

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA



BIBLIOTECA VETERINARIA
U. N. A. M.

ESTUDIO DEL MATERIAL ESPERMATICO DE
GUAJOLOTES REPRODUCTORES PARA SU -
USO EN LA INSEMINACION ARTIFICIAL.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

ALEJANDRO MANUEL DIAZ GUZMAN

MEXICO, D. F.

1969



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

col

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA



BIBLIOTECA CENTRAL
U. N. A. M.

ESTUDIO DEL MATERIAL ESPERMATICO DE
GUAJOLOTES REPRODUCTORES PARA SU
USO EN LA INSEMINACION ARTIFICIAL

ALEJANDRO MANUEL DIAZ GUZMAN

MEXICO, D. F.

1969

A MIS PADRES:

SR. LIC. MANUEL DIAZ C.

SRA. MA. GPE. G. DE DIAZ

UNA MINIMA RECOMPENSA A SUS

MAXIMOS SACRIFICIOS Y ESFUERZOS.

A MÍ HERMANO:

EDUARDO ENRIQUE.

ANA CECILIA
PARA TI CON CARINO,
QUE ME DISTE FE Y
ANIMOS.

CON GRATITUD:

A MI ESCUELA Y MAESTROS.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Quiero hacer patente mi agradecimiento,
por la valiosa ayuda que me prestaron,
para la elaboración de este trabajo:

A mi Director de Tesis:

M.V.Z. José Oteiza Fernández
Director General de Avicultura.

A mi Asesor de Campo:

M.V.Z. Genaro Humberto Angulo C.
Director del Centro Nal. Avícola
de Toluca, Edo. de México.
Criadero Nacional de Guajolotes.

Al M.V.Z. Ricardo Moreno Chan
Jefe del Laboratorio de Micro
biología Experimental.

Al M.V.Z. Carlos Gutiérrez Martínez
Técnico del Laboratorio de
Microbiología Experimental

A todas aquellas personas que me
brindaron su ayuda moral y material.

G r a c i a s.

C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION
- II.- MATERIAL
- III.- METODO
- IV.- RESULTADOS
- V.- DISCUSION
- VI.- CONCLUSION
- VII.- SUGESTIONES
- VIII.- BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

Desde épocas muy remotas, las aves han sido un elemento muy importante en la dieta del hombre, quizá estas hayan sido - las más abundantes y las primeras piezas de caza o captura, cobradas en las épocas más primitivas.

En la época actual, podemos observar que los países que han logrado un mayor desarrollo económico, también tienen una - avicultura próspera y en escala importante.

La explotación industrial del guajolote ha adquirido enorme importancia orientada hacia la producción de carne de calidad. Sin embargo, uno de los problemas principales de la meleagricultura, que ocasiona las mayores pérdidas económicas en esta rama avícola, son la infertilidad y las variaciones de las - posturas de las hembras; infertilidad por parte del macho, relacionada con dificultades mecánicas para la cópula y la elección de un número determinado de hembras, a las cuales fecunda permanentemente; y un número ilimitado por las cuales no siente atracción, por lo que no quedan fecundadas; en estas condiciones la inseminación artificial proporciona el mayor porcentaje de fertilidad.

Trataremos de determinar, desde luego no en forma tácita y contundente, la capacidad de fecundación de las células seminales, porque surgirán muchas dificultades al relacionar de una manera categórica, los hallazgos en el esperma con los resultados obtenidos en la fecundación.

M A T E R I A L

Guajolotes gigantes bronceados:

Hembras adultas - - - - - 6

Machos adultos - - - - - 3

Guajolotes gigantes blancos:

Hembras adultas - - - - - 6

Machos adultos - - - - - 3

Alojamiento:

En el Criadero Nacional de Guajolotes, ubicado en Toluca, Edo. de México, dependiente de la Dirección General de Avicultura de La Secretaría de Agricultura y Ganadería.

Tres locales con las siguientes dimensiones:

3 m. de ancho por 4 m. de largo y 2.70 m. de alto.

Implementos:

Cama de paja de 7.5 cm. de espesor.

Bebedero de lámina galvanizada, con compartimientos de rejilla, de 1.5 m. de largo por 10 cm. de ancho y 45 cm. de alto.

En la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia: Departamento de Microbiología Experimental:

Dos jaulas de madera de 1.80 m. de largo por 1.20 m. de ancho y 1.26 m. de altura; con piso de malla de alambre a 25 cm. del suelo. Techo a dos aguas de lámina galvanizada y en el piso, dos charolas para recolección de heces, de 83 cm. de ancho por -

1.18 de largo.

El bebedero que se utiliza en estas jaulas es igual que el anterior.

El comedero fué de lámina galvanizada, con tolva y plato automático con capacidad para 6 Kg.

Material de Laboratorio.

Cristalería:

Recolectores.

Cubreobjetos.

Portaobjetos.

Caja de Petri.

Pipetas

Matraces.

Tubos de centrífuga

Material Especial:

Microscopio

Esterilizador

Cámara cuenta-glóbulos.

Platina caliente

Embudos de Nylon

Substancias:

Solución salina Fisiologica 0.85%	Bicarbonato de sodio.
Azul de Metileno	Formol 10%
Eosina-Nigrosina	Agua destilada

Tinta china

Formalina 5%

Alcohol metílico

Solución Ringer

Triptosa agar

M E T O D O



Selección de Reproductores:

VETERINARIA

Para desarrollar variedades y linajes de razas, se necesita hacer una selección muy cuidadosa de los caracteres más -- convenientes para su utilización comercial, en esta selección -- se consideran únicamente las aves que reúnen los siguientes requisitos:

- a) Precocidad.
- b) Buen emplume.
- c) Pechuga larga y recta, libre de deformaciones y callosidades.
- d) Cuerpo bien equilibrado.
- e) Buena conformación general.
- f) Cabeza bien formada, según el sexo y la raza.
- g) Peso apropiado a la edad y raza.
- h) Ausencia de defectos morfológicos, tales como deformaciones de la quilla o del pico, patas o dedos torcidos o débiles, -- alas en posición anormal, color impropio de la raza.
- i) Edad: 12 meses.

Se seleccionaron tres machos de la raza gigante blanca y tres de la gigante bronceada, así como igual número de hembras de las mismas razas, que reunían las características exigidas--- por el análisis anterior, formándose los siguientes lotes:

Lote Núm. 1: hembras gigantes bronceadas.

