

“INSEMINACION ARTIFICIAL EN VACUNOS DEL URUGUAY”

Por los Dres. LEON C. ARAGUNDE (I), CARLOS H. CARLEVARO CASTELLA (II) y el Br. LUIS A. SARAVIA (III).

Trabajo realizado en el Departamento de Genética e Inseminación Artificial de la Facultad de Veterinaria del Uruguay.

INTRODUCCION

Abordamos en este trabajo la aplicación de las técnicas de Inseminación Artificial en vacunos, que aún en nuestro medio no han alcanzado la magnitud y trascendencia que tienen en los países donde se preocupan por el mejoramiento zootécnico de acuerdo a orientaciones modernas.

Convencidos de la utilidad práctica del método, se ha ido incrementando su aplicación en forma paulatina, hasta llegar a los niveles de entidad que han adquirido, por ejemplo en el ganado lechero sobretodo, en aquellas naciones como: Dinamarca que en el año 1952, dispuso para la Inseminación Artificial de 1.012,942 vacunos, es decir 63'8 % del total; Gran Bretaña con 1.032,912, lo que representa un 39 % de su stock; Holanda con 665.779 cabezas correspondiendo al 26'6 % de su total y los Estados Unidos de Norte América donde en el mismo año se inseminaron 4.295,243. (3)

Las cifras precedentes significan un importante aumento con relación a los años anteriores. Con ello han conseguido mejorar sensiblemente los índices de producción en cantidad y calidad.

No entramos aquí a detallar antecedentes históricos tan profusamen-

-
- I) Jefe del Dpto. de Genét. e Ins. Artif. de la Fac. de Veterinaria. Jefe de Scio. de la Div. de Ind. Animal de la Dción. de Ganadería.
 - II) Prof. Agreg. de Obstetricia. Ayte. Téc. del Dpto. Genét. e Ins. Artif. de la Fac. de Veterinaria. Insp. Vet. de la Div. Ind. Anim. de la Dción. Ganadería.
 - III) Estudiante de la Facultad de Veterinaria.

REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

te citados por otros autores entre los cuales se destaca el profesor T. Bonadonna, Director del Instituto "Lázaro Spallanzani". (1)

En nuestro país, se realizaron experiencias de Inseminación Artificial en vacunos en pequeña escala, dan cuenta de ello los Dres. Riet, Etchenique y Jaunsolo. (7)

En algunos establecimientos pecuarios se aplicó esta técnica preferentemente en lanares; hasta la fecha en ningún caso salvo en la Cooperativa Nacional de Productores de Leche, se adoptó el sistema de Centros de Inseminación con la organización integral que poseen otros países.

Con la finalidad de contribuir con nuestro aporte a la divulgación del método nos decidimos a publicar nuestros trabajos, realizados sobre vacunos de razas lecheras (Holando) y de razas de carne (Hereford).

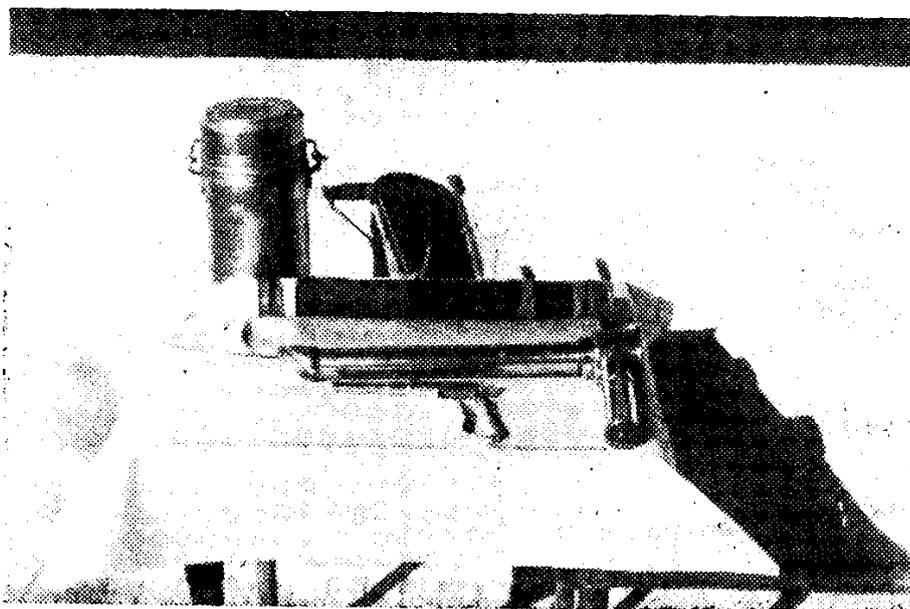


Foto Nº 1

Teniendo en cuenta al llevarlo a la práctica, las particularidades requeridas en cada tipo de explotación.

