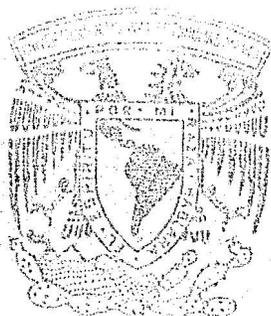


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“CONGELACION DE SEMEN PORCINO”

T E S I S

Que para obtener el título de :

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

p r e s e n t a :

RENE GARBUNO ZINGK

México, D. F.

1978

7994



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.

A Mónica, mi esposa.

Por haberte conocido y compartir la vida
contigo, por la sinceridad y por tu amor.

A Mónica, mi hija.

Por la felicidad de tenerte.

A mis Padres Roberto y Ofelia.
Por el apoyo y cariño que me han brindado.

A mis hermanos:

Roberto
Paul
Claudia
y Luga[†]

A mis suegros Enrique y Rocío.
Por su valiosa ayuda y apoyo constante.

A sus hijos.

Y a mi querida FACULTAD.

A mi asesor:

M.V.Z. Joaquín Becerril Angeles.

Con agradecimiento por su colaboración
desinteresada.

A mi honorable jurado.

A mis profesores.

AGRADECIMIENTOS.

Sinceramente a:

El M.V.Z. Manuel Alvarez Trillanes, por su colaboración y enseñanza en el desarrollo de éste trabajo.

Así mismo este trabajo no hubiese sido posible sin la ayuda y las atenciones otorgadas por la compañía Avícola Comercial Azteca.

Coacalco, Edo. de México.

CONTENIDO .

I. INTRODUCCION .

II. MATERIAL Y METODOS .

III. RESULTADOS Y DISCUSION .

IV. CONCLUSIONES .

V. RESUMEN .

VI. BIBLIOGRAFIA .

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

Si se considera el rápido aumento demográfico en nuestro país y la baja tasa de producción de productos cárnicos para consumo humano, se observará que es de suma importancia realizar nuevas técnicas y métodos que eleven en cantidad y calidad genética a nuestros hatos para obtener animales con un mayor rendimiento.

Por ser la población porcina una importante fuente de carne para el abasto, es necesaria la aplicación de tales procedimientos, lo que repercutiría en el incremento de nuestra producción.

La inseminación artificial como método para mejorar la calidad genética en el ganado porcino, se utiliza actualmente en todo el mundo y nos ofrece la posibilidad de contribuir al aumento de los productos de origen animal, siempre que la inseminación artificial se realice con semen de cerdos genéticamente superiores en cuanto a los índices de heredabilidad, lo que permite eliminar a corto plazo los cerdos de tipo grasa e ir sustituyéndolos por cerdos tipo carne en forma más extensa y económica.

A raíz del descubrimiento de la congelación y conservación del semen de bovino a temperaturas bajo cero ($-80^{\circ}\text{C}.$), mediante la adición de glicerol en el diluyente por Parkes, Polge y Smith en el año de 1949, se difundió ampliamente la aplicación de la inseminación artificial en el ganado bovino. (9,16).

En los años siguientes, se iniciaron una serie de investigaciones desarrollándose gran número de técnicas y diluyentes encaminados a la dilución, congelación y conservación a bajas temperaturas del semen de verraco para obtener una supervivencia espermática satisfactoria al descongelarse. (8, 9,15,23).

En las décadas de los 50 y 60 son reportadas la fecun-

didad y preñez después del uso de semen congelado de cerdo; pero siempre con resultados de baja concepción y número reducido de lechones por camada. (6,7,8,9,12,15,17,18,19,21,22,-24,26).

A partir de 1970, los avances en el estudio de la fertilidad y conservación del semen de verraco, se reportan resultados de preñez debido al empleo de nuevos métodos y diluentes más eficaces que fueron desarrollados y publicados por diversos investigadores quienes lograron resultados diversos.