Lote Núm. 2: hembras gigantes blancas.

Lote Núm. 3: machos: blancos y bronceados.

Alojamiento e Higiene.

En Toluca, Edo. de México, las aves se instalaron en tres locales, en uno los seis machos (tres blancos y tres bronceados) con el fin de que no tuvieran contacto de ninguna especie con -- las hembras; a diez metros de distancia se instalaron en dos locales diferentes, las hembras divididas en blancas y bronceadas. Este confinamiento duró tres meses. Los locales tenían las siguientes características: tres metros de ancho por cuatro de largo y dos sesenta de alto; la ventilación se realizaba por medio de ventanas colocadas en la parte superior. El piso fué cubierto con una cama de paja; en el centro fué colocado un bebedero automático de 20 litros, de lámina galvanizada, y a 75cm., un comedero de 1.50m. de largo por 10cm. de ancho y 45 cm. de alto, con rejillas de compartimento. Las aves tenían suficiente amplitud para moverse.

Después fueron llevadas a la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en donde estuvieron confinadas también por separado en jaulas de suficiente amplitud, donde los machos tenían visibilidad perfecta de hembras e incluso de los machos-- (15). Estas jaulas tenían las siguientes características: 1.80m. de largo por 1.20m. de ancho y 1.26m. de altura, techo a dos aguas de lámina galvanizada, piso de malla de alambre (10) a 25-- cm. de altura del suelo, con dos charolas de lámina galvanizada,

de 83 cm. de ancho por 1.18 m. de largo.

Se le colocó un bebedero automático de lámina galvanizada de 20 litros de capacidad y un comedero automático de aluminio con capacidad de seis kilos.

Diariamente se realizaba el aseo completo de los locales (1): el equipo se aseaba todos los días, sobre todo los bebederos con jabón y escobeta. El cambio de agua se hacía dos veces al día para que los animales dispusieran de agua fresca para beber. Los comederos se revisaban en la mañana para mantenerlos con buen alimento.

La preparación de los animales, aunque es sencilla es imprescindible. La región ano-isquial se desplumaba cada semana y cuando la cloaca estaba sucia de heces la limpieza se realizaba con el dedo enguantado (20), para extraer el excremento de la ampolla rectal antes de la recolección, para evitar contaminaciones del eyaculado.

Aclimatación.

Se refiere a la influencia que los cambios de ambiente, temperatura, luminosidad, etc., determinan sobre los progenitores, de tal modo que, cuando estos cambios bruscos tienen lugar, la función sexual sufre los efectos de la correspondiente adaptación.

Para continuar la investigación, se trasladaron los guajolotes de Toluca, Edo. de México a la Escuela Nacional de Medicina

na Veterinaria y Zootecnia en el D.F., procurándose que fuera-- en un día y hora favorable. El traslado se realizó entre las 9- y las 10 de la mañana, sin ninguna novedad. Una vez llegados -- los guajolotes a la Escuela, se instalaron en sus respectivas - jaulas, observándolos 48 horas para comprobar el estado de acli-matación y una vez seguros de que las aves se reponían normal-- mente, se procedió a continuar el estudio.

Régimen Sexual.

El guajolote en régimen de recolección espermática para- su uso en la inseminación artificial, requiere una regulación - perfecta, ya que en caso contrario, con frecuencia puede llegar se al agotamiento sexual. (14)

Los machos estuvieron confinados y sin contacto con las- hembras durante tres meses, con la finalidad de aumentarles el- apetito sexual. Pasados los tres meses al sacarles a pasear, in- dividualmente, se les presentaba una hembra, con el objeto de - que se acostumbraran a la presencia del operador al realizar la cópula, la cual era interceptada con un colector. Esto se prac- ticó durante un mes y medio, llegándose a obtener hasta tres eya- culados por día, dejándose a los animales en reposo durante tres días para su recuperación.

Ejercicios y Gimnástica.

En términos generales, se admite que los progenitores, pa

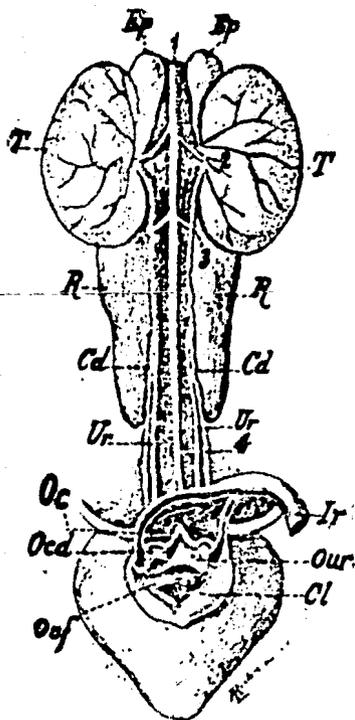
ra llevar a cabo con normalidad la función procreativa es preciso estén sometidos a un régimen de ejercicios adecuados. La vida sedentaria (15), que es en realidad la que significa la explotación industrial de las especies domésticas, no es nada recomendable para la función sexual. Nosotros sacábamos cada lote por separado a pasear tres veces por semana durante treinta minutos entre las 9 y las 11 horas, que es el tiempo y las horas del día adecuados.

Alimentación.

En los guajolotes sometidos a régimen de recolección semanal, con destino a la inseminación artificial, es preciso suministrar alimentación concentrada y seca, a fin de evitar diarreas y excrementados fluidos, regulando el consumo de agua. El alimento proporcionado por nosotros es de una casa comercial que con previo análisis bromatológico, se comprobó que reunía los requerimientos necesarios para nuestra finalidad.

Para efectuar el estudio completo del espermatozoide, es necesario describir las características anatómicas y fisiológicas de los órganos genitales del macho.

El aparato reproductor consiste en: un par de testículos con sendos epidídimos, dos vasos deferentes o conductos espermáticos y el aparato copulador que es muy distinto al de los mamíferos. El macho carece de órganos que correspondan a: la próstata, las glándulas de Cowper y las glándulas vesiculares, que son



Características Anatómicas de los Organos Genitales del Guajolote.

