

GESTACIÓN EN LA PERRA

MVZ Carlos Esquivel

INTRODUCCIÓN

Por lo general se estima que la duración de la gestación en la perra es de 63 días, sin embargo, considerando la gran variación que existe con respecto al tiempo de ovulación, fertilización, el número de montas y la duración del periodo fértil (estro), se puede hablar de un rango de 58 a 68 días (63 ± 5) y en algunos casos hasta de 70 a 72 días.

La manera tradicional con la que el propietario y algunos colegas calculan el periodo gestacional, es tomando como referencia el primer día en que la cópula sucede, lo cual, es un método que no siempre resulta preciso ya que hay interacción de factores que mencioné anteriormente. El conocer la duración de la gestación, permite predecir el momento del parto sobre todo para realizar una correcta planeación para acomodar y recibir a la nueva madre con sus cachorros en instalaciones adecuadas además de poder calcular la cantidad de alimento necesario para la o las perras que se tengan gestantes. Es muy común el hecho de no llevar a la perra gestante con el médico veterinario (al menos en la ciudad de México) ya que es muy arraigada la creencia de que esta especie es altamente capaz de llegar al parto sin problemas y por lo tanto es un ahorro económico importante para el propietario el no hacer estas visitas, lo cual, es absolutamente falso, ya que en la perra como en otras especies se pueden presentar algunas entidades patológicas que deben ser detectadas y atendidas a la brevedad posible para evitar involucrar la vida tanto de la perra como de los productos.

Diagnosticar la gestación con antelación permite también el programar en caso necesario, la realización de una cesárea o en algunas ocasiones administrar algún tratamiento que debe ser inofensivo durante el periodo gestacional. Algunos criadores e incluso veterinarios recomiendan el que la perra reciba un solo servicio para facilitar el cálculo sin embargo, esta práctica tampoco resulta confiable ya que la fertilización no necesariamente se presenta el mismo día en el que ocurrió el apareamiento por lo que lo más recomendable, es la detección oportuna del periodo fértil, la programación del número

adecuado de montas o inseminaciones artificiales (IA) para cubrir esta etapa y tomar como base la última cópula o IA para estimar la fecha probable para realizar el diagnóstico de gestación y calcular el momento para la presentación del parto.

FERTILIZACIÓN

Se lleva a cabo en el ánupula del oviducto. Para que la fertilización se realice, es necesario que el óvulo sea maduro (ovocito secundario) situación que en la perra no es inmediata, ya que este animal, ovula en estadio de ovocito primario y aproximadamente 108 horas después, alcanza su segunda división meiótica para convertirse en un ovocito secundario. Este es otro argumento de peso, para recomendar que la perra sea apareada más de una vez. Los embriones permanecen en el oviducto 6 a 12 días tiempo en el que alcanzan el estadio de desarrollo conocido como mórula tardía (32 células) o blastocito temprano (64 células) para posteriormente llegar al útero.

Una vez en el útero, los embriones permanecen flotando en el cuerno ipsilateral al oviducto en el que ocurrió la fertilización, se alimentan del material nutritivo contenido en el saco vitelino, de las propias reservas del óvulo presentes antes de la fertilización y de las secreciones uterinas conocidas como leche uterina (histotrofe). Cabe mencionar que los embriones en este nivel de desarrollo, no utilizan a la glucosa como nutriente sino que emplean ácido láctico y cítrico. Este fenómeno toma aproximadamente 6 días y se ha detectado que los blastocitos crecen en este tiempo de .3 mm hasta 2 mm para implantarse posteriormente, lo cual, se presenta 17 a 21 días después de la fecundación.

Estudios recientes han revelado que no se ha encontrado correlación alguna entre el número de óvulos liberados y fertilizados en el oviducto con la cantidad de embriones implantados en el cuerno uterino del mismo lado, lo que comprueba el hecho de que la primera señal que la madre recibe para que el sistema endócrino detecte la gestación, es de tipo mecánico es decir, ese flotar por la luz uterina es el primer mensaje de la presencia de embriones, sin embargo, con el avance tecnológico en las investigaciones sobre la fisiología de la fertilización, se ha descubierto que además de la señal mecánica, existen señales químicas para que el reconocimiento de gestación se lleve a cabo.

RECONOCIMIENTO MATERNO DE LA GESTACIÓN.