Crabo y Einarsson (1971-72), obtuvieron por medio de su método de congelación un 70% de gestaciones y camadas de --- 12.2 lechones al parto. Graham, Rajamannan, Schmehl, Maki-Laurila y Bower (1971), con el empleo de crioprotectores y concentraciones de 2.5×10^9 de espermatozoides vivos por dosis lo gran bajas tasas de preñez y de camadas. Pursel y Johnson--- (1971), prueban en cerdas controladas para el tiempo de ovulación, logrando un 83% de gestaciones y camadas de 8.6 lechones al parto. Richter y Liedicke (1972), utilizan ácido etileno-diamino-tetracético como parte del diluyente y consiguen un 62.5% de gestaciones y 7.6 lechones por camada al parto.--

Salamon y Visser (1972), inseminaron tres veces en el--- mismo calor y obtienen en cerdas primerizas un 63% de gestaciones y un 22% en cerdas multiparas, con un promedio de lechones al parto de 7.6 y 10.5 respectivamente. (6,7,8,9,12,-13).

Como se podrá observar, los resultados no dejan de estar por abajo de lo deseable en cuanto al porcentaje de gestaciones y el número de lechones por parto, en comparación con los servicios por monta natural.

En México, Rosales (1964) y Alvarez (1967), realizaron--- los primeros trabajos sobre la inseminación artificial en--- cerdas con semen fresco, diluido y refrigerado, adoptando técnicas similares de recolección y dilución utilizadas para el semen de bovino. (1,4,5,10).

Posteriormente en pruebas realizadas con semen diluido, refrigerado y congelado ($-78^{\circ}\text{C}.$), se reporta baja fertilidad y corto tiempo de conservación. (4).

En experimentos efectuados en granjas porcinas en la zona de Cuautitlan, Edo. de México (1973), con semen diluido refrigerado, se obtienen buenos resultados pero no tan satisfactorios como los obtenidos con la monta natural. (1,10).

El presente trabajo tiene como objeto:

- 1.- Conocer el porcentaje de concepciones que puede ser obtenido bajo éste método de congelación. (método de Salamon y Visser).
- 2.- Si bajo éste procedimiento usado, el número de lechones por camada se aproxima al proporcionado con la monta natural.
- 3.- Ver la facilidad de repetir bajo las condiciones de trabajo en México el empleo de éste procedimiento y su aplicación.

I I . M A T E R I A L Y M E T O D O S .

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron

Diez sementales de las razas Hampshire, Landrace, Yorkshire y Duroc, cuya edad oscilaba entre los 8 y 16 meses y provenían de dos granjas porcinas.

Un potro de monte ó maniquí. (Austin, 1972; Herrick, 1968) (2,14).

Material de vidriería y equipo de laboratorio para llevar a cabo la colección, evaluación, dilución y congelación del semen.

Equipo para la inseminación artificial.

COLECCION DE SEMEN.- Por las ventajas que ofrece la colección de semen por el método de la mano enguantada, fué el utilizado en todos los sementales. Llevándose a cabo en las primeras horas de la mañana ó las últimas de la tarde; de acuerdo con lo descrito por Borton, Jaworski y Nellor. (3).

EVALUACION.- El volumen obtenido fué sujeto a la evaluación la cual incluyó:

Cantidad, motilidad, concentración, porcentaje de vivos/muertos y morfología.

a.- Cantidad: El volumen obtenido vario entre 80 y 180 ml. con un promedio de 130 ml.

b.- Motilidad: Únicamente el semen con motilidad superior al 80%, fué utilizado para pruebas posteriores antes de proceder a su congelación.

c.- Concentración: Se determinó por conteo directo utilizando una cámara de Spencer modificada de Neubauer. (14,20) (eyaculados que no reunían un mínimo de 200×10^6 de espermatozoides por ml. fueron desechados).

d.- La determinación de vivos/muertos y anormales se efectuó con una tinción de Eosina-Nigrosina. (14,20) (solo se empleo para ser diluido, semen que contenía un porcentaje no mayor del 20% de anormalidades).

DILUCION Y ENFRIAMIENTO.- Efectuadas las pruebas anteriores el eyaculado se centrifugó durante 8 minutos a 1500-rpm. a fin de obtener un paquete de espermatozoides del cual el plasma era separado por decantación.

Los espermatozoides así tratados se diluían con una mezcla que contenía 20 g. de Tris-hidroxi-metil-amino-metano, 5 g. de fructuosa, 20% de yema de huevo y 1000 U.I. de penicilina G/ml. y 5% de glicerol.