T) Testículo; Ep) Epidídimo; R) Rifones; Cd) Conductos deferentes;
 Ur) Ureteres; Ocd) orificio del conducto deferente; Our) Orificio
 del uréter; Ouf) orificio de la bolsa de Fabricio; Cl) Cloaca; -
 Ir) Intestino recto; Oc) Organó copulador; I) Porta abdominal; -
 2) Arteria genital externa; 3) Arteria renal; 4) Arteria cocci-
 gia.

glándulas accesorias de mamíferos machos (2), pero el semen de ave que sale de los vasos deferentes está diluido en un líquido procedente de los cuerpos vasculares situados cerca del extremo posterior de los vasos deferentes. Las aves también difieren de los mamíferos en que los testículos permanecen dentro de la cavidad del cuerpo, sin que jamás desciendan a un escroto externo (8).

Parece ser que la refrigeración de los testículos se --- lleva a cabo por una corriente de aire que circula a través de los sacos aéreos.

Los testículos tienen forma ovoide, y están suspendidos a uno y otro lado de la columna vertebral, justo debajo del extremo anterior de los riñones (24). Los testículos de los ma--- chos adultos, están parcialmente rodeados por las delgadas membranas de los sacos aéreos torácicos posteriores. Por lo general, los testículos son de color blanco cremoso, aunque en algunos casos pueden ser parcial o totalmente negros (25). En las razas de carne, el testículo del ave adulta sexualmente activa, en promedio de 15 a 20 grs. y en las razas ponedoras su peso queda entre 10 y 15 grs.

El aparato copulador del pavo consiste en dos papílas y el órgano copulador rudimentario. Estas papílas, cada una de -- las cuales tiene un orificio por cuyo conducto se eyaculan los espermatozoides, son las terminaciones posteriores de los vasos -

deferentes, y se encuentran situadas en el piso ventral de la cloaca. En posición ligeramente posterior a las papilas, se encuentra el órgano copulador rudimentario (9).

El órgano copulador (23), está recubierto por finos epitelios y estructuralmente por núcleos esponjosos. Con motivo de la excitación sexual, aquel adquiere cierta turgencia a expensas del flujo sanguíneo.

Métodos de Recolección del Esperma en las Aves.

Cuando se procede, en cualquier caso, a la recolección -- del esperma, cualquiera que sea el método--incluido el masaje-- pero sobre todo aquél por el que el macho es inducido a realizar la cópula en las manos del hombre, es necesario cierto periodo de adiestramiento de los machos y en especial de aquellos en que deba vencerse un natural recelo. El operador debe ser, por tanto, paciente, habituando a sus aves a tener confianza en él; elegirá así mismo el local más adecuado y más tranquilo. Tienen mucha importancia: la hora en que se realizará la recolección, prefiriéndose en general la mañana; la separación de los machos y hembras; la observación y el conveniente aprovechamiento de las características individuales de los machos aislados, etc.

Los diversos autores han recurrido a variados sistemas-- para la obtención de la masa espermática. Entre los más notables (3), describiremos los siguientes:

- a) Método italiano de la capsulita.
- b) Método ruso de Tinjakov (1934).
- c) Método japonés de Isikava (1930)
- d) Método eléctrico o de electroeyaculación.
- e) Método norteamericano de Burrows y Quinn (1935-1938).

Método Italiano de la Capsulita. Amantea, de 1922 a 1925, realizó una serie interesante de investigaciones sobre la secreción espermática del gallo y del palomo. Para obtener el esperma del gallo se valió de una cápsula bien limpia colocada en el orificio cloacal del macho elegido, convenientemente preparado antes, mediante la excitación sexual provocada por su permanencia con algunas gallinas, y llevando después a un local separado. Amantea empleaba una cápsula de vidrio de 4-5 cms. de diámetro y obtenía buenos resultados operando de esta forma.

Método Ruso de Tinjakov. Como espermocaptor, Tinjakov empleó un preservativo común, fijado oportunamente a la cloaca del gallo antes del coito. El preservativo se despliega hasta la mitad, de tal manera que la parte no desplegada no quede vuelta hacia el interior. Antes de su uso se lava con agua y después con alcohol, dejándolo secar; el borde de la parte no desplegada se embadurna con cola (químicamente pura) dejándola secar y se fija al exterior de la abertura cloacal.

El macho deberá dejarse en libertad para cubrir a la hembra que se ponga a su disposición. Como el gallo puede cubrir de

3 a 4 veces sucesivas a la misma hembra, la cantidad de esperma que se recoge es a veces de importancia.

Método de Isikava.-Isikava (1930) aplicó su espermacaptor a la cloaca femenina, en vez de a la masculina.

El aparato, consta de una placa de goma suave y ligera fijada en un rectángulo de alambre de hierro muy fino, doblado en sus cuatro ángulos a fin de pasar las ligaduras necesarias para fijar el aparato a la hembra. Una segunda plaquita de goma se solda a la primera sólo por su margen superior, mientras que el interior está replegado de forma que constituya una especie de bolsa, dentro de la cual afluya el esperma.

Método de la Electroeyaculación.- La electroeyaculación en las aves fué propuesta y experimentada por los rusos S. Serobrowski y I.I. Sokoloskaja (1930). El principio sobre el cual se basa es el de obtener, mediante una serie de estímulos eléctricos, la excitación de los centros nerviosos de la eyaculación, situados, unos en la médula raquídea, en correspondencia con la tercera vértebra lumbar, y los otros en el mesencéfalo.

Los dos autores aplicaron una corriente continua de 30-- voltios de potencia. El gallo se inmoviliza mediante ligaduras en una mesa de experimentación de fisiología y en la zona de la tercera vértebra lumbar se le arrancan las plumas y se aplica a ella el electrodo positivo, el cual consiste en una placa metálica recubierta de gasa embebida en solución fisiológica. El --



electrodo negativo y el reóstato están constituidos por una cápsula que contiene agua destilada y acidulada en la cual se sumerge el pico del animal, provocando así el cierre y la abertura del circuito. Al principio se hace pasar la corriente eléctrica durante uno o dos segundos, con algunos intervalos breves. Los autores afirman que, a veces, la eyaculación puede sobrevenir en estas condiciones; cuando ello no sucede, se intensificará la corriente hasta 50 voltios y su aplicación se prolongará a 3-4 segundos, con intervalos de 1-2 segundos.

Método del Masaje o Método Norteamericano. (Milking System).

