artificiales, evaluación del semen y utilización del semen refrigerado y congelado por varios días con diferentes diluyentes.

La utilización de una perra en cualquier estadio de su ciclo estral, provee una mejor obtención del semen; algunos autores describen que puede ser opcional su manejo si un perro es entrenado para tal rutina.

Los métodos existentes para la recolección del semen canino son prósperos, de los cuales la vagina artificial proporciona mayor seguridad y calidad en la recolección.

Algunas vaginas artificiales fabricadas por investigadores tales como Harrop y colaboradores (1954), fueron desplazadas por la descrita por

Seager (1969); consistente en una hoja de hule latex conica unida a un tubo de ensayo de plástico graduado, es sencilla, no es costosa y proporciona buenos resultados.

El semen obtenido debe ser inseminado inmediatamente si se realiza en fresco, para inseminación en varias horas (24-48 hrs), la adición especial de diluyentes para la fracción rica de esperma y la refrigeración a 4° c. de temperatura.

Para la preservación del esperma a largo plazo, debe ser ejecutado el congelamiento profundo; semen de perro es usualmente congelado en pellets o pajilla.

Los métodos de preservación y congelamiento del semen han progresado basándose en investigaciones y experimentos de laboratorios acondicionados (Seager y Fletcher, 1973. Andersen, 1975).

Muchos diluyentes se han estudiado en combinación con antibióticos, usualmente de 500 a 1000 U.I. de penicilina y 1 mg. de dihidroestreptomina por mililitro son agregados para la obtención de un efecto bacteriostático (Andersen, 1975).

En 1956, Brochart y Coulumb reportaron que partes iguales de yema de huevo y citrato de sodio o solución fructosa, mantenían alguna motilidad del esperma por 4 días.

Bemford, Chung, Gutiérrez Nales y Harrop han reportado que diluyentes de yema-citrato, leche y yema-leche prolongan el tiempo de supervivencia del esperma de perro (Foote y Leonard, 1963).

Harrop y Leonard (1964) han reportado éxito en el mantenimiento viable de semen de perro bajo refrigeración por largos 9 días.

Foote y Kirk (1964) tienen reportes de 50% de motilidad después del descongelamiento del semen.

Bahlau (1958) estableció que un 3% de citrato de sodio amortiguado combinado con 20% de yema de huevo y 6.5% de glicerol dieron los mejores resultados con semen congelado de perro, y Gutiérrez Nales (1957) reportó que la segunda fracción de semen canino pudiera ser congelado en un 37.5% de un medio de citrato-yema conteniendo 5.5% de glicerol.

Harrop (1962) había establecido que algunas muestras de espermatozoides de perro, colocados en un medio de 20% de citrato-yema conteniendo 10% de glicerol y congelamiento lento después de dos horas de equilibración, retuvo 50% por 12 meses a -79°C .

En 1969, en base a las exitosas preñeces obtenidas por Seager, utilizando como diluyentes 11% de lactosa, 4% de glicerina y 20% de yema de huevo, reportó que tales diluyentes proporcionan mejor evaluación del semen congelado cuando es descongelado. Así la congelación del semen de perro por largos períodos se logró, al obtener una camada de cachorros con dicho semen almacenado en nitrógeno líquido durante 6 meses y después de dos años de experimentación (Seager, 1969).

En diciembre de 1972, una perra de la raza setter parió; la camada fue normal, después de ser inseminada con semen congelado transportado por vía aérea desde San Luis, Missouri, a Portland, Oregon.

La inseminación artificial por cualquier método es realizada en un ambiente tranquilo y sin distracciones para la perra.

En la inseminación con semen congelado el equipo a utilizar debe estar preparado y limpio, al descongelar la muestra es transferida a una

jeringa desechable de plástico de 10 ml., un tubo corto de hule sirve como conector entre la jeringa y la varilla de inseminación que regularmente es una pipeta para inseminación en bovinos partida en dos.

El semen es depositado en la vagina o si es posible en el cuello uterino llegando incluso a utero. La introducción de un dedo enguantado o la funda de una jeringa de 5 a 10 ml. (dependiendo del tamaño de la perra), en la vagina después de la inseminación, promueve las contracciones uterinas y ayuda al efecto de una ligadura natural.

Hoy en día laboratorios de línea veterinaria en los Estados Unidos de Norte América; están realizando la preservación y congelamiento del semen canino para envíos a largas distancias, existiendo grandes perspectivas para el criador y dueños de perros valiosos, así como también para la exportación a otros países.

REVISION DE LA LITERATURA.

MÉTODOS DE OBTENCION DEL SEMEN.

La obtención del semen de un perro se logra mediante los siguientes métodos: Manipulación digital, vagina artificial y electroeyaculación. Los dos primeros son frecuentemente usados, mientras que la electroeyaculación está limitada y requiere de mayor investigación (Seager, 1969).

El semen de perro no es recolectado en guantes o jeringas desechables, fundas cubiertas, vasijas en forma de riñón o vasos de vidrio; ya que esto, por su fragilidad durante la eyaculación y el proceso de recolección, dan por resultado pérdidas del semen y contaminación con partículas de vidrio o bacterias.

Varios métodos y aparatos son recomendados para la recolección del semen, incluyendo una vagina artificial y un vaso o funda de plástico con tubo para centrifuga.

El método por manipulación digital se basa en una técnica de fricción con la mano enguantada del operador sobre el prepucio, insistiendo en el segmento libre del pene, entre el glande y los bulbos del glande, una vez que va en aumento la erección se insiste sobre los bulbos del glande, para terminar comprimiendo a estos fuertemente. El eyaculado se obtendrá sin dejar de comprimir los bulbos, y se deslizará el pene hacia la parte posterior entre sus piernas, elevando una de ellas, en este momento un ayudante deberá recolectar el eyaculado.

El método para la obtención del semen mediante el uso de una

vagina artificial, ha evolucionado en los últimos años; por ejemplo, la vagina artificial descrita por Harrop (1954) diseñada como una vagina especial, con un globo cerrado en el espacio ubicado entre la camisa y el tubo externo y que producía una presión pulsátil sobre el pene, simulando las contracciones de la vulva de la perra. Su desventaja se atribuye al sobrecalentamiento de los espermatozoides en la vagina, además de ser costosa e incómoda para su uso y difícil para mantenerla limpia, los resultados son pobres comparados con otros métodos. La funda y el tubo son inconvenientes si pelo y otras partículas caen dentro del eyaculado (Seager, 1975. Roberts, 1971).

La vagina artificial descrita por Seager (1969), ha venido a ser la más exitosa; consistiendo de un tubo para centrifuga graduado de plástico de 15 ml, unido a una terminación estrecha de una vaina u hoja de hule cónica, ésta vaina es igual al embudo utilizado en las vaginas artificiales para bovinos. Este tipo de vagina diseñada por Seager, puede ser utilizada para perros de 10 a 75 kgs. y para perros más chicos, el equipo puede ser reducido en su tamaño.

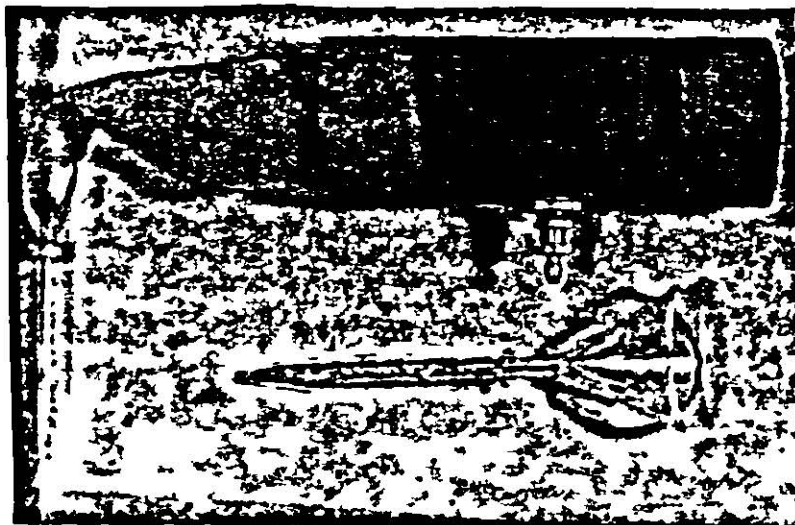


Fig. 1.- Vagina Artificial (sup.) y embudo con tubo para recolección de semen (inf.) por manipulación digital descritas por Harrop. (Boucher, Foote y Kirk. 1957).