Los lotes de vacunos utilizados fueron: En la raza holandesa vacas y vaquillonas concentradas en predios de la Cooperativa Nacional de Productores de Leche, de pedigrée algunas y puras por cruce otras y cuatro toros de pedigrée. Con respecto a la raza Hereford se emplearon vacas y vaquillonas de rodeos generales y dos toros puros de pedigrée importados de Inglaterra del establecimiento del Sr. Justino Saravia, ubicado en la 9ª Sec. Policial del Departamento de Cerro Largo.

Debemos destacar la importancia para el éxito del procedimiento, de la incidencia en cuanto a métodos de reproducción se refiere, de las al-

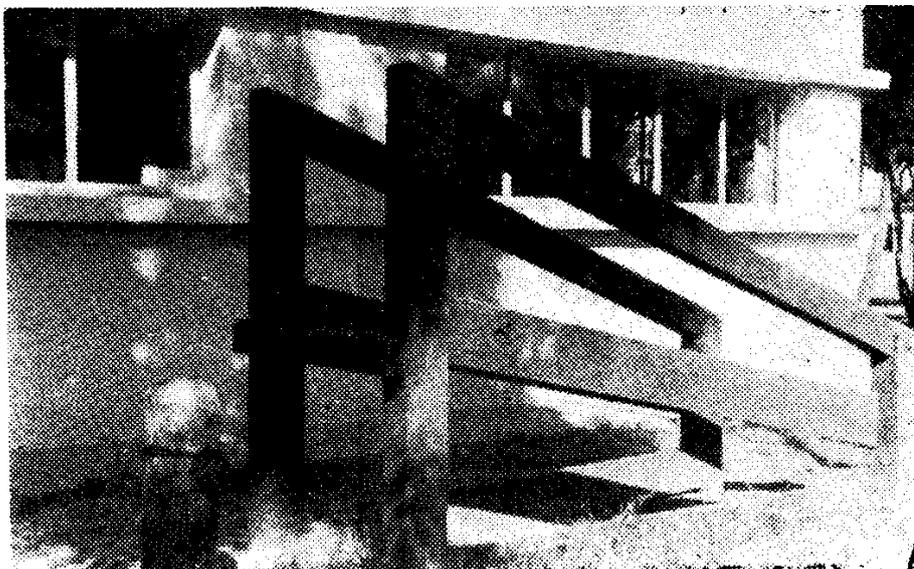


Foto Nº 2

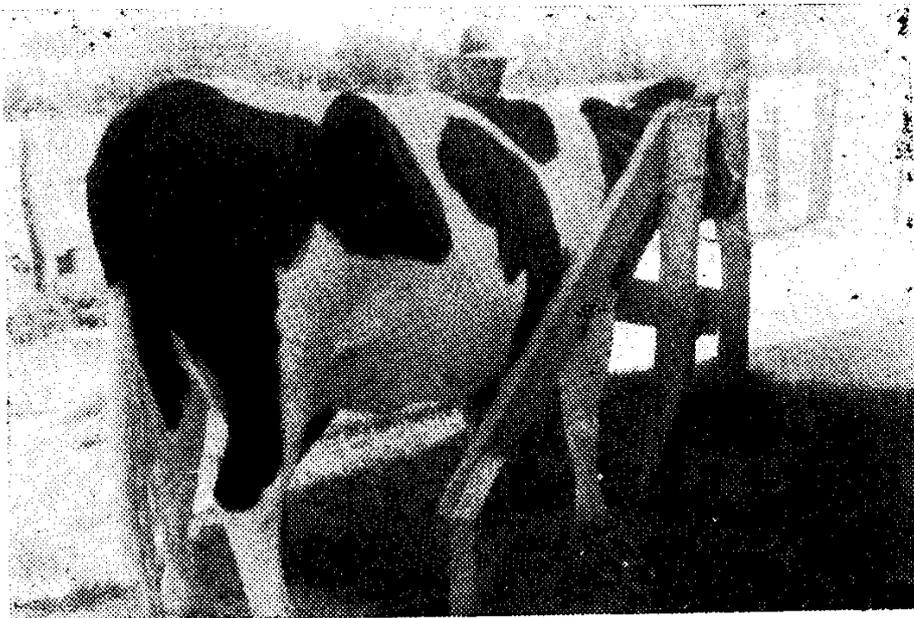
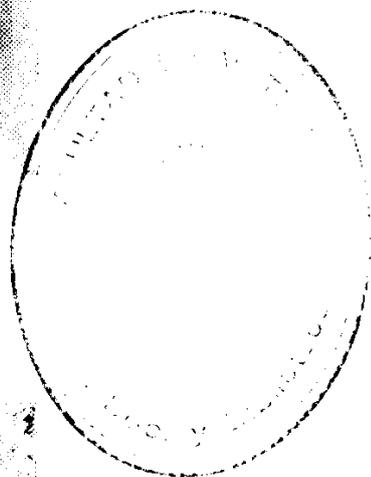


