

213,
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE UN NUEVO DILUENTE PARA
CONSERVACION EN FRESCO DE SEMEN
PORCINO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A I

JESUS FERNANDO SANDOVAL JIMENEZ

ASESORES:

M.V.Z. JOAQUIN BECERRIL ANGELES

M.V.Z. RICARDO NAVARRO FIERRO

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1990



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 está 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.

Lista de contenido

Capítulo	Página
Resumen	1
Introduccion	2
Material y Metodos	8
Resultados	11
Discusion	12
Literatura Citada	15

Lista de cuadros

Cuadro #	Título	Página
1	Resultados medios para cada uno de los diluentes	11
2	Resultados medios registrados en cada granja	11
3	Promedios obtenidos en experimentos de IA	14

RESUMEN

Sandoval Jiménez, Jesús Fernando: Evaluación de un nuevo diluyente para conservación en fresco de semen porcino (Bajo la asesoría de Joaquín Becerril A. y Ricardo Navarro F.).

La mayor limitante para la inseminación artificial con semen fresco es el corto periodo de conservación. Para evaluar un diluyente para semen fresco llamado Buen Balance (BB) se inseminaron 55 cerdas (30 de la granja A y 25 de la granja B) con semen diluido en BB, como grupo testigo se inseminaron 50 cerdas (25 de la granja A y 25 de la B) con semen diluido en BTS (Beltsville Thawing Solution). Se registró la fertilidad, el número de lechones nacidos vivos, de nacidos muertos y el peso de la camada al nacimiento. No hubo diferencias significativas entre diluyentes ($p < 0.05$), pero sí la hubo entre las granjas. La granja A, más tecnificada, tuvo mayor fertilidad (93.6 vs. 75.9%) y camadas más pesadas (12.1 vs. 10.0 kg) ($p < 0.05$). Los resultados indican que se podría recomendar el uso del diluyente BB sin detrimento en la fertilidad, el número de lechones nacidos vivos, ni en el peso de la camada al nacimiento, ya que el diluyente BB alcanzó valores similares a los del BTS reconocido como el diluyente más efectivo en la actualidad (1).

INTRODUCCION

En la actualidad, la producción porcina necesita ser eficiente, para esto los porcicultores y los médicos veterinarios buscan la forma de adecuar los sistemas de manejo, sanidad e instalaciones para ser más productivos. La inseminación artificial (IA) es importante como factor zootécnico y de organización para que la producción sea más intensiva y eficiente, por lo que cada vez está obteniendo más aceptación entre productores de carne de cerdo.

La IA permite incrementar la capacidad reproductiva de los verracos, al diluir un eyaculado se obtienen de cinco a diez dosis, que servirán para inseminar a igual número de cerdas. Además permite adecuar los programas reproductivos por medio de la sincronización de calores. Por otro lado, en los hatos donde se utiliza la IA, el progreso genético puede ser más acelerado, ya que permite una mayor difusión del uso de verracos de mejor calidad genética al facilitar las pruebas de comportamiento (16,19).

Otras ventajas de la IA son que reduce la posibilidad de transmitir enfermedades venéreas, facilita el transporte y la distribución de semen, evita la presencia del macho en el hato, así como el gasto de su manutención y posibilita a los porcicultores de escasos recursos la adquisición de semen de animales valiosos.

La IA también presenta algunas desventajas, ya que implica el dominio de la técnica, y requiere de una detección precisa del celo; aunque tal vez la principal desventaja sea el rápido deterioro de los espermatozoides en los diluentes usados para conservar el semen, y el hecho de que las alteraciones de la motilidad y de la morfología acrosomal de los espermatozoides se incrementan con el tiempo de almacenaje (4,10,16,19,30,32).