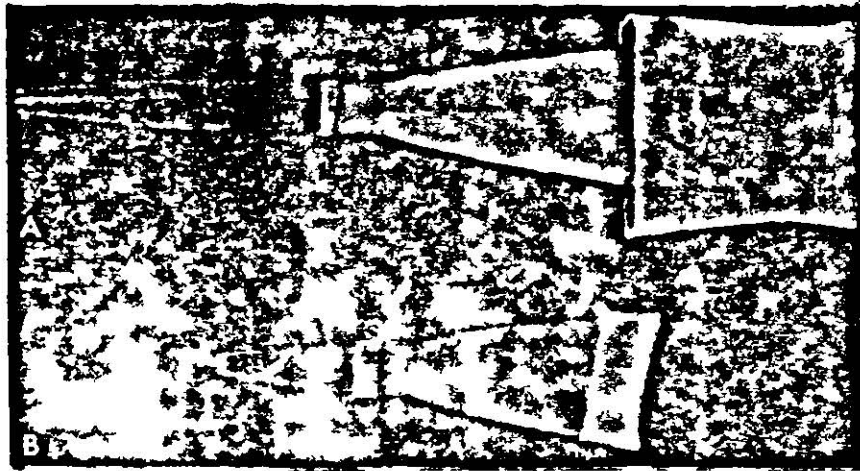


Fig. 2.- A. Vagina artificial usada para recolección de semen canino. B. La misma vagina pero en menor tamaño, para perros chicos. (Seager, 1975).

Procedimiento de recolección.

Los veterinarios pueden realizar muchos procedimientos de manipulación sin la cooperación del perro, tal como la obtención de sangre, orina y líquido espinal, sin embargo, recolectando el semen de un perro por medio de una vagina artificial requiere de la cooperación del mismo.

La utilización de una perra en cualquier período de su ciclo estral, servirá para estimular al macho excitándolo, produciendo así un mejor eyaculado.

Es importante proveer lo siguiente para una exitosa recolección del semen canino.

(1) Todo el equipo preparado y reunido. (2) Un cuarto tranquilo y aislado, con piso no resbaladizo o un tapete de goma para ambos. (3) Una fuerte pata de mesa o un aro fijo a la pared a 27 cm. del piso, el cual será muy útil para asegurar la hembra excitadora para los propósitos de recolección. (4) Sólo se requerirá del personal necesario sin interrupciones durante la recolección.

El equipo de recolección e inseminación se mantendrá seco y a la temperatura corporal (38-39°C). El equipo frío o mojado puede desalentar al perro para la eyaculación y puede además haber pérdidas de espermatozoides. Si las recolecciones del semen y evaluaciones son realizadas en una clínica, una pequeña incubadora termocontrolada se recomendará en toda la recolección. La misma incubadora no será utilizada para crecimientos bacterianos o cultivos fungales.

Todo será preparado antes que el macho sea traído al interior del cuarto de recolección. Cuando el asistente tiene a la excitadora colocada, se deja entrar al macho, la perra normalmente será sujeta al aro fijado en la pared, se le debe poner un bozal si existe cualquier sospecha de que pueda morder al macho. El semental normalmente lamerá y olerá la vulva previo al apareamiento. No se le permitirá orinar en el área, dirigiendo su atención hacia la monta de la perra.

El recolector utilizará guantes desechables, arrodillado del lado izquierdo de la perra previniendo que la perra se sienta durante el apareamiento y tomando manualmente la vaina prepucial después de que el macho ha montado, la piel prepucial será deslizada hacia atrás permitiendo que los bulbos del glande sean expuestos. Esto se realiza mejor con la mano derecha colocada entre los miembros posteriores del macho. La completa erección es improbable si la vaina prepucial no es deslizada hacia atrás de los bulbos del glande.

Una vez que el pene ha alcanzado aproximadamente el 50% de erección, no se intentará deslizar el prepucio hacia atrás de los bulbos del glande, ya que puede resultar un considerable dolor y posible sangrado, existiendo la posibilidad de que el perro muerda al recolector.

Cuando el pene está erecto, una presión moderada es aplicada hacia abajo en el pene con el pulgar e índice detrás de los bulbos del glande. Se coloca la funda de recolección suavemente sobre el pene y una tracción con presión digital en la base del pene causará completa erección y la eyaculación. Una vez realizado esto, el pene será dirigido entre las piernas del semental hacia abajo y hacia atrás, se sentirán pulsaciones a lo largo de la superficie ventral del pene durante la eyaculación. Si el perro ha orinado precisamente antes de la recolección, las primeras dos o tres gotas no serán recolectadas, y la funda de recolección no es colocada en el pene hasta que estas gotas han sido evacuadas. Ocasionalmente, un perro puede ser más difícil de recolectar que otros, en estos casos quizás sea necesario variar la presión en los bulbos del glande y cambiar del sujetar de la mano derecha a la izquierda, para obtener una exitosa recolección. Si las pulsaciones son sentidas y la eyaculación no es visible, es posible que el operador esté oprimiendo la base del pene, el paso del semen será limitado hasta que dicha presión sea liberada.

Una vez que aparece la tercera fracción del semen en el tubo recolector, la vaina es suavemente separada desde el pene hinchado.



Fig. 3.- Vagina artificial sobre el pene erecto del perro antes de la eyaculación. (Seager, 1975).

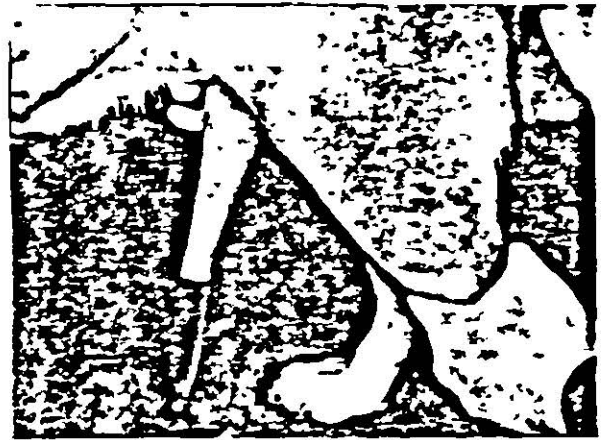


Fig. 4.- Vagina artificial sobre el pene erecto al inicio de la eyaculación. (Seager, 1975).

La segunda fracción sólo es necesaria para el congelamiento, con el conocimiento del patrón de colección y eyaculación individual del perro, es posible evitar la recolección de la primera y tercera fracción para una mejor eficiencia. Esta importancia estriba en el efecto no favorable del plasma seminal sobre el tiempo de supervivencia y la tolerancia de congelamiento de las células espermáticas.

En algunos casos, es difícil obtener buen material fraccionado, con el fin de evitar demasiada pérdida de espermatozoides, algo de la tercera fracción deberá algunas veces ser incluida.

Si la inseminación es en fresco, debe ser probado para densidad, motilidad y defectos morfológicos, tan pronto como sea posible y entonces inseminar inmediatamente.

Si se desea semen para inseminar en fresco o para congelar se tomarán precauciones para evitar el shock por frío; por lo que el equipo será calentado de 30 a 35° c. y tentativamente mantenida a esa temperatura en la mano del operador, especialmente si la recolección es tomada en un cuarto frío, o manteniendo los tubos que contienen el semen en una caja térmica que contenga agua a 35-37° c.



Fig. 5.- Eyaculación dentro de la vagina artificial (Seager, 1975).



Fig. 6.- Manipulación de los bulbos del glande para la obtención del eyaculado. (Seager, 1975).