Este fenómeno se presenta en la hembra después de la fertilización. Como es sabido, las hembras clasificadas como poliéstricas continuas presentan ciclos estrales en forma constante pero, cuando están gestantes, aparece una serie de eventos para que el próximo ciclo no se inicie, por lo que al conjunto de estos eventos se les conoce como reconocimiento materno de la gestación que básicamente está encaminado a evitar la destrucción del cuerpo lúteo (cl) es decir, la presencia de esta estructura y la producción de progesterona (P4) es necesaria para el mantenimiento de la gestación, si la hembra, no quedó gestante, entonces el cuerpo lúteo se destruye, los niveles séricos de P4 disminuyen, se produce una retroalimentación negativa hacia el hipotálamo que lo estimula para producir hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y se presenta el arranque de un nuevo ciclo estral.

Los mecanismos para evitar esta destrucción, son diferentes en las diversas especies animales incluyendo al ser humano y han sido ampliamente estudiados dando a conocer en algunos casos la totalidad del mecanismo (mujer, rumiantes cerda y perra) y en otros parte del mismo (yegua y gata).

En el caso particular de la perra, es necesario decir que no existe un mecanismo de reconocimiento de la gestación con base en los siguientes argumentos:

A) No es una especie continua ya que presenta una etapa de anestro que puede durar de 3 a 9 meses.

B) El cuerpo lúteo permanece sin importar si existe o no la gestación, de tal forma, que la perra estará bajo la influencia de P4 durante 63 días si quedó gestante y hasta 100 días si quedó vacía, lo que sugiere que la perra desde el punto de vista endócrino, no presenta diferencias entre la etapa de diestro (fase lútea) y el periodo gestacional en lo que se refiere al nivel de síntesis de P4, lo que en conclusión significa, que la perra no gestante pero en diestro, automáticamente se le debe considerar pseudogestante y no en un periodo conocido como embarazo psicológico, lo cual en mi opinión es un error ya que no es una alteración provocada por el sistema nervioso central sino una manifestación clara de la actividad del sistema endócrino de la perra. En mi concepto muy particular, difiero con aquellos colegas que se refieren a este fenómeno como una patología endocrina o como un

factor predisponente a la presentación de la hiperplasia quística endometrial – piometra ya que hay pacientes que padecen piometra y nunca presentaron pseudogestación y pacientes con pseudogestación que no sufren piometra. Aquellos casos en los que ambas entidades se presentaron, deben ser considerados como coincidencias ya que actualmente se están realizando estudios al respecto y todavía no hay estudios que avalen científicamente que un padecimiento favorece la aparición del otro. Es muy importante identificar a la pseudopreñez clínica que es en la que se presenta la secreción láctea, el desarrollo del tejido mamario, el cambio de conducta y el crecimiento del abdomen pero, en este caso, se debe hablar de la relación entre la progesterona y la prolactina que debemos recordar es inversamente proporcional, es decir, a mayor progesterona menor prolactina y viceversa sin considerarla como patológica ya que, algunas perras pueden presentar durante la gestación fluctuaciones en los niveles de P4, lo que estimula la secreción de prolactina y por lo tanto, la presentación del cuadro clínico de pseudogestación. Con base en esto, el tratamiento que se le debe dar a este fenómeno es la administración de sustancias agonistas de la dopamina debido a que son inhibidoras de la prolactina. En este grupo se encuentran la bromocriptina y el hidroxigenmaleato de lisurida.

C) El embrión canino, no produce ninguna señal química que sirva como mensaje para evitar la destrucción del cuerpo lúteo. En especie como el rumiante, esta señal esta dada a través de la síntesis de proteínas trofoblasticas, en la mujer el embrión produce hormona coriónica (HCG) y en la cerda y la yegua, sus embriones producen estrógenos. En la gata y en la yegua al parecer, hay producción de proteínas trofoblasticas sin estar totalmente aclarado este mecanismo.

D) La instrucción para la formación de la placenta esta dada por intervención del código genético del embrión y no, por instrucción del útero como sucede en otras especies.

E) El mecanismo de luteólisis por medio de prostaglandina f2a en la perra, al parecer solo se presenta en el momento del parto pero todavía hay dudas entre la comunidad internacional.

IMPLANTACIÓN

Como ya se mencionó anteriormente, los embriones se implantan 17 a 21 días después de la fecundación y ocupan ambos cuernos uterinos

sin importar el ovario del que proceden. El útero presenta sitios de implantación aproximadamente de 1 cm de diámetro caracterizados por ser zonas de inflamación que presentan edema (decidua). Los blastocitos se elongan debido a una hiperplasia del trofoblasto con el propósito de ser inmovilizados dentro del útero para después establecer la conexión con la madre a través de la placenta.