Foto Nº 3

teraciones transitorias o permanentes de los órganos genitales. Es evidente que los trastornos de cualquier índole, en la fertilidad de las vacas o de los toros modifican sustancialmente, no sólo la resultante fecundación, sino que además determinan un lastre económico al impedir entrar en producción a un número elevado de individuos.

MATERIALES Y METODOS

1º) Colección del esperma. —

Las colecciones se practicaron empleando vagina artificial, cuyas características pasamos a describir: (Foto N° 1).

Un tubo de goma rígido de 0,45 cms. de largo por 0,05 cms. de diámetro interior, con una perforación de 0,015 cms. de diámetro practicada a 0,10 cms. de la extremidad libre. Un caño de goma blanda de 0,55 cms. de largo por 0,05 cms. de diámetro que se introduce en el anterior doblando los extremos sobrantes de manera de formar una cámara para llenarla con agua caliente, se le da mayor fijeza con bandas de goma elástica. El orificio de 0,015 cms. citado se tapa con una faja de goma de 0,04 cms. de ancho y 0,05 de diámetro, que oficia a la vez de tapón y de válvula de escape, cuando aumenta la presión interior al introducirse el pene. En la extremidad anterior de la vagina artificial se adapta una pieza tronco cónica de goma con 0,05 cms. de diámetro en su parte ancha y 0,015 cms. en la parte angosta, donde se coloca un tubo de centrífuga graduado para coleccionar y medir el semen. Las medidas anotadas son las corrientes, en algunos casos el volumen del pene del macho dador hizo necesario emplear mayores diámetros. El brete donde se realizaron las colecciones presenta las características que pueden apreciarse en la fotografía N° 2 y 3. Se emplearon como señuelo vacas sin tener en cuenta su estado o no de celo.

La temperatura interior de la vagina artificial fué en todos los casos de 42 a 45 grados centígrados.

El lubricante empleado fué el de:

Goma tragacanto	3 gramos
Glicerina	5 c.c.
Agua destilada	50 c.c.

Preparado en el momento.

Dadas las particularidades diferentes de explotación, el método se adaptó a las mismas.

En la raza Holando, se hacen dos colecciones por semana exigiendo a los machos dos eyaculados por vez. Distinguimos a los toros dadores en la forma siguiente:

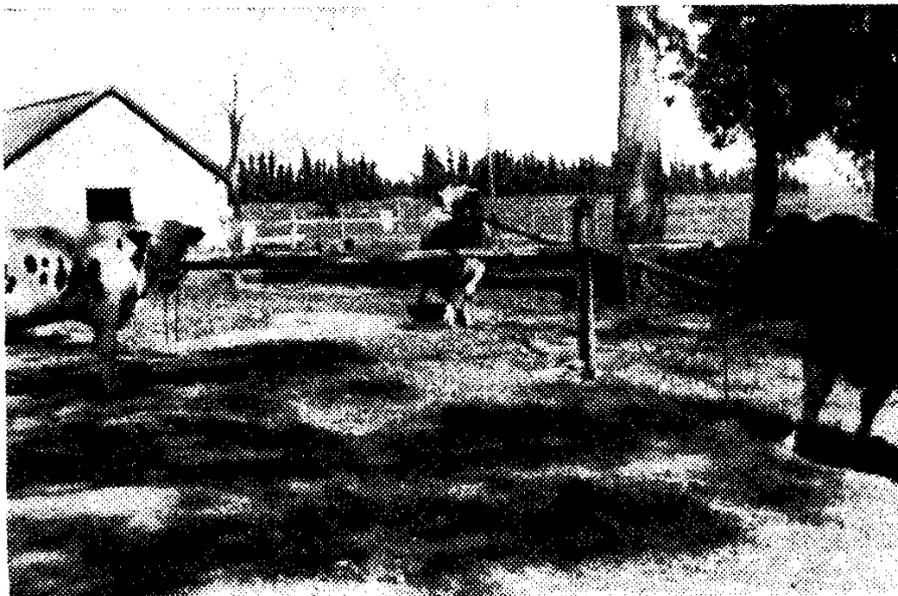


Foto Nº 4

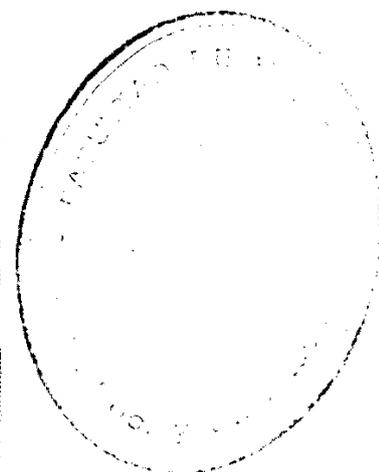


Foto Nº 5

REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

- Toro N° 1 de 10 años de edad.
- Toro N° 2 de 3½ años de edad.
- Toro N° 4 de 3 años de edad.
- Toro N° 14 de 2½ años de edad.

En lo que respecta a los vacunos Hereford, que cumplieron vida pastoril todo el año y servicios estacionales, hacemos las colecciones en días alternos.

Empleamos como dadores los toros siguientes:

- Toro N° 20 de 2 años de edad.
- Toro N° 21 de 3 años de edad.

Todos los machos puros de pedigrée inscriptos en el Herd Book uruguayo.

La alimentación de los sementales no difiere de la corriente para vacunos, con el agregado de sales minerales y elementos trazas como suplementos (iodo, manganeso, etc.).

El alojamiento en amplios establos para obtener un ambiente más fresco en el verano. Cumpliendo en pequeños potreros durante todo el año vida pastoril la mayor parte del día. Con la finalidad de aumentar el ejercicio físico natural se dispuso de un torno mecánico como puede observarse en la fotografía N° 4 y 5, obligándoseles a desplazamientos en círculo durante cuarenta minutos diarios.

2º) Valoración del semen. —

En seguida de colectar el esperma es sometido en el laboratorio a exámenes, reveladores de su calidad (4). Se efectuaron dos tipos de observaciones:

A) Examen de rutina en cada colección para el control de los siguientes índices:

A la observación macroscópica:

- Volumen.
- Movilidad de masa.
- Color.
- Opacidad.

A la observación microscópica:

- Determinación de movilidad, valorada en escala de quintos.
- Densidad.
- Morfología (Método de Burri).

B) Un examen completo efectuado cada quince días (y en todos los casos que se apreciaron alteraciones en los exámenes de rutina).

A los índices antedichos, se agregaron las siguientes determinaciones:

- a) concentración (Cámara de Burker).

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

- b) Poder de dehidrogenación. (Reducción del azul de metileno).
- c) Coeficiente de resistencia.
- d) Relación entre los espermatozoides vivos y muertos. (Método de Easley, Lasley y McKenzie). (5)
- e) Porcentaje de elementos anormales. (Índice de Kursok y Miller).
- f) Grado de madurez y presencia de corpúsculo cefálico. (Técnica de Fumagalli). (2)
- g) Integridad de la cápsula lipóide. (Método de Unna).

No es interés de esta comunicación entrar al estudio de fertilidad del semen, pero debemos señalar que los toros Nos. 2, 4, 14, 20 y 21 merecieron la clasificación de **Muy Buena Fertilidad**, con un espermatozoide en forma promedial como: D/5, con más de un millón de espermatozoides por milímetro cúbico, un poder para reducir el azul de metileno entre tres y cuatro minutos, porcentaje mínimo de formas anormales, y la casi totalidad de los elementos Gram positivos.

En cuanto al toro N^o 1, su fertilidad fué algo menor.

Hemos comprobado en los meses de verano, un descenso marcado del poder fecundante paralelo a la presencia de mayor número de espermatozoides Gram negativos. (6)

Por esta causa sólo se empleó el material de aquellos toros que señalaron menor variación en su calidad.

El toro Hereford N^o 20, al iniciarse los trabajos, sufrió traumatismo testicular, circunstancia que fué aprovechada para observar en forma paralela a las características del espermatozoide, su poder fecundante, y al efecto fueron sembradas en cada etapa pequeños lotes de vacas que no se consideran en esta publicación.