El método fué estudiado por Burrows y Quinn, del National Agricultural Research Center, de Beltsville, en Maryland. Lo describieron por primera vez en 1935 y después lo modificaron parcialmente, con resultados muy interesantes en el orden de su aplicación.

Con su método primitivo, Burrows y Quinn obtuvieron la eyaculación, excitando al macho, practicando el masaje de la porción blanda del abdomen o ventral inmediatamente por debajo de la pelvis y recogiendo el esperma emitido en un recipiente dispuesto en la desembocadura de la cloaca. Dado que el esperma obtenido de esta forma estaba siempre contaminado de heces, al ser estimulada también la defecación, intentaron otros procedimientos.

El método primitivo ha sido perfeccionado por observarse

que, oprimiendo y exprimiendo (de aquí el nombre de "milking - system" de los autores norteamericanos), con el pulgar y el índice de la mano izquierda, la base del órgano copulador en el momento de su prociencia al exterior, se facilita la eyaculación. De esta manera los bulbos, inmediatamente después del masaje, vuelven a estar llenos de esperma y es posible realizar diversas expresiones por lo general de 2-7 según el animal.

Estudio del Material Espermático del Guajolote.

La fertilidad del macho se encuentra ligada intrínsecamente a la calidad del líquido espermático. La composición de éste último es extremadamente variada, no solo entre las diferentes especies, sino también entre los individuos de una misma especie, e incluso varía en el mismo individuo, según el momento fisiológico. Esto no nos debe extrañar ya que la actividad espermatogénica y la función secretora de las glándulas accesorias se encuentran bajo la influencia de numerosos factores externos e internos.

De esto se deduce que la valoración precisa de la calidad del esperma necesite varios exámenes. La valoración probable del poder fecundante comprende diversas pruebas de valor desigual de las que sólo su concordancia permite sacar conclusiones valederas.

En efecto, a pesar de la riqueza de las informaciones actualmente reconocidas, no existe ni una sola característica se-

mineral conocida que por sí sola, pueda servir para apreciar la fecundidad del macho. Los métodos histológicos y fisicoquímicos del examen del esperma no tienen más que un valor relativo; sin embargo son útiles y tiene la suficiente precisión para la investigación práctica y corriente de un progenitor.

Entre los métodos empleados, es necesario mencionar:

- a) El estudio macroscópico.
- b) El examen microscópico del esperma fresco.
- c) Morfología espermática.
- d) Concentración. Recuento de espermatozoides.
- e) Vitalidad o supervivencia.
- f) Examen bacteriológico del esperma.

Estudio Macroscópico.

Comprende valoraciones objetivas, fácilmente realizables que sin embargo, debe tenerse muy en cuenta.

Volúmen.- Es una apreciación que debe realizarse inmediatamente después de la recogida y ha de referirse a una sola eyaculación evitando la mezcla en el colector de más de una eyaculación o residuos de la eyaculación anterior. La apreciación del volúmen se hará en colectores graduados o inmediatamente después de --- trasvasado el eyaculado en un tubo de centrífuga.

En el guajolote existen variaciones de volúmen relacionadas con varias circunstancias, entre las que figuran: la raza, edad, momento de recolección, número de recolecciones, medios -

de recolección (11), factores higiénicos, régimen alimenticio y grado de excitación sexual en que se encontraba el semental antes de la recogida.

Los volúmenes de eyaculados obtenidos por nosotros fueron variables, estando comprendidos entre 0.2 a 0.8 ml. Como promedio 0.4 ml.

Aspecto.- Se refiere a la impresión general que objetivamente produce la masa total del eyaculado en el colector de vidrio. - El análisis en cuestión permite descubrir contaminaciones groseras con partículas exógenas (plumas, material de descamación, etc.) Por otra parte, el aspecto del eyaculado permite dar una idea aproximada del grado de la concentración de espermatozoides. Consistencia. El color del eyaculado constituye un dato importante en la valoración macroscópica del esperma (13) Los espermias de escasa concentración son claros, de aspecto acuoso, ligeramente amarillentos, el color del semen puede ser modificado por la presencia de elementos anormales.

a) El color amarillo, puede ser debido a la alimentación, a la presencia de pus, de orina o de excremento. En éstos últimos casos su poder fecundante puede estar muy comprometido y a menudo completamente abolido.

b) La colocación sonrosada o rojiza indican la presencia de sangre fresca .

c) La coloración parduzca testifica la presencia de elementos -

sanguíneos degenerados.

- d) La coloración azulada puede ser debida a una escasa concentración.

Estudio Microscópico del Esperma Fresco.

Para ello puede utilizarse el microscopio corriente a base de condensador paraboloides y suficiente capacidad de diafragma, puesto que hay que tener en cuenta que la observación en fresco requiere concentrar la luz y evitar la refracción, difracción, etc. para centrar con la luminosidad adecuada la imagen real de la célula espermática. Desde el punto de vista práctico, en la observación en fresco del esperma resulta muy interesante trabajar con microscopio en contraste de fases, de forma que la corrección óptica conseguida en estos casos es muy superior, permitiéndose apreciar detalles estructurales en los espermatozoides.

El examen en fresco del esperma comprende los siguientes aspectos: a) Preparación del material con objeto de análisis microscópico. b) Termoregulación del propio material para evitar el choque térmico. c). Técnicas para llevar a cabo la señalada observación.

- a) Preparación del material objeto de análisis microscópico.- - Cuando se trata de esperma muy concentrado es necesario dividirlo a fin de evitar exceso de contenido citospermico y dificultar

tad, por tanto en la apreciación individual. Para ello pueden emplearse las soluciones de Ringer, Tyrode, siendo muy recomendable la solución salina fisiológica al 0.85%.

El título de la dilución puede ser de 1: 1-1: 5;

b) Termoregulación del propio material para evitar el choque térmico.- El examen de preparaciones en fresco del eyaculado, resulta absolutamente imprescindible tener en cuenta el acondicionamiento térmico del material no solo para evitar el choque térmico y muerte de cierto número de espermatozoides a consecuencia de cambios bruscos de temperatura, sino también para apreciar la normal manifestación cinética, ya que las bajas temperaturas determinan hipocinésis, mientras que las altas se portan como estimulantes o hipercinéticas. De este modo la temperatura controlada constituye una aportación interesantísima a este respecto, para trabajar con productos biológicos.

c) Técnicas para llevar a cabo la observación o contraste del material espermático en fresco. La tinción de los espermatozoides y la observación mediante preparaciones fijas y específicamente teñidas, constituye una parte fundamental en el contraste microscópico del esperma, y nos permite sacar conclusiones precisas respecto a la morfología espermática, estructura, grado de madurez de los espermatozoides.