La placenta de la perra desde el punto de vista histológico, se clasifica como endoteliocorial, por su morfología en zonal y con base en la localización del embrión es central, lo que significa que entre la sangre materna y fetal, hay 4 capas celulares. Es también considerada dentro del grupo de las placentas de tipo invasivo ya que el trofoblasto de los embriones, contienen cierta cantidad de sincitiotrofoblasto, el cual, se define como la fusión de células dando origen a una célula multinucleada que tiene una acción enzimática importante, misma, que es utilizada para destruir las capas de células que interfieren para establecer la conexión con la sangre materna.

Otra característica de esta placenta, es que el sincitiotrofoblasto, estimula en el endometrio, el desarrollo de hematomas que contienen sangre materna de la cual, sustancias nutritivas y algunos minerales como el hierro, pasarán al embrión a través del cordón umbilical.

Con base en la clasificación de la placenta, es importante decir que durante el parto, el cachorro puede ser expulsado simultáneamente con sus respectivas membranas o en ocasiones separado de ellas y solo unido a estas por medio del cordón umbilical, lo que significa, que la retención placentaria en los cánidos es poco frecuente e incluso en el parto solo se habla de dos etapas y no de tres como sucede en otras especies.

Existe la duda de que la placenta de la perra produzca P4 como en el caso de la vaca y la oveja de tal forma que se considera que el aporte progestacional es principalmente de origen ovárico.

ENDOCRINOLOGÍA DE LA GESTACIÓN.

La reproducción es controlada por la acción del eje hipotálamo – hipófisis – ovario, relación conocida como componente del control general de la reproducción. De estos órganos, el papel que juega la hipófisis en el mantenimiento del cuerpo lúteo y de la gestación de la perra, no está muy claro, ya que se ha detectado, que la cantidad de hormona luteinizante (LH) durante la parte final del estro, la primera

mitad de la gestación y los 30 primeros días de la etapa de diestro, esta glicoproteína permanece baja y es hasta después del día 30 del diestro o en la primera mitad de la gestación cuando se puede detectar un incremento en su nivel sérico, sin embargo, existe evidencia para decir que tanto la LH y la prolactina (ambas de origen hipofisiario) son necesarias tanto para mantener el cuerpo lúteo del diestro como el de gestación, ya que, si la hipófisis es retirada en cualquier momento del diestro o de la gestación, el cuerpo lúteo se destruye y por lo tanto la gestación se pierde.

Por otro lado, se ha encontrado que la hormona folículo estimulante, se incrementa en la parte final de la segunda mitad de la gestación, evento que ha sido fuertemente relacionado con el incremento en el nivel de estrógenos que aparece ligeramente incrementado (20 pg/ml) con respecto a su nivel basal de 5 a 15 pg/ml en este tiempo. Al parecer esta secreción de estrógenos sirve para promover el desarrollo mamario y quizás ayudar a la relajación del cervix durante el parto. Se ha encontrado evidencia en algunos estudios, sobre variaciones en los niveles de hormonas tiroideas y cortisol, los cuales al parecer dependen del estado en el que esté la perra, por ejemplo, la estimulación con hormona adrenocorticotrópica (ACTH) produce variaciones en el nivel de cortisol dependiendo de la etapa reproductiva como son: el proestro, anestro, diestro y la gestación sin llegar a una explicación completa del porque de estos fenómenos.

DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN.

El diagnóstico de gestación en las especies domésticas, tiene como objetivo principal determinar a la mayor brevedad posible si la hembra quedó o no gestante en su último servicio, ya que al saber si está vacía esta hembra, se podrán tomar las medidas necesarias a fin de que el siguiente ciclo reciba un servicio efectivo, de esta manera se evita el alargar el período de días abiertos que redundaría en una pérdida económica para el productor por tener animales improductivos en su explotación. En la perra sin embargo, la situación difiere en cuanto a que el determinar la no gestación de la hembra, no permitirá proporcionar un servicio inmediato, puesto que en esta especie pueden transcurrir desde 5 hasta 9 meses para que ocurra el siguiente ciclo. La razón de hacer el diagnóstico de gestación en esta especie en particular, obedece a razones de manejo como son el evitar el gasto

extra que significa proporcionar alimentación especial a hembras supuestamente gestantes, asimismo permitirá la optimización en el uso del área de parideros.