EVALUACION DEL SEMEN

Con la finalidad de obtener una mejor muestra para la evaluación del semen, es conveniente la excitación del macho previo a la recolección.

El uso de una perra excitadora fue establecido por Boucher, Foote y Kirk (1958), para incrementar la concentración del semen, a la vez demostraron que el semen pudo ser recolectado cada segundo día sin reducir el número de esperma.

El semen de perro es eyaculado en tres fracciones, la primera fracción es aproximadamente de 0.5 a 2 ml. de líquido limpio y no presenta esperma. La segunda fracción es depositada cuando el pene alcanza su máxima erección, esta porción del eyaculado es aproximadamente del mismo volumen que el anterior, de color blanco con una consistencia preferentemente viscosa con más densidad que las otras dos fracciones y contiene el mayor número de espermatozoides (Andersen, 1975-Seager y Platz, 1977).

La tercera fracción es de interés para fines de evaluación. Ha sido observado que el esperma sin tratamiento en la segunda fracción sobrevive mas cuando no es combinado con las otras fracciones, particularmente con la tercera fracción. Un grupo de investigadores han utilizado la segunda fracción sola, para almacenado o para inseminación (Foote, 1968).

Las siguientes características serán evaluadas del eyaculado:

Color, volumen, p.h., opacidad, motilidad, por ciento de motilidad, conteo espermático por ml., conteo espermático total y morfología.

Para evaluar la fertilidad del perro solo será necesario evaluar la

primera eyaculación,, previa a la inseminación.

Color.

El color del semen debe ser lechoso a blanco cremoso, el semen con tinte amarillo, rojo o verde usualmente indica pus, sangre u orina respectivamente.

Volumen.

Solamente la primera, segunda y parte de la tercera fracción debe ser recogida para dar un volumen de 2 a 4 ml, en razas pequeñas, de 4 a 7 ml en razas mas grandes. La recolección de grandes cantidades de la tercera fracción (secreción prostática) no es necesaria.

P.h.

El p.h. debe ser 6.3 a 6.6 Un p.h. por encima de 7 usualmente indicará infección.

Opacidad.

La muestra opaca normalmente indica una cuenta alta de esperma.

Motilidad.

La motilidad se valorará según los métodos de Seager y Kirk.

Seager sugiere que una pequeña gota (.01 ml) es colocada en un portaobjeto calentado a 37° o 38°c. y entonces se coloca un cubreobjeto similarmente calentado de 22x22 mm., se trasfiere la laminilla al microscopio y usando un objeto de 100x se observará el porcentaje de espermias móviles en el campo que deberá ser más o menos de 5%.

Kirk menciona que en una muestra normal de semen pocos espermatozoides aparecen en cada campo. Esto no es turbulento como en el toro, pero si un corto movimiento vibratorio. Para juzgar motilidad, se

deberán contar 10 espermatozoides en 10 diferentes campos considerándose óptimo el 80% de motilidad (Kirk, 1963).

El grado de motilidad se basa en una escala del 0 al 5.

0- no movimiento.

1- bajo movimiento de lado a lado sin progresión hacia adelante.

2- rápido movimiento de lado a lado sin progresión hacia adelante.

3- rápido movimiento hacia adelante, ocasional progresión hacia adelante en momentos.

4- lenta, progresión hacia adelante firme.

5- progresión hacia adelante rápida.

Cuenta de espermatozoides por ml. y cuenta de espermatozoides total.

La cuenta de espermatozoides es determinada por hemocitómetro, espectrofotómetro y un contador automático celular. El hemocitómetro es el único que normalmente es usado en las clínicas veterinarias. Mezclando el semen suavemente se obtiene semen dentro de una pipeta de dilución de glóbulos rojos, ya sea las marcas de 0.5 a 1 dependiendo de la concentración de espermatozoides, se limpia la punta del hemocitómetro con un material desechable y se adhiere el líquido de dilución de eosina hasta la marca 101, se limpia la punta y se coloca en un agitador de pipeta por dos minutos, al microscopio se cuentan las puntas o esquinas de los cuadros, los cuales están divididos dentro de 16 pequeños cuadros. El conteo es hecho por anotación de todo el espermatozoides dentro de cada pequeño cuadro y el que esté asentado del lado izquierdo y la línea tope o superior de cada

uno de estos, la cuenta total de las cuatro esquinas es entonces multiplicado por 500,000 el cual dará la cuenta de esperma por mililitro, la cuenta total es obtenida multiplicando la cuenta de esperma por mililitro, por el volumen total del eyaculado.

Morfología.

Papanicolau, nigrosin, eosina y 0.1 de tinción de azul acuoso toluidine pueden ser utilizados exitosamente en la examinación morfológica del eyaculado del perro, como también la adhesión de una gota de solución salina y una gota de tinta India estéril para una gota de semen.

Aproximadamente el 75.85% de los espermatozoides, morfológicamente pueden ser considerados normales; si se observa un número elevado de glóbulos blancos o espermatoцитos primarios indican respectivamente una infección o un mal funcionamiento del proceso.

Un récord escrito para la examinación del semen debe ser guardado para referencias posteriores y para la evaluación de la fertilidad del perro. Cualquier muestra será examinada para motilidad, color y volumen, previo a la inseminación.

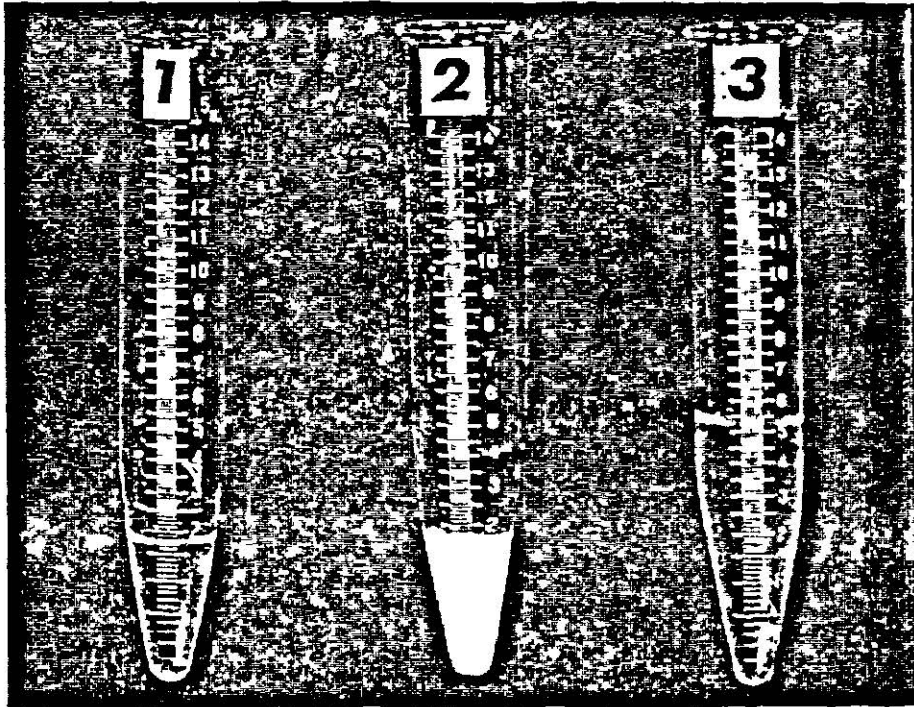


Fig 7.- Fracciones del semen por separado. (1) primera fracción, (2) segunda fracción, (3) tercera fracción. (Boucher et al, 1957).

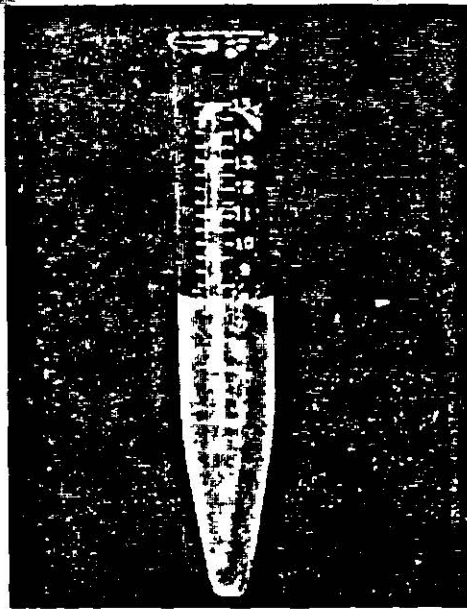


Fig 8.- La fotografía muestra el total del eyaculado del semen. (Boucher et al, 1957).