La observación del esperma a través de preparaciones fijas y teñidas, comprende los siguientes puntos: a) Preparación-

de los frotis. b) Fijación de los mismos. c) Tinción.

a) Frotis. Los frotis de material seminal deben realizarse con la máxima corrección, teniendo en cuenta que trabajamos con células vivas y móviles situadas en un medio líquido, pues es posible que en la preparación del frotis, se puedan alterar las condiciones morfológicas del esperma.

Para realizar el frotis depositamos una gota de esperma en el extremo de un porta-objetos y se extiende en una capa muy delgada, por estiramiento con ayuda de otro porta-objetos inclinado según un ángulo de 45°. Las extensiones deben ser finas y hechas con rapidez, de manera que el porta-objetos quede así -- mismo, poblado por una fina película de esperma que rápidamente se seca y le da un aspecto opalescente.

b) Fijación.- La fijación es sinónima a coagulación y adherencia del material a teñir al porta-objetos con la finalidad, en unos casos, de que el material resiste, sin desprenderse, las operaciones de tinción, y en otros, la posibilidad de que se conserve a través del tiempo.

En términos generales, la fijación propiamente dicha del esperma, comprende las siguientes modalidades:

- 1.- Fijación a la llama.
- 2.- Fijación alcohólica.
- 3.- Fijación en formalina.

1.- Fijación a la llama.- Consiste en disponer un mechero de --

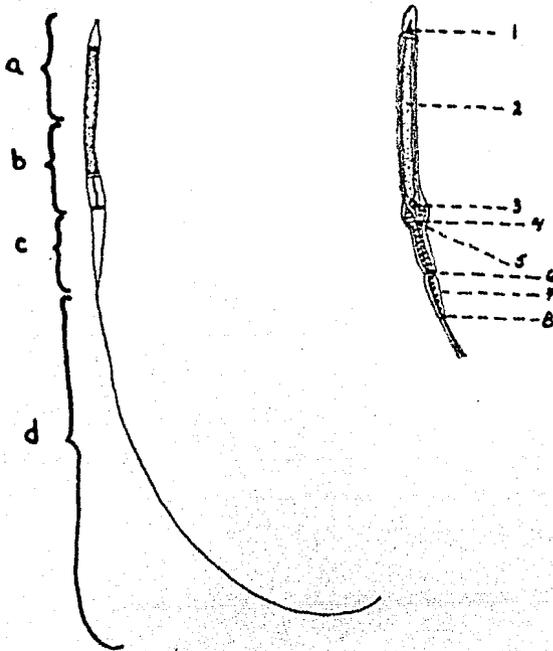
Bunsen y hacer pasar por la llama (3-4 veces) a la preparación, teniendo en cuenta evitar el calentamiento excesivo, para lo cual se controla cada pasada colocando el reverso de la preparación sobre la mano, de modo que el calor apreciado, sólo sea moderado.

2.- Fijación alcohólica.- Para ello puede emplearse el alcohol etílico y, en este caso, es preferible el absoluto sobre el de 95°. En general, 10-20 minutos resulta un tiempo suficiente para la fijación con las preparaciones con el alcohol etílico.

3.- Fijaciones en formalina.- Para ello se emplea la formalina en una solución al 5% debiendo mantener el efecto de la misma durante tres minutos.

c) Tinción .- El método de Burri, de ejecución sencilla, resulta muy interesante para apreciar la estructura del conjunto espermático, así como el capuchón cefálico y gota protoplasmática, etc. La técnica consiste en situar una gota de esperma puro o diluido sobre un porta-objetos añadiendo un volumen igual o alguno superior de tinta china. Se mezcla suavemente con una pipeta de Pasteur y, a continuación, se hace la extensión siguiendo las normas generales para ello. Se saca al aire y se observa.

Tinción postvital.- Tiene como finalidad determinar el tanto por ciento de espermatozoides vivos y muertos. Se basa en el empleo de la eosina y sus derivados que tñen únicamente espermatozoides muertos, y de una coloración de fondo, destinada a de-



Representación Esquemática del Espermatozoide del Guajolote.

1) Acrosoma; 2) Cromosomas; 3) Centrosoma; 4) Filamentos articulares; 5) Filamento axial; 6) Segmento espiral; 7) Membrana cortical; 8) Centriolo distal; a) porción apical del capuchón cefálico; b) Porción basal del capuchón cefálico; c) Pieza intermedia; d) Cola o filamento.

limitar el contorno celular. La solución colorante (6) está com puesta de:

- 1) Solución acuosa al 5% de eosina azulada de Grubler.
- 2) Solución acuosa al 10% de nigrosina.

Los resultados se expresan de la siguiente manera:

- a) Los espermatozoides vivos permanecen incoloros o se tifen excepcionalmente de rosa en la parte anterior de la cabeza.
- b) Los espermatozoides muertos toman intensamente el colorante-- y aparecen de color rojo rosado o rojo.
- c) Los moribundos se tifen de rosa o rosa rojizo.

Morfología Espermiática.

La morfología de los espermatozoides del guajolete y de las aves en general, es completamente distinta a la de los zoospermos de animales mamíferos (19). Se trata de formas alargadas-- provistas de cabeza ligeramente retorcida y una gran cola; la cabeza ofrece una particularidad notable y es el enorme desarrollo del acrosoma o perforatium, que tiene forma de punta de flecha -- con una longitud de 1.4-2.1 micras; esta formación cefálica está a su vez, integrada y recubierta por el capuchón o cobertura protoplasmiática que actúa a manera de núcleo duro o raquis del zoospermo. El resto de la cabeza tiene unas 15 micras de longitud -- por 1.5 de ancho, ocupando a continuación, la pieza intermedia, -- una longitud de 4 micras por 0.6 de anchura (12).

La cola del espermatozoide en esta especie animal, ofrece una longitud de 60 micras que puede variar notablemente.