Otras ventajas son que en el supuesto caso de un brote infeccioso se podrán aplicar los tratamientos pertinentes, lo que no puede hacerse cuando una perra está gestante ya que la mayoría de los fármacos producen alteraciones teratológicas. Por otro lado el ultrasonido es de gran ayuda para conocer la existencia de problemas prostáticos, detectar muerte embrionaria temprana o para establecer el diagnóstico diferencial entre gestación, piometra, mucometra o hidrometra. También es posible acortar el tiempo que se necesita para conocer la posible fertilidad o infertilidad de los machos para decidir si un macho se sigue utilizando o evitar utilizarlo.

Los métodos utilizados para diagnosticar gestación en la perra son:

a) PALPACION ABDOMINAL: Se puede realizar a partir de los 25 días de gestación pero su principal desventaja es que el operador, requiere de cierta pericia además de que la rigidez del abdomen de algunas perras obesas no permite detectar al o los productos con facilidad y por lo tanto, el palpador puede confundir estructuras fetales con excremento y es difícil identificar el número de cachorros.

b) RADIOGRAFIA: Se puede realizar a partir de los 40 días de gestación que es cuando ocurre la mineralización de las estructuras fetales, aunque se sugiere realizar este estudio en el día 50 para evitar errores de interpretación, esta técnica, tiene la desventaja que el diagnóstico se debe hacer en el último tercio de la gestación ya que de no ser así, puede suceder que los productos no se aprecien en la placa y el propietario desea conocer lo más pronto posible el estado de su animal.

c) ULTRASONIDO: Se puede realizar a partir de los 18 días de gestación teniendo más precisión si se realiza a los 30 días después de la última monta, es una técnica totalmente inofensiva para la perra y para los productos, permite observar la viabilidad fetal e incluso calcular la edad gestacional y detectar aspectos clínicos importantes como lo es el conocer si hubo muerte embrionaria temprana y establecer un diagnóstico diferencial entre gestación, piometra, mucometra e hidrometra.

Esta técnica se basa en detectar 3 signos positivos de gestación:

- a) Presencia de vesícula amniótica
- b) Presencia de latido cardiaco
- c) Presencia de masa embrionaria.

La presencia de la vesícula amniótica, la masa embrionaria y el latido cardiaco se pueden determinar desde el día 18 y 25 respectivamente usando un aparato de 3.5, 5.0 y 7.5 mhz. En el día 25 el diámetro del saco gestacional mide entre 8.2 ± 0.3 mm (7 a 9 mm) y puede alcanzar una longitud de 20.3 ± 1.1 mm.

El tamaño y el rango de crecimiento del saco gestacional no está muy bien definido en la perra a diferencia del humano donde se conoce que el saco crece en un rango de 1 a 1.5 mm por día a partir de los 50 a 60 días de gestación. Con el uso de la ultrasonografía del útero se puede determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la perra por ejemplo, la perra en anestro, presenta un útero que aparece homogéneamente ecogénico a diferencia del proestro, diestro, y posparto, donde aparece con capas muy definidas de acomodo central y son altamente ecogénicas.

Para el cálculo preciso del tiempo de gestación en la perra, algunos autores recomiendan tomar como base el día en el que se presenta el pico LH, lo que en general no es muy posible para el dueño o para el médico veterinario en México, por lo que puede contarse a partir de la última monta.

Existen informes sobre las medidas fetales en perros y gatos. El diámetro del cráneo fetal (DCF) y el diámetro corporal (DC) en fetos felinos también han sido publicados. La morfología fetal se reconoce alrededor del día 23 - 28 postmonta.

Se desarrolló una fórmula fácil de usar para la predicción de la edad gestacional (EG) y los días antes del parto (DAP) en el perro y gato, basado en el trabajo de England, Yeager y Beck.

Para el cálculo de edad gestacional en el perro antes de los 40 días, la fórmula se usa como sigue :

$$EG = DSG \times 6 + 20 \quad EG = LCC \times 3 + 27$$

Donde : lcc: longitud del feto craneo cauda

DSG :Diámetro del saco gestacional

Después de los 40 días:

$$EG = (15 \times DCF) + 20$$

$$EG = (7 \times DC) + 29$$

$$EG = (6 \times DCF) + (3 \times DC) + 30$$

$$DAP = 65 - EG$$

La edad gestacional y los días antes del parto se establecen con una variación de ± 3 días.