La dilución se realizó a temperatura ambiente en una proporción de 1 a 3 según el método de Salamon y Visser (21), quedando una concentración de espermatozoides de 5.5×10^9 /-10 ml. Inmediatamente se tomó una muestra de ésta dilución para efectuar una nueva evaluación.

El semen así diluido, era introducido al refrigerador en un baño maría hasta descender a una temperatura de 5°C., dejándose estabilizar a ésta temperatura por un periodo de 2 a 3 horas antes de proceder a su envase en los popotes de plástico de 5 ml. (), previa homogenización.

Cada popote de plástico era marcado con el nombre del seminal y fecha de congelación. Para identificar a cada una de las razas, el diluyente se tiñó con un diferente colorante vegetal comestible.

CONGELACION Y ALMACENAMIENTO.- La congelación de los popotes con el semen se realizó colocando éstos en las rejillas metálicas a una altura de 5 cm. sobre el nitrógeno líquido en un termo criogénico (), permaneciendo así 15 minutos; tiempo en el cual la temperatura descendió a -100°C., sumergiéndose después en el nitrógeno líquido para ser almacenados.

Efectuada la congelación, el control de calidad se realizó tomando una muestra al azar para observar el número de es

-
- () PLASTICDS W. Marca Reg. Naucalpan, Edo. Mex. México.
 - () Mod. C.B.F. 21. Minnesota Valley Engineering.

permatozoides sobrevivientes y la recuperación espermática-- al colocar una gota del semen descongelado, en un portaobje-- tos previamente calentado a 37°C. y utilizando un microsco-- pio simple de campo claro con aumento de 100X.

Las dosis preparadas conteniendo cada una 10 ml. de se-- men concentrado congelado (2 popotes por aplicación), fueron-- distribuidas con el fin de comprobar la capacidad fertilizan-- te en diversas explotaciones porcinas ubicadas en los Esta-- dos de México, 410 dosis; Puebla, 260 dosis; Morelos, 120 dosis;-- Veracruz, 100 dosis; Michoacan 90 dosis; Guanajuato, 60 dosis;-- Tlaxcala, 30 dosis y D.F., 100 dosis.

INSEMINACION.- Las inseminaciones se realizaron previa-- detección de las cerdas en calor natural en sus corrales, pa-- ra lo que se siguió un sistema de detección de calores en el cual se observó a los animales dos veces al día como una ru-- tina básica para lo que se instruyó a los propietarios y en-- cargados de las explotaciones con anticipación. (25).

De acuerdo con Self (1961), Rodin y Lipatov (1936); Strat-- man (1961), Hancock y Hovell (1962); el momento del servicio -- es muy importante cuando se usa semen congelado, por lo que -- los servicios de inseminación artificial se realizaron entre las 24 y 30 horas después de iniciado el estro, en las cerdas primerizas y entre el 4º y 6º día en las adultas después del destete; efectuando un segundo servicio en casos de cerdas -- que continuaban en calor 24 horas después de haberse realizo el primer servicio. (3).

DESCONGELACION.- Para éste procedimiento se utilizó un-- diluyente para suspender el semen concentrado de los popotes-- de plástico y que se preparó de acuerdo a la siguiente fórmu-- la: 20 g. de Tris-hidroxi-metil-amino-metano y 10 g. de áci-- do cítrico monohidratado en agua bidestilada, envasándose de-- plástico con capacidad de 120 ml., poniendo solamente 90 ml.-- y conservándose en refrigeración hasta el momento de su uso.

Identificada la cerda en celo, se tomó un frasco del diluente y se colocó en baño maría a 40°C.

Del termo en que se conservan en nitrógeno líquido los popotes con el semen, se toman dos de éstos y se colocan en una caja de poliestireno seca y vacía por exactamente tres minutos. Transcurrido éste se corta uno de los extremos dejando pasar el contenido de los popotes a la botella que contiene el diluente entibiado a la temperatura mencionada, ya fuera del baño maría, agitando suavemente para homogenizar la suspensión y obtener un volumen final de 100 ml.