3º) Diluciones. —

Empleamos con tal finalidad la técnica de Salisbury (8 y 9) citrato de sodio M/15 con yema de huevo en partes iguales). El grado de dilución osciló entre 1:3 y 1:8, determinado por la calidad del material colectado, y la demanda del mismo en función del número de vacas en celo.

En los casos de muestras clasificadas como D/3, se empleó el espermatozoide puro.

4º) Conservación. —

Se aplicó el método general de descenso paulatino de la temperatura, partiendo del semen diluido desde 35º centígrados hasta 5º centígrados

R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

bajando de 5 en 5 cada 20 minutos, disponiendo para ello de termos con agua fría a distintas temperaturas.

El límite de tiempo para el uso del esperma conservado fué de 35 horas. Sometiéndolo a una investigación microscópica previa antes de su empleo.

5º) **Determinación del celo.** —

Las hembras a inseminar se encontraban en potreros no muy extensos. Los apartes de las que presentaban síntomas de celo, fueron efectuados por los peones de los acontecimientos que dos veces por día realizaban una recorrida, separando todas las que revelaban el reflejo de acoplamiento, acompañado por la presencia de secreciones vaginales adheridas a la cola y nalga, completada por el estado de inquietud y las actitudes adoptadas que en conjunto para el personal experimentado, denotan con clara evidencia éste estado del ciclo sexual.

6º) **Inseminación.** —

Empleamos el siguiente material:

Una jeringa de 5cc., montada en una armadura metálica (foto N° 11), que se conecta con una cánula de vidrio de 0'45 centímetros de largo, mediante una unión consistente en pequeño trozo de caño de goma. Un espéculo tubular con iluminación propia. (Foto N° 1).

En el caso de las hembras lecheras la inseminación se realiza, dada la mansedumbre de las mismas en los propios ataderos de ordeño, en las que estaban en lactación. Las secas fueron llevadas a un brete tipo Muttoni. (Foto N° 6 y 7). Igual procedimiento con las vacas Hereford.

Colocado el espéculo se introduce la cánula un centímetro entre el primero y segundo anillo cervical inyectando lentamente un centímetro cúbico del material diluido. Se empleó una cánula estéril para cada vaca, y el espéculo fué higienizado primero con agua y luego desinfectado con alcohol etílico a 60 grados después de cada inseminación. (Debemos destacar que en los casos en que éstas hembras manifestaron alteraciones de genitales fueron eliminadas trabajándose sobre individuos sanos).

Las siembras se hicieron a partir de la segunda mitad del comienzo del celo. Es decir que aquellas hembras apartadas por la mañana se sembraron de tarde y las apartadas por la tarde al otro día de mañana.

Se identificaron las vacas inseminadas, por medio de caravanas colocadas en la oreja derecha con número de orden y serie.

En algunas vacas fué necesario realizar segunda inseminación y en número menor una tercera en celos subsiguientes.