En el gato solo se calcula la edad gestacional mayor a 40 días:

$$EG = DCF \times 25 + 3 \quad EG = DC \times 11 + 21$$

$$DAP = 61 - EG$$

La edad gestacional y los días antes del parto se establecen con una variación de ± 2 días.

ALTERACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

· Hipoluteoidismo: El mantenimiento de la gestación en la perra depende en el 100 % de la P4 liberada por el cuerpo lúteo y solo necesita al menos niveles de 2 ng/ml, por lo que el aborto por insuficiencia de P4 es poco probable que ocurra en la perra. Es complicado y hasta la fecha no ha sido totalmente explicado el porqué de la destrucción prematura del cuerpo lúteo sin embargo, cuando un aborto se presenta y no ha sido identificada alguna otra causa, se debe pensar en hipoluteoidismo. Obviamente la medición de los niveles de P4 tiene que llevarse a cabo para comprobar el diagnóstico. Algunas causas que se han encontrado como responsables del hipoluteoidismo son: Infecciones fetales, placentitis y administración exógena de glucocorticoides así como el hipotiroidismo.

· Brucelosis: Generalmente el signo clínico asociado a este problema es el aborto el cual, ocurre en el último tercio de la gestación. En ocasiones puede haber pérdida embrionaria si la muerte del producto ocurre antes de los 30 días de gestación y una tercera opción es el nacimiento de cachorros infectados que mueren al poco tiempo después del nacimiento. La presencia de una secreción vulvar de color verdoso obliga al médico a enfocar su diagnóstico hacia Brucella. El diagnóstico puede hacerse a través del cultivo de esta secreción, de placentas o de sangre, así mismo, pruebas de aglutinación pueden ser utilizadas (2 – mercapto –etano) sin embargo, la cantidad de falsos positivos en esta prueba es muy grande por lo tanto, si el resultado es positivo, se recomienda repetir el estudio 20 días después del estudio para confirmarlo. El riesgo de zoonosis debe tenerse en cuenta y la perra debe ser aislada del resto de los animales con quienes conviva. Esta entidad no pone en riesgo la vida de la perra al menos que haya

una momificación fetal que no pudo ser expulsada, por lo tanto, existe el riesgo de ruptura o torsión uterina.

- Herpes: Este problema comúnmente se presenta en criaderos. La muerte espontánea de neonatos sugiere la aparición de este virus. En la perra esta infección por lo general es de tipo subclínico aunque puede producir descargas mucopurulentas por ojos o nariz y lesiones vesiculares en vagina, en cachorros, produce la muerte porque provoca hemorragias y necrosis generalizadas. Se adquiere de forma venérea, trasplacentaria, por contacto del cachorro durante su paso por el canal del parto y por vías respiratorias. El diagnóstico se realiza ya sea por el aislamiento del virus lo cual en ocasiones no está disponible en los laboratorios por lo que otra opción es la realización de pruebas de suero – neutralización. No se ha informado del uso de fármacos para controlarlo por lo que solo se recomienda tener cuidado en el manejo sobre todo cuando se tienen varios perros, de tal forma que solo se puede prevenir (hacer pruebas periódicas). Se puede intentar el uso de antiherpéticos aplicados en el humano sin embargo, no hay información disponible al respecto.

- Toxoplasmosis: Esta es una causa poco común de aborto en la perra, solamente que la infección se adquiriera por la ingestión de materia fecal de gato contaminada con oocistos de *Toxoplasma gondii* o por el consumo de carne contaminada. El diagnóstico se basa a través de la identificación de anticuerpos en el suero de la perra sospechosa (IgG y IgM).

- Neosporosis: Este problema es causado por un protozoario llamado *Neosporum caninum* que es parecido al anterior. Produce aborto en el ganado bovino por lo que su papel para producir aborto en el perro es desconocido pero se piensa que se puede adquirir cuando la perra vive en un rancho y consume fetos o placentas abortadas.