La inseminación de la cerda se realizó con un catéter de hule del tipo de Melrose (1,5,10,11), previa limpieza de los genitales externos; se introdujo el catéter en la forma ya establecida (dando giros hacia la izquierda, en sentido contrario a las manecillas del reloj), fijando el extremo libre a la botella de plástico con el semen descongelado y dejándolo fluir por gravedad o con una ligera presión sobre el recipiente de plástico empleando un tiempo aproximado de 10 a 15 minutos.

III . R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N .

De los diez sementales trabajados se obtuvieron 1,170-- dosis, de las cuales 535 correspondieron a la raza Landrace, 370 a la Hampshire, 220 a la Yorkshire y 45 a la Duroc.

En el cuadro 1., se presentan el número de hembras inseminadas, hembras que repitieron al servicio y el porcentaje-- de concepción obtenido, así como la entidad donde se inseminó.

El porcentaje de concepción obtenido por medio de la-- monta natural en las cerdas es por lo general del 75 al 80%-- y con un promedio de 9.0 lechones por camada al parto. Em-- pleando el semen congelado, se obtuvieron porcentajes de concepción inferiores a los producidos por la monta natural, va-- riando entre los diferentes lugares de aplicación, como en el caso de los Estados de México y Puebla que fueron los que ma-- yor porcentaje lograron en comparación con Morelos y Guana-- juato cuyo porcentaje es posible que se haya debido al mane-- jo y aplicación del semen congelado por parte de los encar-- gados de las granjas.

En el cuadro 2., se encuentran el número de lechones pro-- ducidos por cerda ya sea adulta ó primeriza, así como el to-- tal producido al parto promedio. Apreciándose camadas poco-- numerosas y con promedios inferiores a los obtenidos por me-- dio de la monta natural y aún con servicios con semen fresco.

Esto nos hace pensar que es posible que las inseminacio-- nes no hayan sido efectuadas en el momento preciso, por lo-- que el porcentaje de óvulos fecundados fué muy bajo.

En cuanto al diluyente empleado Tris-fructuosa-yema de-- huevo, se observaron mayores ventajas en relación con el daño acrosómico de los espermatozoides durante el proceso de la-- congelación; dando por consiguiente una mayor recuperación es-- permática; además de que la sal Tris-hidroxi-metil-amino-meta-- no es de fácil adquisición en el mercado a precio accesible.

En comparación con otros diluentes que son de complicada preparación, y como en el caso del citrato de Sodio que es el ingrediente más comunmente usado entre los diluentes del bovino, resulta ser tóxico y causar un mayor daño al acrosoma de los espermatozoides.

Por otra parte los resultados obtenidos por otros autores, encontramos que bajo el mismo sistema, Salamon y Visser (1971), inseminando tres veces en el mismo calor logran 63% de gestaciones y 7.6 lechones de promedio y 22% de gestaciones y 10.5 de lechones promedio por parto, en cerdas primerizas y adultas respectivamente; por lo que los resultados finales obtenidos pueden ser considerados como buenos, ya que sólo se inseminó una sola vez en la mayoría de las cerdas.

Cuadro 1.

Resultados obtenidos con la inseminación artificial utilizando dosis de 5.5×10^9 de espermatozoides.

Región.	número de in- seminaciones 1 ^o servicio.	repetidas a 60 días.	porcentaje de concepción.
D.F.	100	40	60.00 %
Guanajuato.	60	60	00.00 %
México.	390	93	76.15 %
	10	0	100.00 %
Michoacan.	90	40	55.55 %
Morelos.	120	100	16.66 %
Puebla.	200	50	75.00 %
	30	10	66.66 %
Tlaxcala.	30	10	66.66 %
Veracruz.	100	45	55.00 %
Total.	1130	448	60.35 %

2 servicios en el mismo calor.

Cuadro 2.

Número de lechones por parto promedio.

	PRIMERIZAS.	MULTIPARAS.	TOTALES.
Número de hembras.	904	226	1130
Número de lechones promedio por parto.	4	6	4.4
Total de lechones por parto.	3616	1356	4972

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

En vista de los resultados obtenidos bajo éste método-- de mejoramiento animal, en el que no se tomo en consideración a la raza de los verracos utilizados, en el que se insemina-- ron 1,130 cerdas; concluímos que éste método de congelación-- que ha sido analizado en éste trabajo, se puede llevar a cabo bajo las mismas condiciones; sin embargo es posible que en el futuro se desarrollen nuevas técnicas sobre la dilución y -- congelación del semen de verraco, para lograr mejores resul-- tados.