Los factores que más influyen en el resultado de la IA son: a) La correcta detección del estro. La detección debe efectuarse por lo menos dos veces al día, una vez por la mañana y otra por la tarde. Los signos de calor en la cerda son: inquietud, anorexia, búsqueda del macho, puede o no montar a sus compañeras de corral, edematización y enrojecimiento vulvar, movimientos de las orejas hacia atrás, el signo más importante es la aceptación del macho o que permita la "prueba de cabalque".

b) La aplicación de la IA en el momento adecuado. Algunos autores indican que debe inseminarse aproximadamente a las 36 h de iniciado el celo, que es cuando ocurre la ovulación (5,10,15,16).

c) Técnica adecuada para la IA. Después de la correcta detección de calores y de la elección del momento preciso para la IA, se debe limpiar la región perineal y vulvar de

la cerda con agua deionizada y secarla perfectamente con toallas desechables y en seguida aplicar el semen (19).

Hancock y Hovell (12) recomiendan que el semen sea depositado intrauterinamente, debido a que el sitio de depósito es un factor que determina el tamaño de la dosis espermática necesaria para alcanzar un nivel particular de fertilidad.

Durante el depósito espermático es recomendable presionar la grupa y, con una rodilla, empujar al animal con suavidad a lo largo de uno de los costados hasta llegar al jamón. También es importante que un verraco sano y activo se pasee cerca de la hembra, ya que esto estimula el transporte espermático por el útero. En caso de no contar con un verraco, se puede obtener un estímulo similar ofreciendo a la cerda a olfatear la fracción final del eyaculado de un verraco o un poco de líquido prepucial. La estimulación deberá continuar durante 2 o 3 minutos después de terminada la IA (9,20).

d) **La preservación del semen.** Graham et al. afirman que la preservación del semen es un aspecto crucial para poder implantar la técnica de la IA (11). Desde hace ya algunas décadas, se han investigado técnicas que influyan positivamente en los resultados obtenidos con la IA, entre las que destaca el uso de diluentes que conserven la

capacidad fertilizante del espermatozoide en estado líquido por varios días (5,11).

Existen dos métodos de conservación de semen de verraco: sólido (congelado) y líquido (diluido o fresco). En forma sólida tiene varias limitantes, y se considera que en la actualidad la conservación en estado líquido es una mejor alternativa; sin embargo, la conservación del semen en estado líquido es breve: dos a tres días, por lo que es conveniente buscar nuevos procedimientos para prolongar la conservación del semen líquido.

Los diluentes que más se utilizan para la preservación del semen en estado líquido son: Betsville Thawing Solution (BTS), Betsville Liquid Extender (BL1), Kiev (Guelph), Illinois Variable Temperature (IVT), SCK 7, Milk Extender, Zorlesco y Modena (2,4,7,27,28).

Algunos experimentos comparativos han situado al diluyente BTS como el mejor preservador de la integridad y funcionalidad del espermatozoide de cerdo para la IA (1,2), seguido por el diluyente Kiev (23,24).

En el semen líquido, los espermatozoides del cerdo son muy sensibles a los cambios de temperatura, por lo que el semen se debe almacenar entre 15 y 18°C (1,2,7,25,26,27).

En estado sólido, si los diluentes satisfacen las necesidades metabólicas y crioprotectoras del espermatozoide, el semen puede preservarse por tiempo indefinido (29).

La preservación de semen de verraco por congelación presenta varias limitantes: a) Se requiere de una alta dosis de espermatozoides. Se requieren seis mil millones para obtener una fertilidad razonable bajo condiciones de campo, esto ocasiona que el costo de la dosis de semen congelado se incremente comparado con el semen líquido.

b) Hay una variación considerable entre verracos en la capacidad fertilizadora del semen después de congelado.

c) Los procedimientos de evaluación de la calidad del semen a nivel laboratorio aun son limitados para predecir la fertilidad potencial de los verracos.

d) El método de congelación del semen es complicado y se lleva más tiempo que el proceso usado para el semen líquido.

e) Dificultades para disponer de los insumos, en especial el nitrógeno líquido.

f) El momento de la IA es más crítico y presenta mayor dificultad para obtener una fertilidad adecuada.

g) Se reduce la tasa de concepción y el tamaño de la camada en relación a los que se obtienen mediante la IA con semen líquido.