- Micoplasmosis y ureaplasmosis: Estos microorganismos han sido considerados como habitantes normales en la vagina de la perra sin embargo, se les ha relacionado con problemas de vaginitis, infertilidad, muerte embrionaria temprana, aborto y mortalidad neonatal. Generalmente en los criaderos aumenta la concentración de estos organismos lo que facilita la contaminación. Su diagnóstico es relativamente sencillo ya que se puede hacer a través del cultivo vaginal, sin embargo, es necesario avisar al laboratorio que se está buscando a estos agentes ya que la técnica para su cultivo es diferente

a la utilizada para un cultivo rutinario de vagina. El tratamiento indicado es con cloranfenicol o tetraciclinas por 10 a 15 días. Estos antibióticos no deben darse en neonatos ni en perras lactantes y para el tratamiento de la perra gestante, se puede administrar eritromicina pero puede producir problemas gastrointestinales. Se recomienda pedir antibiograma además del cultivo para determinar que otras opciones pueden administrarse.

- Diabetes de la gestación: Es un problema común en la perra gestante o en la perra vacía durante la etapa del diestro que como se sabe, no hay diferencia significativa en las concentraciones de P4 de ambas. Se debe a elevaciones en los niveles de P4 la cual, es un potente antagonista de la insulina, lo que provoca que la perra aumente su resistencia a dicha hormona y no pueda utilizar a la glucosa. Es muy importante el seguimiento de la gestación, lo que implica que el propietario lleve a la perra en varias ocasiones con el médico veterinario para la revisión tanto de los productos como de la madre sin embargo, esta cultura no es común en países como México por lo que es necesario educar al cliente. La hiperglicemia puede producir aborto y produce un ambiente (excedido en glucosa) en el que el feto tiende a crecer más que lo normal siendo un riesgo al momento del parto (distocia), así mismo, el páncreas del producto, trabaja constantemente (produciendo insulina) debido a la estimulación de la glucosa presente en la madre. Cuando el cachorro nace, este mecanismo se mantiene y puede producirle la muerte por hipoglicemia. Tratamientos con dosis de insulina deberán ser considerados cuando la perra presente este problema.

- Acromegalia del diestro: Al igual que la diabetes, este problema también es provocada por la P4, la cual estimula la producción de somatotropina (hormona del crecimiento) ocasionando un crecimiento del tejido de la región orolingual, orofaríngea y oronasal dando como resultado la aparición de problemas respiratorios. Por otro lado, las perras afectadas presentan crecimiento del abdomen, polidipsia, poliuria (ambos procesos están asociados con diabetes), incrementos en los espacios interdentes y excesivos pliegues de la piel en la cara y cuello. Para su tratamiento se recomienda la aplicación de fármacos que reduzcan los niveles de P4 por ejemplo, bromocriptina, 0.1 mg/kg/24 hrs/8 días/vía oral o PGF2a, 0.50 mg/kg/24 a 48 hrs/SC/5 a 7 días. Si este protocolo no da resultado, la ovariohisterectomía está

indicada. Hallazgos de laboratorio, pueden incluir, incrementos en los niveles de fosfatasa alcalina e hiperglicemia.

LITERATURA RECOMENDADA

1. Barr, F.J.: The use of ultrasound in the dog. *Vet. An.*, 136-145 (1988).
2. Concannon, P.W.: Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J. Reprod. Fert.*, 47: 3-27, (1993).
3. Feldman, E.C. and Nelson, R.W. : *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia, WB Saunders, 399-480. 1987.
4. Niswender, G. D. and Nett, T. M.: The corpus luteum and its control. In *The Physiology of Reproduction*, Vol. 1, pp. 489-525. Eds. E. Knobil and J. D. Neill. Raven Press, New York. (1988).
5. Olson, P. N., Bowen, R. A. Sawyer, H. R. and Niswender, G. D.: Endocrine regulation of the corpus luteum of the bitch as a potential target for altering fertility. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 39: 27-40. (1989).
6. Reimers, T., Phemister, R. and Niswender, G.: Radioimmunological measurement of follicle stimulating hormone and prolactin in the dog. *Biol. Reprod.* 19: 673-679 (1978).
7. Rowlands, I.W. Some observations in the breeding of dogs. *Proc. Soc. Story Fertil.* 2: 40-50 (1950).
8. Shille, V.M and Gontarek, J.: The use of ultrasonography for pregnancy diagnosis in the bitch. *JAVMA.*, 187: (10) (1985).
9. Shille, V.M. and Stabenfeldt, G. H.: Current concepts on reproduction of the dog and cat. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 24: 211-243 (1980).
10. Tsutsui, T.: Gamete physiology and timing of ovulation and Fertilization in dogs. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 39: 269-275. (1989).
11. Yeager, A.E. and Concannon, P.W.: Association between the preovulatory luteinizing hormone surge and the early