PRESERVACION, CONGELACION Y ALMACENADO DEL SEMEN.

El semen congelado ha sido de gran valor en el almacenamiento de líneas genéticas en bovinos, ovinos y porcinos, los investigadores han utilizado estos especímenes almacenados particularmente en el toro por muchos años después de que el semental ha muerto para cualquier utilización de sus buenas cualidades o para estudiar el modo de herencia de anomalías congénitas, el semen de toro fue congelado exitosamente por 12 años, hasta recientemente y comparativamente, el material genético canino no podía ser almacenado por períodos extensos. Algunos reportes describen un período entre almacenamiento y concepción de 48 meses, mientras que otros de un período de hasta 8 años.

Investigadores tales como Mann (1954) y Bert Lett (1958-1962), han producido información bioquímica sobre el semen canino mientras que otros notables autores como Kirk (1959), Foote (1969) y Harrop (1960), han publicado hallazgos sobre la recolección; características físicas de dilución y almacenamiento del semen canino no congelado, también como detalles de la inseminación artificial después del congelamiento. Foote en 1964, obtuvo por arriba del 50% y Harrop (1962), el 45% de motilidad post-congelamiento.

La preservación en un corto plazo a 4°c es suficiente con un diluyente a base de leche, para diluir el semen se utiliza leche pasteurizada que se conservó a 92-94°c por 10 minutos, y después enfriado hasta que alcance la temperatura ambiente, posteriormente, se diluye a una proporción aproximada de 8:1 con relación al semen antes de enfriarla a 4°c. el semen podrá conservarse a tal temperatura, en envases cubiertos con hielo picado.

La leche pasteurizada ha sido usada para almacenamiento de semen canino y el semen fue establecido como fértil después de almacenado más de 48 horas (Andersen, 1975).

Usando solamente la segunda fracción o sea la portadora de espermatozoides del eyaculado; el semen canino puede diluirse a 1:8 con diluyentes tales como leche tratada por el calor o yema de huevo-citrato para la conservación, y se mantendrá en tales condiciones a 4° c. durante 6 días.

Semen que fue recolectado de 9 beagles, agregado a varios diluyentes y almacenado a 5° c. por 1-16 días, dieron buenos resultados (Foote, 1964).

Extendidos de semen de perro pueden ser almacenados a -195° c. por 30 días sin pérdidas. El porcentaje de motilidad espermática, por debajo del observado después del congelamiento por un día (Foote, 1963).

Semen de perro fue diluido con 20% de medios de yema-amortiguado, conteniendo un variable nivel de glicerol, congelado a un promedio de 0.8 a 3° c., la supervivencia en medios de glicina fue pobre. Mejores resultados fueron obtenidos en un 0.20 amortiguador-yema-glucosa diluido (M tris), conteniendo 11% de glicerol. En éste diluyente, la motilidad de 9 eyaculaciones promediaron 41% después del congelamiento (Foote, 1964).

Un 2.17% de diluyente sodio citrato-amortiguado-yema-glucosa conteniendo 8% de glicerol, promedió 27% seguido al congelamiento. Ninguna declinación en la motilidad fue observada durante el almacenado de 30 días a -195° c. (Foote, 1964).

Puesto que los perros carecen de vesículas seminales, el contenido de

fructosa del semen es muy bajo, Foote y Leonard han mostrado que las adhsiones de glucosa prolongan la sobrevivida del esperma, algunos de estos investigadores reportaron que el esperma de perro, almacenado por aproximadamente dos semanas a 5°c. en un medio de glucosa-glicina-citrato-yema con un p.h. de 6.6 y una depresión en el punto de congelamiento de 0.62°c. la tonacidad del medio fue variado alternando la concentración del citrato de sodio y glicina sin cambiar los constituyentes.

Gill, Kaufman, Foote y Kirk, utilizaron los siguientes diluyentes; consistiendo en 2.4 gms. de tris(hidroximetil) aminometano (tris) 1.3 gms. de ácido cítrico monohidratado, y 1.0 gm. de fructosa en 72.2 ml. de agua destilada. Lo siguiente fue agregado: 8.8 gms. de glicerina y 200 ml. de yema de huevo, para obtener 100 ml. de diluyente. Además, 1000 unidades de penicilina y 1.0 mg. de dihidroestreptomicina por ml. fueron incluidos. El semen-diluyente mezclado entonces fue enfriado a 5°c. en un período aproximado de 1 hora. Dos a tres horas después que el semen había sido recolectado, la mezcla de 3°c. por minuto a -150°c., entonces el semen mezclado fue trasferido a nitrógeno líquido. Cuando el semen congelado fue necesitado para inseminación, fue descongelado en agua con hielo, y manipulado en la misma forma que el semen fresco.

La primera congelación del semen por un largo período de tiempo fue obtenida en los Estados Unidos de Norteamérica en 1969. El semen fue diluido a 1:3 con 11% de lactosa conteniendo 4% de glicerina (v/v), yema de huevo y fue congelado a -195°c. en pellets. El manejo del semen y congelado por aproximadamente el mismo procedimiento fue usado el siguiente año, para inseminación de 2 perras, las cuales ambas quedaron gestantes. Extendidos de tri-glucosa-ácido cítrico conteniendo 8% (v/v),

glicerol y 20% (v/v) yema de huevo fueron usados con buen resultado para congelamiento de semen de perro en pajillas.

Con los diluyentes descritos por Seager, un largo período de equilibrio parece no ser necesario con el semen canino, antes del congelamiento, a diferencia del mismo proceso elaborado en bovinos que lleva aproximadamente 6 horas. Cuando son usados estos diluyentes el tiempo entre recolección y congelamiento es de 3 horas. El semen es puesto en pellets siguiendo la descripción de Nagase, Nigua y Graaham de la técnica de congelamiento de semen bovino en una forma de pellets concentrado de 0.5 ml. de semen diluido.

El congelamiento de semen por el método de pellets involucra una dilución que debe ser hecha en tres estadios, la primer dilución siendo hecha a la temperatura de cuarto y las siguientes, deben ser ejecutadas con el eyaculado y diluyente a 5° c. La relación con una parte del semen a tres partes del diluyente consiste en yema de huevo, lactosa y glicerol. Depositando una pequeña gota del semen en un bloque de dióxido de carbono sólido e invirtiendo la sección a 90° sobre un baño de nitrógeno líquido en preparación para almacenamiento final, los pellets son situados en envases Nalgene con identificación visible del semental y fecha de congelación. La posición del semen en el tanque de nitrógeno es registrado para más tarde ser recobrado.

Almacenado.

Las técnicas de almacenamiento del semen congelado no varían grandemente. Parece estar generalmente aceptado que los métodos más exitosos son el uso de contenedores de nitrógeno líquido aislados.

Los procedimientos son variables hasta cierto grado. Sin embargo, los métodos ahora utilizados para disminuir la temperatura del semen a la del nitrógeno líquido pueden variar. Los ahora utilizados son: disminuyendo la temperatura en un estado controlado usando una mezcla de hielo alcohol seco (Treund y Widerman, 1963), congelamiento en el vapor de nitrógeno líquido (Foote, 1979), y la formación de pellets sobre un bloque de dióxido de carbono sólido (Nagase y Niwa, 1904).

Los contenedores usados para el congelamiento del semen en los métodos arriba mencionados son: ampulas de vidrio preseñaladas, pajillas de 0.5 ml o 0.25 ml, y para las formas de pellets de semen, ampolletas plásticas (Seager, 1969).