Por lo anterior, la conservación del semen de verraco en estado líquido es mejor alternativa que la preservación en estado sólido (26).

Con los conocimientos actuales, el semen líquido sólo puede aprovecharse para la IA dentro de los dos a tres días siguientes a la preparación, por ello es necesario el desarrollo de diluentes que mantengan la capacidad fertilizante del espermatozoide por periodos mayores (4,25).

OBJETIVO

El propósito del trabajo es comparar la fertilidad, tamaño y peso de la camada al nacimiento de cerdas inseminadas artificialmente con semen fresco conservado en un nuevo diluyente llamado Buen Balance (BB), con respecto a resultados obtenidos con semen diluido en BTS.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se desarrolló en dos granjas porcinas localizadas en la Piedad, Michoacán, que se encuentra a una altitud de 1,695 msnm, a una Latitud de 20°20' y a una Longitud de 102°01'. El clima predominante es semicálido, con lluvias escasas en el invierno, temperaturas superiores a los 22°C en el mes más cálido, que bajan hasta 3°C bajo cero en el mes más frío, con un promedio entre los 12 y 18°C (6).

Se utilizaron 105 cerdas primerizas o adultas, distribuidas al azar en dos grupos. El grupo uno se formó con 55 cerdas inseminadas con semen diluido en BB (30 de la granja A y 25 de la granja B) y el grupo dos con 50 cerdas servidas con semen diluido en BTS (25 de la granja A y 25 de la B).

El semen se colectó en el Laboratorio de Mejoramiento Genético e Inseminación Artificial del Centro de Investigaciones Delta en la Piedad, Michoacán.

Las fórmulas de los diluentes utilizados se indican a continuación:

DILUENTE BB (Buen Balance):

Ingredientes	Cantidad (g)
Dextrosa	30
Citrato trisódico	16
Bicarbonato de sodio	8.5
EDTA	2.5
Tris	15.3
Cisteína	0.4
Agua deionizada	c.b.p. 1,000 ml (por patente se omiten dos ingredientes)

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

DILUENTE BTS (Beltsville Thawing Solution):

Ingredientes	Cantidad (g)
Dextrosa	37
Citrato trisódico	6
Bicarbonato de sodio	1.25
EDTA	1.25
Cloruro de potasio	0.75
Gentamicina	0.030
Agua deionizada	c.b.p. 1,000 ml

El semen fué colectado utilizando la técnica de la mano enguantada descrita por Melrose (19), inmediatamente después de la colección se evaluaron los eyaculados en el laboratorio. Se preparó la mitad de las dosis en el diluyente BB y el resto con igual concentración en el diluyente BTS. En todos los casos se mezcló el semen colectado de dos o más sementales.

Para todos los servicios efectuados el semen se aplicó antes de las 72 horas después de haber sido colectado.

Las cerdas de ambos grupos recibieron doble inseminación artificial de la siguiente manera: si la aceptación del macho, o positividad a la prueba de cabalque, se detectaba por la mañana de un día, la primera IA se realizaba por la tarde y la segunda en la mañana del día siguiente; cuando el celo se detectaba por la tarde, la primera IA se llevaba a cabo en la mañana siguiente y la segunda por la tarde.

La detección de calores se efectuó dos veces al día (7:30 y 17:30) y sólo se consideró que había celo cuando las

cerdas permanecían estáticas a la prueba de cabalgue (presión sobre el dorso) en presencia de machos receladores. Para coleccionar el semen se utilizaron un total de 32 sementales de raza Duroc, Hampshire, Yorkshire, Berkshire y Landrace.

El equipo para la IA consistió en un catéter de hule látex de tipo Melrose (19), botellas de plástico con capacidad de 100 ml y toallas de papel desechables; el equipo se esterilizó en autoclave. Al momento de realizar la IA se limpió perfectamente la región perineal de las cerdas, en especial la región vulvar con agua deionizada, posteriormente se secó con toallas desechables.