V. RESUMEN.

CONGELACION DE SEMEN PORCINO. GARBUNO ZINGK, RENE.

Asesor:

M.V.Z. JOAQUIN BECERRIL ANGELES.

Se inseminaron 1,130 cerdas provenientes de los Estados de México, Guanajuato, Michoacan, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz y del Distrito Federal; con el objeto de comprobar la capacidad fertilizante del semen congelado con el diluyente que contenía 20 g. de Tris-hidroxi-metil-amino-metano, 5 g. de fructuosa, 20% de yema de huevo y 1000 U.I. de penicilina G./ml. y 5% de glicerol. (método de Salamon y Visser).

Se utilizó la fracción rica en espermatozoides de los eyaculados de 10 sementales de las razas Hampshire, Yorkshire, Landrace y Duroc de diferentes edades, de dos granjas del Edo. de México. Todos los eyaculados fueron centrifugados a temperatura ambiente durante 8 minutos a 1500 rpm. y el plasma fue removido. Los espermatozoides así tratados fueron resuspendidos en proporción de 1 a 3 con el diluyente Tris-fructuosa-yema de huevo.

Todas las muestras de semen diluido fueron enfriadas a 5°C. en un tiempo de 2 a 3 horas y éste ya enfriado, se envasó en popotes de plástico comerciales con un contenido de 5 ml. aprox.; para proceder a su congelación en vapores de nitrógeno líquido. Inmediatamente se realizó una prueba de control de calidad, y más tarde se procedió a su almacenamiento en un termo con nitrógeno líquido.

Se procedió a inseminar a las hembras sólo una vez, 24 a 30 horas dentro del mismo calor, con 100 ml. por dosis conteniendo $5,5 \times 10^9$ de espermatozoides vivos; sólo 40 hembras se inseminaron 2 veces en el mismo calor.

La descongelación del semen se realizó en una caja de--

poliestireno vacía y seca colocando dos popotes por 3 minutos y utilizando 90 ml. de diluyente con 20 g. de Tris-hidroxi-metil-amino-metano y 10 g. de ácido cítrico monohidratado a 40°C.

Se obtuvo un porcentaje general promedio del 60.35% de concepción y 4.4 de lechones promedio por parto con un solo-servicio, en comparación con los resultados obtenidos bajo el mismo método que fueron de 42.5% de concepciones y 9.0 de lechones por camada promedio, utilizando 3 servicios en el mismo calor.

Además, en las cerdas que se inseminaron dos veces en el mismo calor, se observó un porcentaje mayor de concepción y por consiguiente un número elevado de lechones al parto.

Agosto 1^o/1978.

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

- 1.- Alvarez, T.M.: Inseminación Artificial en Porcinos. Impresión preparada especialmente para cursos de inseminación artificial, impartidos por el I.N.I.A.R.A. Direc.-- Gral. de Ganadería. México, D.F. 1974.
- 2.- Austin, C.R. and Short, R.V.: Artificial Control of Reproduction. Cambridge University Press. 1972.
- 3.- Borton, A., Jaworski, A., and Nellor, J.E.: Factors Influencing the Fertility OF NATURALLY AND ARTIFICIALLY MATED-- SWINE. Research Bulletin 8. Michigan State University. U.S.A. (1965).
- 4.- Calderon, D.H.: Contribución al estudio de la Inseminación Artificial en Cerdas. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1964.
- 5.- Carbajal, F.H.: Resultados Obtenidos en la Inseminación Artificial en Cerdas en México. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1962
- 6.- Crabo, E.G., Einarsson, S., Lamm, A.M., Soosalu, O. & Viring, S. Studies on the Fertility of Frozen Boar Spermatozoa. -- Proc. VIIth. Int. Congr. Animal Reprod. Munchen In Press. pag. 1649 a 1651. (1972).
- 7.- Crabo, B.G. and Graham, E.F.: Correlation Between Some Laboratory Methods for Evaluation of Boar Semen after Freezing. Proc. VIIth. Int. Congr. Animal Reprod. Munchen In Press. Pag. 1641 a 1643. (1972).
- 8.- Dukelow, W.R. and Graham, E.F.: Freezing of Porcine Semen. J. Anim. Sci., 21:1020. (1962).
- 9.- Einarsson, S.: Deep Freezing of Boar Spermatozoa. Depar-

tament of Obstetric and Gynaecology. Royal Veterinary--
College. Stockholm, Sweden. (1972).