TIEMPO DE LA INSEMINACION

La perra es considerada como monoestrica estacional, ya que presenta generalmente dos ciclos reproductivos al año, y son aproximadamente cada seis meses, aunque ésto puede variar de acuerdo con la raza y edad.

El macho no muestra fases cíclicas y cubrirá a una hembra en celo en cualquier período del año

El ciclo estral de un perra está dividido en las siguientes fases:

- 1.- Proes.
- 2.- Estro.
- 3.- Metaestro.
- 4.- Anestro.

Proestro.

Clinicamente se caracteriza por descargas sanguinolentas e hinchazón de la vulva que tiende hacia la firmeza al final de éste período. La perra se interesa por el macho pero no le permite copular, éste período dura aproximadamente 9 días.

Estro.

Se caracteriza por la aceptación al macho. El color de la descarga vaginal puede cambiar a un color amarillento y la vulva disminuye un poco de tamaño para volverse suave. La ovulación ocurre 24 a 48 horas después

del inicio del estro.

La duración de ésta fase es de 7 a 14 días, con promedio de nueve días.

Metaestro.

Se considera desde el fin del estro hasta aproximadamente 60 días después. El endometrio sufre cambios hacia el estado de anestro desde el día 25 de su inicio en adelante.

Anestro.

Se caracteriza por inactividad ovarica. Esta fase puede tener una duración de 100 a 150 días, como promedio 125 días.

Para determinar un mejor tiempo de inseminación es importante evaluar una historia reproductiva previa al ciclo de calor, su regularidad y período de duración.

Siguiendo una correlación de los siguientes factores: tipos y grados de inflamación de la vulva, color de la descarga vaginal, frotis del epitelio vaginal, número de días desde el inicio del sangrado y el grado de aceptación de un macho por la perra, no ayudará a determinar los tiempos ideales de inseminación.

La perra será inseminada:

- a.- El 10 mo. y 12 vo. día, contando el día 1 ro. como el primer día de la descarga vaginal sanguinolenta.**
- b.- En el 2 do. y 4 to. día del verdadero estro;**
- c.- Dos veces en días separados cuando la mayoría de las células epiteliales**

vaginales son maduras.

En algunos casos puede ser aconsejable inseminar una tercera vez 48 horas más tarde.

Citología vaginal exfoliativa (frotis vaginal) se realizará para tener mayor seguridad en el día de inseminación.

El ciclo reproductivo de la perra podrá ser estudiado en base a los diferentes cambios en dicho examen.

Se toma una muestra con un isopo estéril de la parte profunda de la vagina y se hace un frotis; inmediatamente se fija en alcohol de 95°, durante 5 minutos o más.

Procedimiento.

- 1.- lavar el exceso de fijador con agua corriente.
- 2.- hematoxilina de harris.-----30 segundos.
- 3.- agua corriente.-----5 minutos.
- 4.- schorr tricromico.-----1 minuto.
- 5.- alcohol 70%-----30 segundos.
- 6.- alcohol 95%-----30 segundos.
- 7.- alcohol absoluto-----30 segundos.
- 8.- xilol-----1 minuto.
- 9.- montar con cubreobjetos y resina.

La tinción también puede realizarse con las técnicas schorr tricromico, writh, giemsa o papanicolaou, se observará lo siguiente: Proestro. Durante esta fase del ciclo, la muestra vaginal contiene eritrocitos y células

queratinizadas, la proporción de estas últimas aumentan con el progreso del proestro.

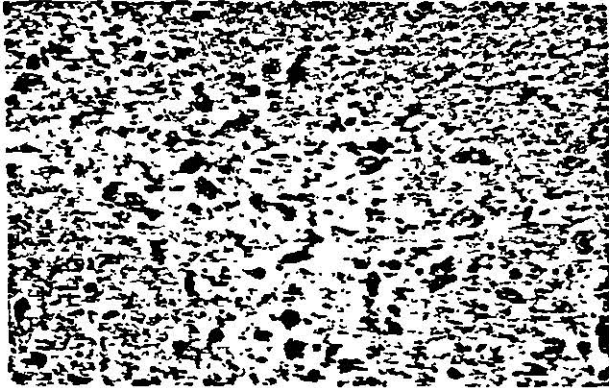


Fig 9.- Frotis vaginal del proestro, se observan eritrocitos y leucocitos. (Purina, 1986).

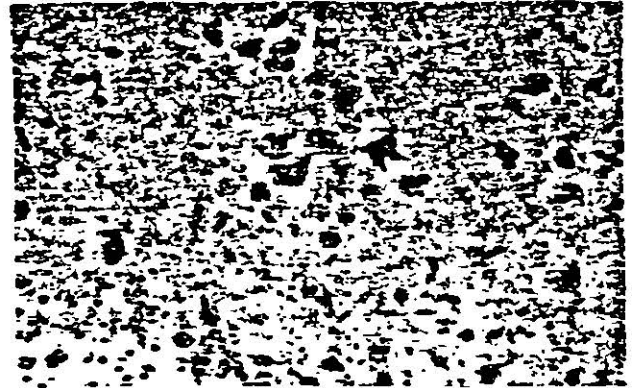


Fig 10.- Frotis vaginal del proestro. (Purina, 1986).

Estro. En este período hay preponderancia de células queratinizadas (núcleo difícil de diferenciar; con vacuolizaciones), los eritrocitos pueden estar presentes en un 25% de los casos. Puede haber presencia de bacterias.



Fig 11.- Frotis vaginal del estro, células queratinizadas en abundancia. (Purina, 1986).

Metaestro. Ausencia de eritrocitos y células queratinizadas con presencia de leucocitos dentro de las células parabasales, que son representativas en el canino. Al inicio del metaestro pueden encontrarse

células queratinizadas.



Fig. 12.- Frotis vaginal del metaestro, el inicio del metaestro está indicado por la aparición de leucocitos. (Purina, 1986).

Anestro. La muestra se encuentra una gran variedad de células diferentes; células epiteliales, basales y en ocasiones eritrocitos y leucocitos.



Fig. 13.- Frotis vaginal del anestro, hay una gran variedad de células. La perra se encuentra en reposo sexual. (Purina, 1986).

Los ciclos estrales están siendo definidos más precisamente con niveles hormonales sericos vía radio-inmunoensayo. Además, la paroscopia para visualizar realmente cambios en el ovario canino. A través de todos los estadios del ciclo estral que ayudará a determinar el tiempo ideal para la inseminación.

INSEMINACION EN FRESCO Y CON SEMEN CONGELADO-DESCONGELADO.

Los métodos de recolección e inseminación artificial son muy parecidos, tanto para el semen fresco como para el semen congelado.

La inseminación artificial con semen fresco.

Esto se lleva a cabo una vez que se ha obtenido el semen y ha sido evaluado.

El equipo de inseminación consiste de una pipeta de plástico de 45 cm. de las utilizadas en la inseminación en bovinos dividida en 2, un corto conector de hule y una jeringa desechable de 10 ml, guantes desechables para la recolección e inseminación.

La perra deberá ser sujeta a un aro colocado en la pared o a la pata de una mesa firme, se utilizará un bozal; si existen posibilidades de mordeduras. La vulva es lavada con agua o solución salina normal y luego se seca. Desinfectantes o jabones no deberán ser usados para limpiar, ya que con frecuencia pueden ser espermatocidas.

El asistente se colocará con su espalda hacia la pared y la cabeza y cuello de la perra entre sus piernas. El entonces elevará los miembros traseros de la perra en un ángulo de aproximadamente 60° del piso. Si la perra trata de liberarse, la aplicación de una presión interna con las piernas del asistente limitará su movimiento. Los miembros posteriores de la perra se giran hacia afuera ligeramente, sujetando la cola con una mano para exponer la vulva.

Antes de la aspiración del semen fresco dentro de la jeringa, un mililitro de aire es succionado dentro de la misma. La aspiración del semen deberá ser lenta para evitar burbujas que se eleven a lo largo del líquido seminal el cual puede dañar a las células espermáticas.

Lubricando el dedo índice de la mano izquierda y la pipeta de inseminación, se introducirá suavemente el dedo dentro de la vagina de la perra, frotando dorsalmente sobre la orilla de la pelvis.