Transcurridos 18 a 24 días de la IA se observó si las cerdas retornaban a calor, a los 45 y 60 días del servicio artificial se diagnosticó la gestación por medio de un aparato de ultrasonido. La fertilidad se midió como la proporción de hembras paridas sobre el total de inseminadas.

La fertilidad se comparó entre diluyentes y entre granjas mediante la prueba exacta de Fisher (21). El número de lechones nacidos vivos, el número de lechones nacidos muertos y el peso de la camada al nacimiento se comparó mediante un análisis de varianza factorial que incluyó el efecto del tipo de diluyente, de granja y la interacción de estos dos.

RESULTADOS

No hubo diferencias significativas en los resultados obtenidos con ambos diluyentes ($P > 0.05$; cuadro 1), pero si la hubo entre las dos granjas en lo que respecta a fertilidad y a tamaño y peso de la camada al nacimiento ($p < 0.05$), aunque no en el promedio de lechones nacidos muertos ($p > 0.05$; cuadro 2).

Cuadro 1. Resultados medios para cada uno de los diluyentes*.

Variable evaluada	Diluyente	
	BB	BTB
Fertilidad (partos/servicios)	85.5 (47/55)	82.0 (41/50)
Lechones nacidos vivos	7.89 ± 2.2	7.53 ± 2.7
Peso de la camada (kg)	11.25 ± 3.2	10.64 ± 4.1
Lechones nacidos muertos	0.11 ± 0.3	0.17 ± 0.5

* No hubo diferencia significativa ($p > 0.05$).

Cuadro 2. Resultados medios registrados en cada granja*.

Variable evaluada	Granja	
	A	B
Fertilidad (partos/servicios)	90.9 (50/55)	76.0 (38/50)
Lechones nacidos vivos	8.03 ± 2.3	7.67 ± 2.8
Peso de la camada (kg)	12.15 ± 3.5	10.08 ± 4.3
Lechones nacidos muertos	0.25 ± 0.4	0.20 ± 0.3

* La diferencia entre granjas fué significativa ($p < 0.05$), excepto en el lechones nacidos muertos ($p > 0.05$).

DISCUSION

El diluyente ideal debe permitir una fertilidad y una prolificidad iguales o superiores a las de la monta natural, conservar al semen viable por un período prolongado y de tener un costo de producción económico.

Los parámetros obtenidos por monta natural en las granjas incluidas en el estudio, de Enero a Agosto de 1988, fueron 75 y 80% de fertilidad para las granjas A y B respectivamente, con 8.5 y 8.9 lechones nacidos vivos; puede verse que los resultados alcanzados en los grupos experimentales difiere muy poco de lo registrado en la hembras servidas por monta natural (cuadro 1).

En el cuadro 3 se hace una comparación con otros trabajos similares. Se puede apreciar que la fertilidad obtenida con ambos diluentes en este trabajo es aceptable.

El número de lechones nacidos vivos por camada es similar a lo encontrado en otras explotaciones de nuestro país, por ejemplo se han registrado 8.76 lechones como promedio de trece granjas del altiplano de 1979 a 1985 (12), 8.95 lechones al parto en nueve granjas del centro del país y 9.62 en seis noroeste (7).

El aspecto más importante en que el BB puede aventajar a otros diluentes, incluido el BTS, es en la conservación prolongada del semen. Los resultados de Tinoco (33) muestran que la motilidad del semen conservado en BB se altera menos

que con BTS. Los datos de este trabajo muestran que por lo menos es tan bueno como el BTS en la conservación a corto plazo, dando pie a la investigación de la capacidad fertilizante del semen diluido en BB más allá de los tres días, a fin de establecer la curva de viabilidad en el tiempo del semen fresco diluido en Buen Balance (BB).

La diferencia de resultados entre las granjas muestra el ya conocido efecto de las instalaciones y la experiencia del personal sobre la productividad media de los animales.

Cuadro 3. Promedios obtenidos en experimentos de IA con distintos diluyentes.