La pieza intermedia puede apreciarse perfectamente y en ella el centriolo proximal (en su limite anterior) y el distal (en el posterior), mientras que entre ambos queda el filamento axial con gran número de mitocondrias y la pieza intermedia. Cubriendo la cabeza y debajo de la terminación del acrosoma se encuentra la membrana protoplasmática propiamente dicha; es curiosa la escasa cantidad de material protoplasmático que presentan los zoospermos de las aves. De tal modo que casi debajo de la membrana protoplasmática se encuentra el núcleo ampliamente desarrollado.

Patología Espermática.

Con esta denominación se estudian ciertas alteraciones esperáticas del eyaculado consideradas como anormales por lo que se refiere a su morfología. Si bien no sabemos hasta qué punto pueden presentar aquéllas capacidad fecundante (18) (7), existiendo común acuerdo en que las anomalías morfológicas de los espermatozoides ofrecen significación patológica.

Las anomalías que pueden encontrarse en los zoospermos del guajolote se resumen en las siguientes:

acrosoma: corto doblado y ausente; cabeza: doble, gigante y vacuolar; parte intermedia: filiforme, flexible y doblada en varias partes; cola: enrollada, con nódulos esféricos, rota y au-

sente.

Factores que Producen Anomalías Morfológicas.

La edad, la carencia de ciertos aminoácidos esenciales, -- las carencias de vitamina A, las estaciones, las influencias térmicas trastornos generales y el entretenimiento defectuoso; son otros tantos factores capaces de provocar la aparición de anomalías espermáticas.

Concentración. Recuento de Espermatozoides.

La concentración expresa el número de espermatozoides --- por mm^3 , El recuento se realiza de la misma manera que el globular utilizado para ello la cámara cuenta glóbulos de Thoma.

La técnica (4) es tan simple como la del recuento de glóbulos rojos, a la cual puede compararse.

El líquido, de la dilución para la enumeración de los espermatozoides se prepara de la siguiente manera:

Bicarbonato Sódico	5 grs.
Formol	1 ml.
Agua destilada	800 ml.

Se mezcla la muestra por inversión del tubo y la pipeta -- de glóbulos rojos se llena hasta la marca 0.5 o la 1.0 con semen. El semen se diluye con el líquido especial hasta la marca 101 y se llena con la dilución la cámara de recuento. Se cuentan los -- elementos en los cuadros de extremos y del central en enumera---

ción sólo de las cabezas. Al calcular el número total de espermatozoides por mm^3 de semen se multiplica entonces por 100 si la pipeta se llenó hasta la marca 1.0 y por 200 si se llenó hasta la marca 0.5; por 20 si se utilizó la pipeta de glóbulos blancos

Motilidad Espermática.

Constituye una prueba de valoración espermática del más alto interés, puesto que se refiere a valorar directamente la actividad cinética de los espermatozoides. La técnica clásica se basa en trabajar con platina calentable y esperma puro cuidando de las variaciones de temperatura.

Los tipos de movimiento o actividad cinética que podemos apreciar en condiciones normales en cuanto a su intensidad, corresponde a normocinésis (actividad normal), hiperkinésis (actividad exagerada), hipocinésis (actividad débil) y astenospermia (movimientos débiles).

Las variaciones de movimientos en los espermatozoides son: progresivo, ondulatorio, rotatorio y de retroceso.

La cinésis espermática en el eyaculado del guajolote tiene una particular tendencia a la manifestación de movimientos circulares en relación con su morfología específica. La hiperkinésis espermática esta relacionada con cierta contaminación (19) en material de excreción más que en condiciones disgenésicas. El peligro de la cinésis circular es su rápida terminación en aglutinación que en general, se acompaña de la muerte de los esperma

tozoides. En definitiva, los movimientos circulares y oscilatorios significan escasa fertilidad fecundante y elevado grado de contaminación en el eyaculado. La máxima capacidad fecundante corresponde al esperma de motilidad valorada de ++ en adelante con el método de Blom (17).

Vitalidad o Supervivencia.

Se trata de medir el grado de supervivencia "in vitro" que presentan los zoospermos en el medio natural o eyaculado en que se encuentran. A la temperatura del laboratorio, el eyaculado -- del pavo muere después de cuatro horas: a las tres horas, como máximo conserva un 60% de formas móviles, mientras que a 7°C sobrevive hasta seis horas.

Examen Bacteriológico del Esperma.

Al hacer la recolección del semen se quiso probar el grado de pureza de éste realizando una siembra en Agar-triptosa (Difco) en caja de Petri. De las colonias que crecieron, a las 24 -- horas se realizó una bioquímica donde como resultado contaminación con *Escherichia Coli*, *Proteus Sp.*

Etiología de la Contaminación del Esperma.

- a) Procesos patológicos en las vías genitales.
- b) Técnica defectuosa en el momento de la recolección.
- c) Insuficiente esterilización del material para recolectar.
- d) Flora microbiana que pulula en las inmediaciones de la cloaca.

R E S U L T A D O S

Los pavos no soportan bien la aplicación de colectores de esperma adheridos y fijados a la cloaca, (método de Tinjakov) -- siendo más práctico el método de Isikava, mediante la aplicación de recolectores espermáticos sobre el aparato genital de la hembra, método que no puede considerarse de uso general, por la distinta tolerancia, que a su práctica presente cada animal en particular.

En el Centro Nacional Avícola, Criadero Nacional de Guajolotes en Toluca, Edo. de México, se practicaba el método del masaje en guajolotes (Método de Burrows y Quinn), sin obtener el resultado esperado; se decidió utilizar una variante al método de Amantea y de Isikava, así obteniendo un método de fácil aplicación, que consiste en colocar un espermocaptor en el momento de la cópula.

La necesidad de utilizar un recolector apropiado para el esperma, nos llevó a la elaboración de un espermocaptor, derivado de las ideas de los métodos italiano y japonés.

Dicho recolector se elaboró en la siguiente forma:

1.- Se midió el diámetro de la cloaca de la hembra, resultando ser de cinco centímetros.

2.- Después se le introdujeron en la cloaca, tubos de las siguientes longitudes: 5 y 10 cm.

3.- Se probaron diversos diámetros de tubo, donde cupiera el órgano copulador del macho, siendo el más apropiado el de --

1.25 cm.