Se introducirá la pipeta junto con el dedo hasta que tope con la orilla pélvica, verticalmente es empujada la punta de la pipeta hacia el cervix, si se dificulta al introducir a esta profundidad, se sacará la pipeta 2.5 a 5 cm. y se modificará a un ángulo distinto lenta y suavemente; si aún existe resistencia una pequeña porción de semen podrá ser depositada en este lugar, el cual con frecuencia permite a la pipeta introducir más profundamente, cuando existe moderada resistencia, esto indicará que el área cervical ha sido alcanzada; posteriormente se depositará el semen lentamente.

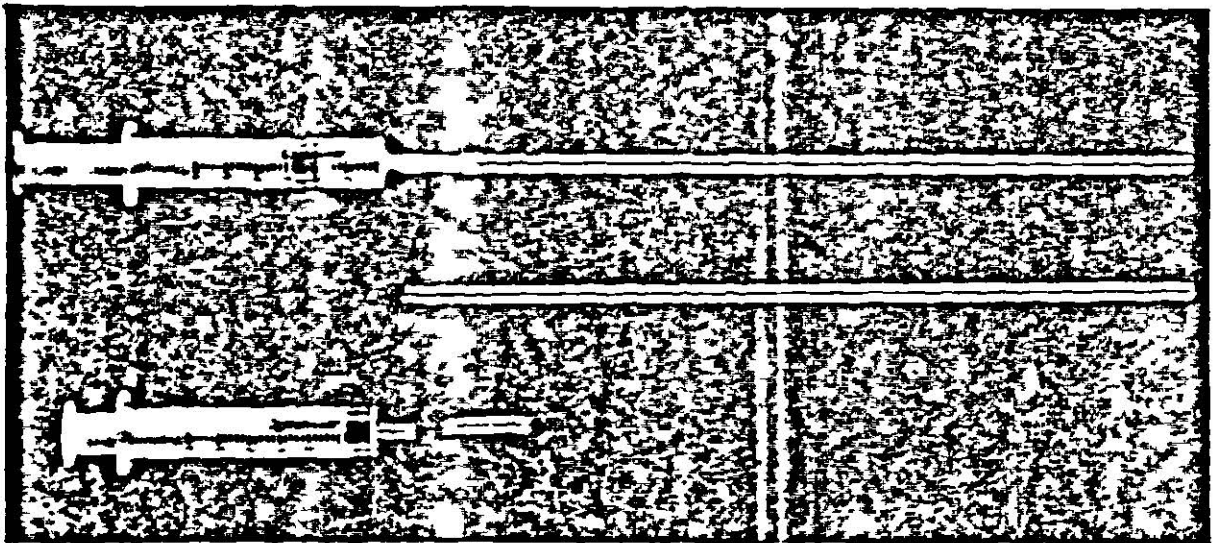


Fig. 14.- Equipo para inseminación. Una varilla de plástico de 45 cm. partida en 2, un corto conector de hule y una jeringa desechable. (Seager y Platz, 1977).

La profundidad de inserción en razas grandes es de 20 a 22.5 cm., en razas medianas de 15 a 17.5 cm. y en razas pequeñas de 10 a 15 cm.

Una vez depositado el semen se afloja el conector de hule con el dedo pulgar izquierdo e índice para obtener un ml. de aire dentro de la jeringa y se vuelve a ajustar al conector, de esta manera se empujará el remanente del semen de la pipeta dentro del área cervical de la hembra. Suavemente se retirará la pipeta de inseminación de la vagina y se mantendrá elevados los miembros posteriores durante 6 minutos, después de la inseminación, esto evitará el regreso del semen.

Algunos autores recomiendan la introducción de un dedo enguantado o la funda de una jeringa en la vagina después de la inseminación, esto ayudará a producir un efecto de ligadura natural y de contracciones uterinas.

Siguiendo el período de elevación suavemente se regresa a la perra a su posición normal, es importante no levantarla, por colocamiento de un brazo debajo del abdomen puesto que puede causar que la vagina se incline con la posible pérdida del semen. Si es transportada, se cargará con un brazo alrededor del pecho y el otro brazo sujetando los miembros posteriores, colocandola en una jaula aislada, con un período de reposo de dos horas. Con lo que se evitará la pérdida del semen.

Las fundas de recolección y los tubos serán lavados con detergentes y enjuagados completamente en agua destilada o desionizada para quitar todos los residuos. Este material será secado con aire o colocados en una incubadora caliente, no deberán usarse autoclaves de gas, ya que residuos podrán permanecer como espermaticidas por muchos meses.



Fig. 15.- Introducción del dedo índice lubricado dentro de la vagina de la perra en posición elevada. La pipeta de inseminación es guiada por el dedo índice hasta el borde pélvico. (Seager y Platz, 1977).

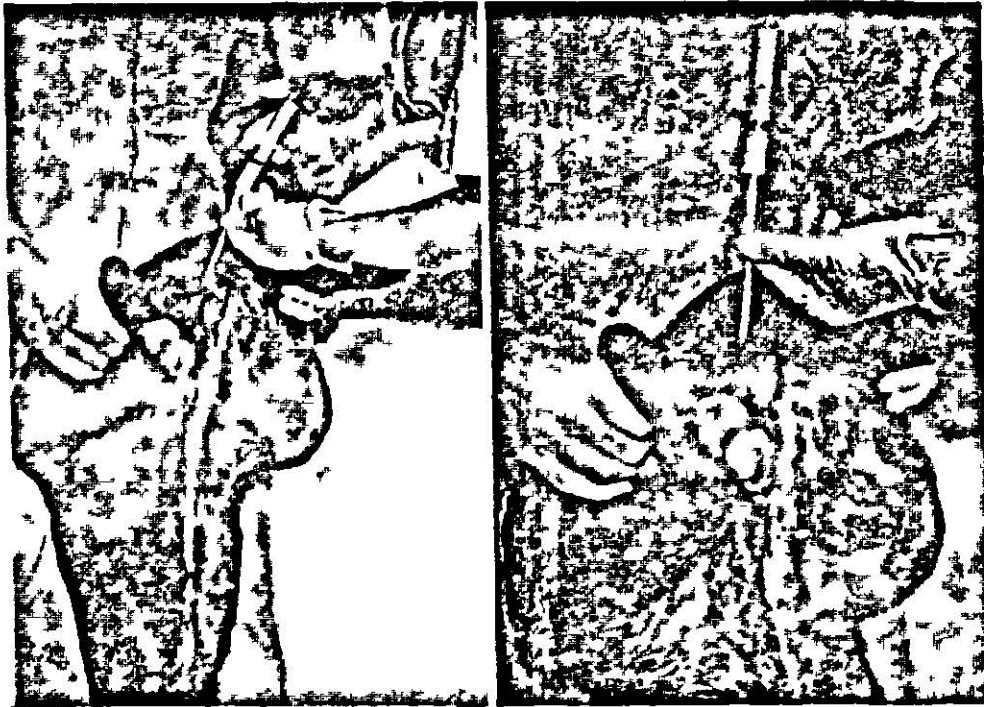


Fig. 16.- La pipeta es introducida verticalmente, el semen es depositado lentamente dentro de la vagina y la os del cervix. (Seager y Platz, 1977).

Inseminación con semen congelado-descongelado.

Similar a otras especies; cuando el esperma de perro es descongelado tiene comparativamente un período corto de motilidad in vitro. La vida activa del espermatozoide varía y es dependiente sobre la temperatura a la cual es mantenido, y ha sido observada una viabilidad de 6-7 horas a temperatura ambiente.

Algunos investigadores sugieren que la vida del semen descongelado en vivo es de una duración no más larga, que la descrita anteriormente.

Proceso de descongelamiento del semen.

Para realizar dicho proceso se requiere el siguiente material.

- 1.- tanque de nitrógeno líquido.
- 2.- termos para descongelar.
- 3.- varilla metálica.
- 4.- tubo para centrifuga.
- 5.- guantes.
- 6.- tijeras.
- 7.- toalla.
- 8.- agua hervida.