AUTORES	DILUYENTE	FERTILIDAD	LNV
Resultados de este trabajo	BB ⁺	82.4	7.8
	BTS ⁺	82.0	7.5
Aamdal y Hogsets (3)	Citrato de sodio ⁺ Clara de huevo Penicilina Estreptomocina	59.4	9.9
Johnson, <u>et al.</u> (14)	Kiev ⁺⁺	79.1	9.9
Aalber, <u>et al.</u> (2)	BTS ⁺⁺	59-100	Nr
	Kiev ⁺⁺	47-87	Nr
	Zorlesko ⁺⁺	50-73	Nr
	Modena ⁺⁺	49-74	Nr
Sie, <u>et al.</u> (31)	Glucosa ⁺ Citrato de sodio EDTA	86.5	14*
Hernandez, <u>et al.</u> (13)	Glucosa-Citrato de Na-Hidroxido Na ⁺⁺	70	9.2
	Glucosa-Lactosa-Leche descremada ⁺⁺	77	8.8
	Lactosa-Clara de huevo-Glicerol ⁺⁺	74	9.0
	Illinois Var.Temp. ⁺⁺	76.6	9.2
Ooi (22)	Illinois Var.Temp. ⁺⁺	76.6	9.2
Meding (18)	Illinois Var.Temp. ⁺⁺	84.0	Nr
	EDTA-Glucosa ⁺⁺	88.1	Nr
Li (17)	Glucosa ⁺	93	13.8*
	Citrato de sodio		
	Vitamina D		
	Penicilina Estreptomocina		

Nr No registrado

* Usando cerdas de raza Taiwu, raza China muy prolifica

+ Dosis con una concentración de 5×10^9

++ Dosis con una concentración de 3×10^9

LITERATURA CITADA

- 1 Aalbers, J.G.; Rademaker, J.H.M.; Grooten, H.J.G. and Johnson, L.A.: Fecundity of Boar semen stored in BTS, Kiev, Zorlesko and Modena extender under field conditions. J.Anim.Sci. 57 suppl. 1: 314-315 (1983).
- 2 Aalbers, J.H.; Johnson, L.A.; Willems, C.M.T.; Rademaker, J.H.M. and Rexroard, C.E.: Fecundity of Boar spermatozoa after storage at 18°C for up to three days. J.Anim.Sci. 53 suppl. 1: 355 (1981).
- 3 Aamdal, J. and Hogsets, I.: Artificial Insemination in swine. J.Am.Vet.Med.Assoc. 131: 59-64 (1977).
- 4 Amezaga, C.G.: Evaluación del daño acrosomal en espermatozoides de semen almacenado en BTS. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
- 5 Armenta, D.E.R.: Sensibilización de cerdas primerizas con machos infértiles previa a la inseminación artificial y su efecto en el número de embriones. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1986.
- 6 Bachtold, J.M.: Evaluación de la productividad de una granja porcina del estado de Michoacán. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
- 7 Bamba, K and Stone, M.: Factors affecting the quality of Boar semen stored by means of dialysis. J. Reprod. Fert. 62 1: 193-197 (1981).
- 8 Cordoba, D.J., Trujillo, O.M.E. y Stephano, H.A.: Parámetros reproductivos de cerdas en el area de maternidad por zona geográfica en México. Memorias del XXIII congreso anual AMVEC 88, León, Gto. 1988 158-159, Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F., 1988.
- 9 Einarsson, S.: Site, Transport and fate of inseminated semen. Proc. 9th Int Congr. Anim. Reprod. and Artificial Insemination (Madrid) 1: 147-158 (1988).
- 10 Galina, C., Saltiel, A., Valencia, J., Becerril, J., Bustamante, G., Calderon, A., Duchateau, A., Fernandez, S., Olguin, A., Páramo, R., Zarco, L.: Reproducción de Animales Domésticos. Limusa, México, 1986.