Llegando a la conclusión de tener primero la forma de un peso de plata (5 cm.), y continuarse con un tubo de 1.25 cm. de diámetro, sin llegar a tener la forma de embudo y el fondo deberá estar cerrado para que allí se depositara el eyaculado.

Por último nos faltaba saber la longitud del tubo, para lo cual probamos las siguientes medidas:

3.8; 5.0; 6.3; 7.5 centímetros.

Los dos primeros por ser muy cortos, con cualquier movimiento que realizara el animal, provocaba su caída; y los dos últimos resultaron de mayor tolerancia, favoreciendo así nuestra finalidad. Con el fin de que se conservara más tiempo, se le dió forma de bulbo en los últimos 2.5 cm.

Este espermio-captor se introduce en la cloaca femenina y también lo utilizamos interponiéndolo entre las dos cloacas en el momento de la cópula, dándonos excelentes resultados.

Comprobamos que la composición del líquido espermático, varía enormemente según las siguientes circunstancias; ya sean internas o externas: Raza, edad, momento de la recolección, número de recolecciones, medios de recolección, etc.

Constatamos que los métodos histológicos y fisicoquímicos, si bien no tienen más que un valor relativo, son útiles y tienen la suficiente precisión para la investigación práctica de un progenitor.

Los volúmenes de eyaculado obtenidos por nosotros se añaden a los datos de Derrivaux (5) que es entre 0.2 a 0.8 ml. como promedio 0.4 ml. No así con los de otros autores que marcan hasta 5 ml. de eyaculado (22).

En lo que respecta al aspecto, consistencia y coloración no hay nada nuevo que incluir.

De los diferentes métodos de fijación para el estudio microscópico del espermatozoide, podemos indicar que el método de fijación a la llama, para un estudio inmediato es el más indicado; y para fines de estudios posteriores, el de fijación en formalina al 5 %.

De lo referente a la patología espermática debemos indicar, que tendría que realizarse un estudio más profundo para poder determinar hasta qué punto tienen capacidad fecundante, ciertas alteraciones espermáticas del eyaculado, consideradas como anormales.

Las tinciones utilizadas en los frotis, son las mismas que se utilizan para los mamíferos, quedando constatado, en este trabajo, que pueden ser utilizados para la tinción de los frotis de eyaculado de aves con resultados satisfactorios.

Las anomalías morfológicas, si son producidas por la carencia de aminoácidos esenciales, las influencias térmicas, carencia de vitamina A y excitaciones anormales del macho, que ha sido mantenido sin contactos sexuales, ya que observamos la excitación total de un guajolote, al ver que otro de su misma espe-

cia efectuada la copulación en su presencia, produciéndole apatito sexual al máximo, el cual manifestaba frotando la cloaca contra la rejilla de alambre de su confinamiento, hasta producir la eversión de la misma, con la turgencia de las papilas; y al efectuarse la recolección de espermatozoides y observarse al microscopio, encontramos un alto porcentaje de espermatozoides anormales; por lo que no es recomendable que los machos tengan excitación visual antes de la cópula.

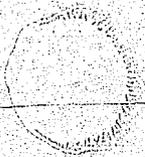
Para el recuento de espermatozoides, utilizamos un método aplicado solamente al semen de bovinos con resultados positivos para el recuento en las aves, llegando a obtener concentraciones que varían entre 9'700,000 a 16'374,500 espermatozoides por mm^3 .

La motilidad espermática constituye una valoración del más alto interés, ya que se valora directamente la actividad cinética de los espermatozoides. La cinésis espermática en el eyaculado del guajolote tiene tendencias a movimientos circulares en relación con su morfología específica; el peligro de la cinésis circular es su rápida terminación en aglutinación que se acompaña de la muerte de los espermatozoides. La máxima capacidad fecundante corresponde al espermatozoide de motilidad valorada de++ adelante con el método de Blom (17).

En lo referente a vitalidad y supervivencia observamos

que a la temperatura del laboratorio, el eyaculado muere después de cuatro horas; a las tres horas observa un 60 % de formas móviles como máximo, mientras que a 7°C sobrevive hasta seis horas.

, Con lo que respecta a la etiología de la contaminación del esperma, estamos de acuerdo en que son las mismas que en los mamíferos como son: procesos patológicos, técnica defectuosa en el momento de la recolección, insuficiente esterilización para recolectar, y flora bacteriana que pulula en las inmediaciones de la cloaca.



D I S C U S I O N

Querer iniciar una explotación meleagrícola sin principiar con el estudio del esperma y su capacidad fecundante, es un error, ya que gran parte del éxito de la reproducción de estas aves, estriba en dicha capacidad de fecundación.

Nosotros probamos todos y cada uno de los métodos recomendados por diferentes autores, observando que la gran mayoría de éstos los recomiendan con fines de una investigación científica especializada; pero que no son puestos al alcance de una técnica que pueda ser utilizada por el Médico Veterinario y Zootecnista.

Hacemos patente en esta tesis, que no todos los métodos descritos en una gran variedad de libros, son apropiados al medio, alcance y desarrollo de la meleagricultura en la República.

Son valederas las diferentes técnicas, que aclaramos, son bien pocas, para el estudio del semen de estas aves, ya que nunca llegan al alcance nuestro, técnicas para diluciones, tinciones, fijaciones en laminilla; teniendo que recurrir a los realizados al semen de bovinos adaptándolos a nuestras necesidades.

No existen estudios profundos, o al menos especializados, en lo referente a nuevas técnicas de recolección, conservación, estudio macro y microscópico del líquido seminal en el guajolote; por lo cual pensamos, que los resultados obtenidos en esta tesis, si bien no hemos dado un gran avance, si hemos fijado un

precedente, que sirva de idea o estudio para todos los Médicos - Veterinarios, que dedican sus esfuerzos al mejoramiento de la me- leagricultura en la República Mexicana.