- 10.- Galicia, S.P.: Importancia de la Inseminación Artificial en Cerdos Dentro de la Práctica de la Medicina Veterinaria. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med.Vet. y Zoot.--- Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.--- 1975.
- 11.- Goodwin, H. Derek.: Pig Management and Production. Hutchinson Educational L.T.D. London, England. 1975.
- 12.- Graham, E.F., Rajamannan, A.H.J., Schmehl, M.K.L., Maki-Laurila, M. and Bower, R.E.: Preliminary Report on Procedure-- and Rationale for Freezing Boar Semen. A.I. Digest. 19 (1):12-14. (1971 a).
- 13.- Graham, E.F., Rajamannan, A.H.J., Schmehl, M.K.L., Maki-Laurila, M. and Bower, R.E.: Fertility Studies With Frozen--- Boar Spermatozoa. A.I. Digest. 19 (6):6-16. (1971 b).
- 14.- Herrick, J.B. and Self, H.L.: Evaluation of Fertility in the Bull and Boar. Iowa State University Press. Ames--- Iowa, U.S.A. 1968.
- 15.- Hess, E.A., Ludwick, T.M. and Teague, H.S.: Motility of Boar Spermatozoa as Influenced by Semen Freezing Procedures. J. Anim. Sci. 19:926-931. (1960).
- 16.- Polge, C. and Parkes, A.S.: Preservation of Bovine Spermatozoa. Nature London. 164:666. (1949).
- 17.- Pursel, V.G. and Johnson, L.A.: Fertility with Frozen Boar Spermatozoa. Fertility Capacity of Frozen Boar Spermatozoa. J. Anim. Sci. 33:265. 1162. (1971).
- 18.- Pursel, V.G., Johnson, L.A. and Shulman, L.L.: Loss of Boar Sperm Fertilizing Capacity Associated with Altered Acro some Morphology During In Vitro Storage. Proc. VIIth.-

Int.Congr.Animal Reprod. Munchen In Press. pag.1597 a--
1600. (1972).

- 19.- Richter,L. and Liedicke,A.: Method of Deep Freezing of-
Boar Semen. Proc. VIIth. Int.Congr.Animal Reprod. Mun--
chen In Press. pag.1617. (1972).
- 20.- Salisbury,G.W. y Vandermark,N.L.: Fisiología de la Re--
producción e Inseminación Artificial de los bovidos. --
Edit. Acribia. Zaragoza,España. 1965.
- 21.- Salamon,S. and Visser,D.: Insemination with Frozen Boar
Semen. Proc. VIIth. Int.Congr.Animal Reprod. Munchen In
Press. pag.1646. (1972).
- 22.- Senegacnik,J. and Bajt,G.: Adaptability of Some Dilu---
ters for Boar Semen. Proc. VIIth. Int.Congr.Animal Re--
prod. Munchen In Press. pag.1589 a 1590. (1972).
- 23.- Smidt,W.J.: Comparison Between Some Know Extenders for
Boar Sperm. Proc. VIIth. Int.Congr.Animal Reprod. Mun--
chen In Press. pag.1585 a 1588. (1972).
- 24.- Vicente,A.: Technology of Freezing Boar Semen. Proc.---
VIIth. Int.Congr.Animal Reprod. Munchen In Press. pag.1
624 a 1626. (1972).
- 25.- Wilkins,J.: BOAR TALK. March. pag.1 a 4. Ontario Swine-
A.I. Assoc. Woodstock. Ontario.Canada. (1977).
- 26.- Wilmut,I. and Polge,C.: Freezing of Boar Spermatozoa.--
Proc. VIIth. Int.Congr.Animal Reprod. Munchen In Press.
pag.1612 a 1615. (1972).