- 11 Graham, E.F., Crabo, B.G. and Pace, M.M.: Current status of semen preservation in the ram boar and stallion. J. Anim. Sci. 11 suppl.47: 80-110 (1978).
- 12 Hancock, J.L. and Hovel, G.J.R.: The effect of semen volume and number of spermatozoa on the fertility of intrauterine insemination of pigs. Anim. Prod. 3: 153-161 (1961).
- 13 Hernández, M.M.L.: Evaluación de los parámetros reproductivos del ganado porcino en la región del Altiplano. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
- 14 Johnson, L.A., Aalbers, J.G., Willems, C.M.T., Rademaker, J.H.M. and Rexroad, C.E.: Fecundity of Boar spermatozoa stored in Betsville liquid and Kiev extender for three days at 18°C. J. Anim. Sci. 54 1: 132-136. (1982).
- 15 Koh, T.J., Crabe, O.G., Tson, A.L. and Graham, E.F.: Fertility of Boar semen as influence by breed and season. J. Anim. Sci. 42: 138-144 (1976).
- 16 Koning, I.: Inseminación de la cerda. Acribia. Zaragoza, España, 1979.
- 17 Li, Z.S.: Conception rate to first Insemination with boar semen stored at room temperature for different period. Chinese J. Anim. Sci. (Zhongguo Xumu Zazhi) 6: 17-18 (1986).
- 18 Meding, J.H.: Fertilizing ability using IVT and EDTA-Glucosa as boar semen diluents. Kongelige Veterinaerog Landbohøegskole. 15: 123-129 (1972).
- 19 Melrose, B.R.: A review progress and possible developments in artificial insemination of pigs. Vet. Rec. 78: 159-167 (1966).
- 20 Meza, E.J.L.: Estudios morfológicos del ciclo estral en el porcino. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1979.
- 21 Navarro, F.R.: Introducción a la Bioestadística, Análisis de variables binarias. McGraw-Hill, Mexico, 1987.
- 22 Ooi, S.K.H.: Further studies on preservation on boar sperm in Illinois Variable Temperature (IVT) diluent. Kajian Veterinary. 7: 27-30 (1975).

- 23 Paquignon, M., Bussiere, J., Bariteau, F. and Kerangat, G.: Efficiency of Guelph and SCK-7 diluents for prolonged storage of liquid boar semen. Pig News inf. 2. 4: 397-400 (1981).
- 24 Paquignon, M. and Courot, M.: Advances in Boar semen preservation technology in France. Pig News Inf. 2. 4: 397-400 (1981).
- 25 Pursel, V.G., Johnson, L.A. and Rampacek, G.D.: Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. J. Anim. Sci. 34: 278-283 (1972).
- 26 Pursel, V.G., Johnson, L.A. and Schulman, L.L.: Acrosome morphology of boar spermatozoa during in vitro aging. J. Anim. Sci. 38: 113-116 (1974).
- 27 Pursel, V.G.: Preservation of boar semen above 15°C: Effects of storage temperature, extender and container. J. Anim. Sci. 57: 125-126 (1983).
- 28 Ramirez, R.R.A.: Evaluación de dos tipos de diluyentes para preservar el semen de cerdo en estado líquido. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
- 29 Reed, H.A.: Artificial insemination. In: Control of pig reproduction. Edited by Cole, D.J.E. and Foxcroft, G.R. Butterworths, (1982).
- 30 Santibañez, A.E.: Evaluación económica administrativa de una explotación porcina para 120 vientres dedicada a la docencia. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1981.
- 31 Sie, C.X. and Chen, H.Z.: The present status and expansion of artificial insemination with boar semen stored at room temperature in Jiangsu province. Anim. Husbandry and Vet. Med. 17: 156-167 (1985).
- 32 Thacker, G.J., Larsen, R.E., Joo, H.J. and Leman, H.D.: Swine diseases transmissible with artificial insemination. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185: 511-516 (1984).
- 33 Tinoco, J.J.L.: Motilidad y daño acrosomal en espermatozoides de cerdo almacenados en los diluyentes BB y BTS durante siete días. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.