C O N C L U S I O N E S

- 1.- Debe realizarse lo más apegadamente posible a los -- standards, la selección de hembras y machos que servirán como -- reproductores.
- 2.- Es imprescindible la higiene exterior de la cloaca de hem -- bras y machos, y además, la limpieza interna de la misma en el -- macho, para obtener un eyaculado lo más libre de contaminaciones.
- 3.- El factor higienico debe ser estrictamente vigilado en el lo -- cal destinado a la recolección así como el alojamiento de las -- aves.
- 4.- Es necesario cierto periodo de adiestramiento de los machos, para acostumbrarlos a la presencia de técnicos y manejadores.
- 5.- La alimentación semisólida de los guajolotes, es un factor - que no debe descuidarse, a fin de evitar contaminaciones del eya -- culado, por heces líquidas.
- 6.- Una vez aclimatadas las aves, al alojamiento, alimentación, - presencia del técnico y manejadores no debe de ser cambiado el - medio; pero si hay necesidad de ello, deberá darse un periodo no mínimo de ocho días para la nueva aclimatación.
- 7.- Los machos dedicados a la reproducción, deben tener un régi -- men sexual de abstinencia de hembras, con un mínimo de tres me -- ses y de preferencia nunca antes haber realizado la copulación.
- 8.- El ejercicio es fundamental en la función procreativa de -

los guajolotes, por lo que de acuerdo a cada región, se les debe proporcionar terreno de asoleadero; tres veces por semana durante treinta minutos como mínimo.

9.- El método utilizado por nosotros para la recolección del eyaculado, es el mejor para determinar con precisión la capacidad fecundante de un progenitor.

10.- El espermocaptor elaborado por nosotros y descrito con anterioridad, resultó ser el más apropiado; en el cual no se producen contaminaciones ni pérdida de líquido seminal, por fijación en las paredes.

11.- Debe existir un intervalo por lo menos de 48 horas, entre la recolección sucesiva de machos.

12.- El estudio macroscópico comprende valoraciones objetivas, fácilmente realizables que, sin embargo, deben tenerse muy en cuenta.

13.- Solamente deben utilizarse las recolecciones de color claro y gris-blanco.

14.- Se eliminarán las recolecciones sanguinolentas, el semen que contenga excreta y el que esté acuoso.

15.- El examen microscópico directa del esperma fresco, debe realizarse dentro de la media hora siguiente a la emisión o recogida.

16.- El examen microscópico permite darse cuenta del grado de motilidad espermática y del tanto por ciento aproximado de es-

permatozoides móviles. de la concentración de la morfología y -
de la presencia de elementos extraños.

SUGESTIONES

- 1) Realizar un estudio más profundo de la patología espermática y determinación del número de espermatozoides normales y anormales por mm.³

- 2) Estudiar y buscar tinciones, diluciones y fijaciones, con técnicas únicamente para las aves.

- 3) Un estudio científico para valorar la motilidad espermática así como la determinación de vitalidad y supervivencia - en diferentes tiempos y temperaturas.

- 4) Determinar la flora bacteriana, que pulula en las inmediaciones y dentro de la cloaca, de hembras y machos.

- 5) Estudios para la conservación y congelación del semen de las aves , con fin de su uso en la inseminación artificial.

- 6) Estudio histo-fisiológico para determinar el recorrido del espermatozoide hasta su conjugación con el óvulo.

- 7) Las granjas dedicadas a la venta de reproductores, deben realizar pruebas del material espermático de éstos.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ARAGON LEIVA PABLO
CRIA DE GUAJOLOTES
SEGUNDA EDICION
EDICIONES AGRICOLAS TRUCCO
PAGINA 68
- 2.- BLESTER Y SCHWARTE
ENFERMEDADES DE LAS AVES
PRIMERA EDICION EN ESPAÑOL
1964
UTHEA
PAGINA 13
- 3.- BANADONNA TELESFORO DR.
FISIOPATOLOGIA DE LA REPRODUCCION Y DE LA FECUN
DACION ARTIFICIAL DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
TOMO I
1962
SALVAT EDITORES, S.A.
PAGINA 563
- 4.- COLES EMERT H. DR.
PATOLOGIA Y DIAGNOSTICOS VETERINARIOS
1968
EDITORIAL INTERAMERICANA
PAGINA 220
- 5.- DERRIVAUX J.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFI-
CIAL DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
1961
EDITORIAL ACRIBIA
ZARAGOZA, ESPAÑA
PAGINA 100.
- 6.- DERRIVAUX J.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFI-
CIAL DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
OPUS CIT
PAGINA 109
- 7.- DERRIVAUX J.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFI-
CIAL DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.

- OPUS CIT
PAGINA 115.
- 8.- DUKES H. H.
FISIOLOGIA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
PRIMER EDICION.
1960
EDITORIAL AGUILAR
MADRID, ESPAÑA
PAGINA 883.
- 9.- JULL M.A.
AVICULTURA
SEGUNDA EDICION
1962
UTHEA
PAGINA 47
- 10.- HAFES E. S. A.
REPRODUCCION DE LOS ANIMALES DE GRANJA.
SEGUNDA EDICION
1962
EDITORIAL HERRERO
PAGINA 282
- 11.- HAFES E. S. A.
REPRODUCCION DE LOS ANIMALES DE GRANJA
OPUS CIT
PAGINA 276
- 12.- HOFFMANN-VOLKER
ANATOMIA Y FISIOLOGIA DE LAS AVES DOMESTICAS
1968
EDITORIAL ACRIBIA
ZARAGOZA, ESPAÑA
PAGINA 162
- 13.- MAREK- MOCSY
DIAGNOSTICO CLINICO DE LAS ENFERMEDADES
INTERNAS DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
TERCERA EDICION
1965
EDITORIAL LABOR
PAGINA 437
- 14.- THE MERCK VETERINARY MANUAL

TERCERA EDICION
1967
PAGINA 832

- 15.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
1966
EDITORIAL CIENTIFICO-MEDICA
PAGINA 20
- 16.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 21
- 17.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 134
- 18.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 144
- 19.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 520
- 20.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 526
- 21.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 532
- 22.- PEREZ Y PEREZ F.
REPRODUCCION E INSEMINACION ARTIFICIAL GANADERA
OPUS CIT
PAGINA 541
- 23.- PEREZ Y PEREZ F.

FISIOPATOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL
1960
EDITORIAL CIENTIFICO- MEDICA
PAGINA 53

24.- SISSON GROSSMAN
ANATOMIA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS
1963
SALVAT EDITORES
PAGINA 918

25.- STURKIE P. A.
FISIOLOGIA AVIAR
EDITORIAL ACRIBIA
ZARAGOZA, ESPAÑA
PAGINA 411.