Procedimiento.

Se llenarán los termos para descongelar con agua hervida vaciando directamente en el interior de la bolsa de descongelamiento. Se asegurará que la bolsa esté llena, un termómetro será colocado para observar cuando

alcance a 70° c., este tiempo llevará aproximadamente de 20 a 40 minutos y será importante que baje la temperatura de 70° c., posteriormente, se quitará el tapón del tanque de nitrógeno; usando guantes se jalará hacia arriba la manga interna del tanque por su mango para recoger el bastón de aluminio. Se apartará la copa de plástico por deslizamiento del bastón, regresando el mismo al tanque. Rápidamente se descargará el exceso de nitrógeno líquido si existe en la copa, si la hay se limpiará con la toalla de papel. Se colocará la pajilla fuera de la copa y se introduce en la bolsa para descongelar del termo descongelador, se contarán de 5 a 7 segundos removiendo toda la pajilla que se coloca en la toalla. Inmediatamente se secará enrollándola suavemente en la toalla.

Utilizando tijeras se cortará los finales sellados (terminal opuesta del tapón blanco), de cada pajilla y se expulsará el contenido por presión contra el tapón blanco, utilizando la varilla metálica recolectando el contenido en tubo de centrifuga.



Fig. 17.- De izq. a der. adición de agua con temperatura aprox. de 70° c., tanque con nitrógeno líquido y extracción de la muestra de semen congelado. Descongelamiento de la muestra en el termo descongelador. (Canine Cryobank, Inc. 1986).

Una vez descongelada la muestra se trasfiere a una jeringa de plástico desechable de 10 ml., unida a una pipeta para inseminación por un corto tubo de hule. El área genital se lavará antes de la inseminación. Un dedo enguantado guiará la pipeta de inseminación dentro de la vagina, si existe alguna resistencia se retirará y se insertará en un ángulo levemente diferente. En una perra virgen la pipeta debe ser lubricada con un producto no espermaticida.

El embolo deberá ser deslizado suavemente depositando el semen en la vagina. El semen no deberá ser forzado a través del pivote de la jeringa, puesto que podría resultar algún daño a los espermatozoides. La jeringa es retirada mientras la pipeta de inseminación está todavía en la vagina, así permitirá que el remanente del semen puede fluir por gravedad.

Seager ha recomendado que con el fin de prevenir que el semen se regrese, la perra debe ser inseminada con los miembros posteriores elevados en un ángulo de 80° del piso. Esta elevación pre-inseminación es importante cuando el semen es depositado dentro de la vagina, la elevación post-inseminación de la perra ayudará a prevenir cualquier regreso del semen y mejora el almacenamiento alrededor de la abertura del cervix. El regreso del flujo puede ocurrir si la inseminación es hecha en una posición normal. La perra permanece elevada de 5 a 10 minutos. La funda externa de una jeringa desechable de 6 a 12 ml (dependiendo del tamaño de la perra), o un dedo enguantado es insertado dentro de la vagina después de inseminación, ya que promueve en la vagina y el utero posibles contracciones. El promedio de migración espermática es incrementado por dichas contracciones.



Fig. 18.- Camada de cachorros Dachshund, producto de la Inseminación artificial con semen congelado. (Canine Cryobank, Inc., 1987).

Seager y Platz en 1977, reportaron sobre el uso de un método para concentración del semen canino por medio de centrifugación.

La concentración del eyaculado, el uso de menos diluyente previo a los resultados del congelamiento da una máxima concentración de motilidad espermática con menor volumen. Esto permite depositar un gran número de espermias en la abertura cervical, sin los problemas de pérdidas de semen, debido al regreso y al alto factor de dilución.

La centrifugación para concentrar espermatozoides caninos, resulta de una reducción del volumen final diluido, por un tercio a un cuarto sin interferir con el promedio de concepción, tamaño de la camada o peso al nacer, sin causar anomalías en las crías.

El depósito del semen puede ser también realizable por los métodos de depositación uterina y por cirugía. Estos dos métodos son más complicados y requieren de mayor adiestramiento.

Los siguientes cuadros muestran un porcentaje de concepción anual con inseminación artificial, con semen congelado y una comparación de concepciones entre el servicio natural y los métodos de la inseminación artificial con semen fresco y congelado.

TABLA 1. PORCENTAJE DE CONCEPCIONES ANUALES EN PERRAS DESPUES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN CONGELADO POR EL METODO DE PELLETS. (SEAGER Y COLABORADORES, 1972).

AÑO	No. DE PERRAS INSEMINADAS	No. PREÑADAS	% DE PREÑEZ
1969	21	2	9.5
1970	29	3	10.3
1971	20	8	40.0
1972	38	25	65.8
1973	37	16	43.2
1974	11	7	63.6

TABLA 2. COMPARACION DE CONCEPCION EN PERRAS DESPUES DE INSEMINACION NATURAL E INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN FRESCO O SEMEN CONGELADO. (SEAGER Y COLABORADORES, 1972).

	NATURAL	ARTIFICIAL (SEMEN FRESCO)	ARTIFICIAL (SEMEN CONGELADO)
No. DE PERRAS INSEMINADAS	23	62	38
No. DE CONCEPCIONES	18	40	25
No. DE CONCEPCIONES % DE CONCEPCION	78.3%	64.5%	65.8%

DISCUSION

La inseminación artificial es en la actualidad uno de los métodos más prósperos utilizados para la reproducción en los animales domésticos.

Muchos progresos se han logrado en la investigación, con el uso de semen fresco, congelado y su aplicación en la reproducción canina.

En el presente trabajo se señalaron detalladamente los métodos de recolección, preservación e inseminación artificial, habiéndose enfatizado en la utilización y desarrollo de cada uno de ellos.

Gran cantidad de criadores en otros países están explotando la inseminación artificial con las técnicas de semen congelado y el obtención a larga distancia del mismo, esto evita los gastos de manutención de un semental, así como el embarque de una perra y los riesgos que existen en el envío.

El método en la inseminación artificial es aplicado con buenos resultados en otras especies domésticas, mientras que en canideos existen limitantes derivadas de la falta de aplicación práctica. Las diferentes técnicas elaboradas por investigadores nos permiten observar que su adaptación a la práctica clínica son factibles.

Los métodos de recolección y preservación se han visto modificados actualmente mediante investigaciones (Seager, 1969) que han proporcionado el mejoramiento de las técnicas.

CONCLUSION

La inseminación artificial con semen fresco (I.A. directa) es bien conocida por los médicos veterinarios en pequeñas especies, reconociéndose las ventajas de su utilización, mencionándose entre ellas: El aumento de la capacidad reproductiva de los sementales, el mejoramiento zootécnico, la valoración de los reproductores, variación genética, disminución de enfermedades venéreas. control de la descendencia y lesiones en el traslado.

La inseminación artificial evita el riesgo de exponer un semental valioso para dañarse en los procesos de la cruce, también permite cruzar animales con impotencia, viejos, débiles perros con rigidez o dolor en la parte posterior, como también en algunos casos tendencia hacia la selección de un compañero sexual.

La utilización en las razas caninas miniaturas (pekinese, dachhound), previniendo el agotamiento debido a los repetidos intentos de copulación.

En base a las investigaciones realizadas por Harrop, Kirk y colaboradores, en un período de 1950 a 1965 han permitido sentar las bases para la utilización del semen congelado. Por otro lado Seager en 1969, logra obtener la primer camada, con muy buenos resultados.

Los estudios realizados permiten afirmar que la utilización de los métodos desarrollados pueden ser llevados a la práctica.

En nuestro país la inseminación artificial con semen congelado no se lleva a cabo, por la falta de técnicas adecuadas para la preservación y congelamiento del semen canino y sus procesos de descongelación.

Concerniente a la importación del semen, algunos países tienen sus propias regulaciones. Nueva Zelanda exige un examen de leptospirosis del perro semental dentro de los 10 primeros días de la recolección del semen, Australia restringe la entrada de cualquier semen canino y en nuestro país no hay regulación al respecto; aún así todo aquel que desee importar o exportar semen canino deberá obtener un permiso del país en cuestión. En ocasiones las legislaciones reducen las posibilidades comerciales de la inseminación artificial de los criadores de perros.

Los trabajos de investigación en inseminación artificial en canideos aún está con retrasos, con respecto aquéllos realizados en otras especies por tres razones principales.

- 1.- La relativa o poca importancia desde el punto de vista económico.
- 2.- El poco interés de los criadores para la aplicación y fomento de la inseminación artificial.
- 3.- La falta de laboratorios de investigación y aplicación práctica del semen congelado.

Desde el punto de vista económico la inseminación artificial es aplicada en aquellas especies cuya importancia radica en la producción alimenticia, para aprovechamiento humano, quedando relegadas aquellas que son con fines menos prácticos. Lo anterior se complementa por la falta de interés de los criadores para incrementar las investigaciones y la aportación científica de los laboratorios hacia la inseminación artificial en pequeñas especies.

Esto nos hace pensar que hasta cierto punto los informes o reportes obtenidos de otros países con cierto adelanto en este campo, se pudiera

obtener la metodología para la elaboración y aportación práctica de dichas técnicas, laboratorios especializados pudiesen brindar al médico veterinario una gran gama de semen en congelación de diferentes razas y utensilios necesarios para el desarrollo de la misma.

LITERATURA REVISADA.

- 1.- Andersen, K. 1975. Artificial insemination and storage of canine semen. *Zuchthygiene*. 661-665.
- 2.- Anónimo. Artificial insemination. *Popul dogs*. 36 (5): 41.
- 3.- Boucher, J. H., Foote, R. H. y Kirk, R. W. 1967. The evaluation of semen quality in the dog and the effects of frequency of ejaculation upon semen quality, libido and depletion of sperm reserves. *Cornell Vet*. 67-85.
- 4.- Edward, J.D. y Joshua, J.O. 1982. Problemas clínicos de la reproducción canina. Editorial El manual moderno, s.a. de c.v. 64-67.
- 5.- Farstad, W. 1984. Bitch fertility after natural mating and after artificial insemination with fresh or frozen sem. *J. small- anim. pract* 25, 561-565.
- 6.- Foote, R.H. y Leonard, E.P. 1964. Survival of dog sperm in buffered-yolk extenders. *Cornell vet*. 54 (1): 78-89.
- 7.- Foote, R.H. 1964. Survival of stored sperm. *Cornell vet* 54 (1): 89-97.
- 8.- Foote, R.H. 1963. Extenders of freezing dog sperm. *Am J. vet. res* 25 (104): 37-40.
- 9.- Foote, R.H. 1963. The influence of frequency of semen collection, fractionation of the ejaculate, and dilution rate on the survival of stored dog sperm. *Cornell vet*. 89-97.
- 10.- Foote, R.H. y Leonard, E.P. 1963. The influence of pH, osmotic pressure, glycine and glycerol on the survival of dog sperm in buffered-

yolk extenders. Cornell vet. 78-88.

- 11.- Foote, R.H. 1964. The effects of electrolytes, sugars, glycerol, and catalase on survival of dog sperm stored in buffered-yok mediums. Am. J. vet. res. 25, 32-35.
- 12.- Foote, R.H. 1964. Extenders of freezing dog semen. Am. J. vet. res. 37-39.
- 13.- Foote, R. H. y Boucher. J. H. 1964. A comparasion of several photoelectric procedures of estemating sperm concentration in dog semen. Am. J. vet. res. 558-560.
- 14.- Galina, H.C. 1980. Manual de prácticas de reproducción. UNAM. 150-157.
- 15.- Gill H.P., Kaufman, C.F., Foote. R.H. y Kirk R.W. 1970. Artificial insemination of beagle bitches with freshly collected, liquid-stored, and frozen-stored semen. Am. J. vet. res. vol. 31, no. 10 1807-1813.
- 16.- Harrop, A.E. 1972. Recent developments in canine artificial insemination. Vet. rec. 90. 241-243.
- 17.- Heywood, R. y Sortwell, R.J. 1971. Semen evaluation in the beagle dog. J. small. anim. pract. 12, 343-346.
- 18.- Isaacs, W.B. y Coffey. D.S. 1984. The predominant protein of canine seminal plasma is an enzima. The journal of biological chemistry. vol. 259. no. 18, 11520-11526.
- 19.- Kirk, R.W. 1964. Canine artificial insemination. Mod. vet. prac. 45 (3): 82-84.
- 20.- Kirk, R.W. 1961. Artificial insemination in dogs. Mod. vet. prac. 42 (12): 29-30.

- 21.- Martin, I.C. 1963. Deep freezing of dog spermatozoa. Res. vet. sci 4 (2): 304-325.
- 22.- McDonald, L.E. 1978. Reproducción y endocrinología veterinaria. Editorial interamericana segunda edición. 387-396.
- 23.- Mercier, E., Bratton, R.W. y Salisbury, E.W. 1949. Semen production and fertility of dairy bulls as related to frequency of ejaculation. Cor. vet. 32-25.
- 24.- El manual merck de veterinaria. 1981. Segunda edición. merck co., inc 670-671.
- 25.- Payro, J.L. 1981. El perro y su mundo. Tratado de zootecnia canina Loera Chavez hnos. cia. editorial s.a. 172-174.
- 26.- Platz, C.C. y Seager, S.W. 1977. Successful pregnancies with concentrated frozen canine semen. Laboratory animal science. 1013-1016.
- 27.- Power, J.H. 1964. Physical factors affecting canine semen. Irish-vet. j. 17 (12): 226-231.
- 28.- Power, J.H. 1964. Chloride content and ejaculate volume of semen. Irish vet. j. 18 (3): 41-48.
- 29.- Roberts, S.J. 1971. Obstetricia veterinaria y patología de la reproducción. Editorial hemisferio sur s.a. 959-960 989-990.
- 30.- Seager, S.W., Platz, C.C. y Hodge, W. 1975. Successful pregnancy using frozen semen in the wolf. Int. zoo. yb. 15:140-143.
- 31.- Seager, S.W., Platz, C.C. y Templeton, J.W. 1975. Canine genetics and frozen semen. Transplantation proceedings, vol. VII. no. 4. 571-573.
- 32.- Seager, S.W. 1969. Successful pregnancies utilizing frozen dog semen.

A. I. digist: vol. XVII, No. 12. 6-16.

- 33.- Seager, S.W. y Platz, C.C. 1977. Artificial insemination and frozen semen in the dog. *Veterinary clinics of north america*. vol. 7 No. 4. 757-764.
- 34.- Seager, S.W. y Platz, C.C. 1977. Collection and evaluation of canine semen. *Veterinary clinics of north america*. vol. 7 No. 4 765-773.
- 35.- Seager, S.W., Platz, C.C. y Fletcher, W.S. 1975. Conception rates and related data using frozen dog semen. *J. reprod. fert* 45, 189-192.
- 36.- Seager, S.W., y Fletcher, W.S. 1973. Progress on the use of frozen semen in the dog. *Vet. rec.* 92. 6-10.
- 37.- Seager, S.W. 1975. Semen collection and artificial insemination of dogs. *Vet. rec.* 95 (2):-1245-1251.
- 38.- Scott, C.B. y Stockner, P.K. 1986. Vaginal smear technique for breeders. Reprinted by of dachund reporter. 24-27.
- 39.- Stockner, P.K. 1986. The current status of the canine frozen semen industry. *Retriever field trial news*. II.
- 40.- Stockner, P.K. 1985. Status of the canine frozen semen industry. *Modern veterinary practice*. 98-99.
- 41.- Wales, R.G. y White, I.G. 1963. Viability of diluted od spermatozoa in vitro *J. reprod. fertil* 5-67-76.
- 42.- Willet, E.L. Puller, H.K. y Salisbury, G.W. 1940. Preservation of bovine spermatozoa in yolk phosphate diluent and field results from its use. *Cor. vet.* 507-513.