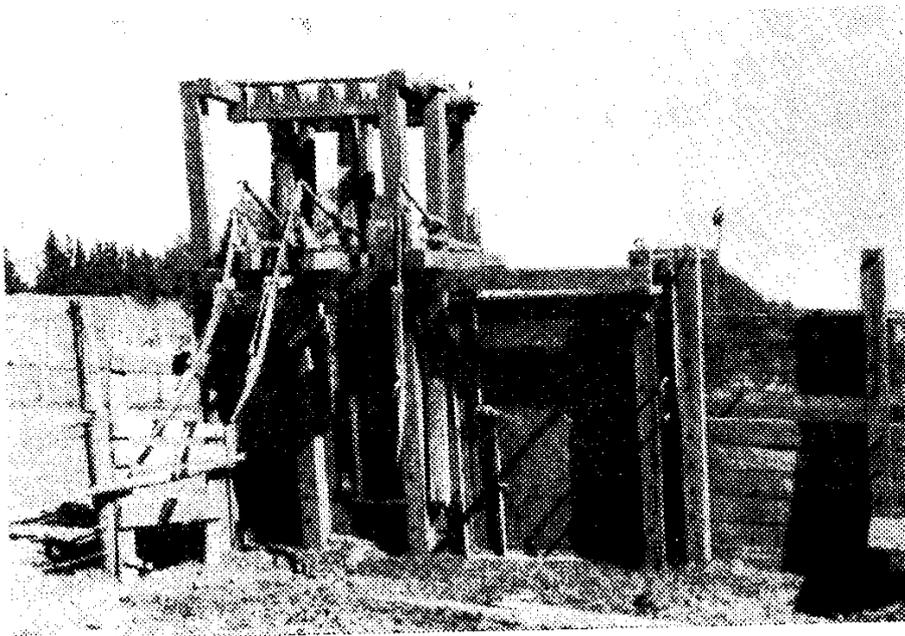


Foto Nº 6

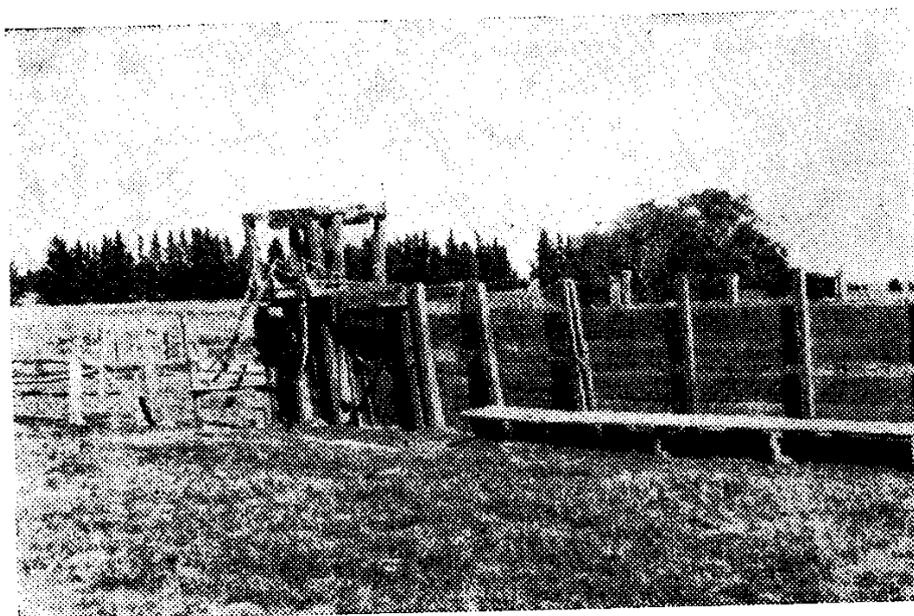


Foto Nº 7

R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

Todas aquellas hembras que al ser exploradas por vía rectal o mediante el espéculo, revelaron alteraciones patológicas o anomalías, se separaron dejándolas sin inseminar, para tratarlas ulteriormente, o darles otro destino con la finalidad de no interferir en la estimación de los resultados finales. Esto nos permitió apreciar el grado de incidencia de las alteraciones de los órganos genitales en las dos razas con sistema de explotación característico de cada una.

R E S U L T A D O S

En la raza holandesa los éxitos se valoran en su mayoría por la apreciación de preñez visible y en menor número por la ausencia de las manifestaciones del celo durante cuatro períodos consecutivos.

En el caso de las vacas Hereford, los resultados para adaptarlos al sistema de crianza de los establecimientos de campo fueron considerados de acuerdo al número de terneros nacidos. Este sistema tiene el inconveniente de hacer incidir en las conclusiones de las inseminaciones todas las alternativas de la madre, pero estimamos más adecuado su empleo en base a dar cifras absolutas y que pueden compararse con los servicios de monta natural.

En los cuadros números 1 y 2, se encuentran resumidos los datos obtenidos en nuestro trabajo. Como puede notarse en el ganado holandés, se obtuvo en conjunto un 79,28% de inseminaciones fecundantes.

Si se consideran los toros Nos. 2, 4, y 14 aisladamente, reputados de acuerdo a los análisis de esperma como muy fértiles, el porcentaje entonces resulta promedialmente de un 85,94% quedando para el toro N° 1, que fué clasificado con un nivel de fertilidad disminuído, un porcentaje de fecundaciones de 73,99%.

En el cuadro N° 2, para la raza Hereford, se aprecia un mejor porcentaje de fecundaciones.

R E S U M E N :

Se realizó Inseminación Artificial en dos lotes de vacunos de razas Holandesa y Hereford, empleándose el método de siembra con vaginoscopio tubular y jeringa de inseminación con cánula de vidrio.

Los porcentajes obtenidos en los animales holandeses, no difieren de los comunicados en otros países citados en la bibliografía. En cuanto a resultados en raza Hereford, de mayor difusión en nuestro medio como productora de carne, criados en las praderas durante todo el año, señalamos el 93,33% de terneros nacidos obtenidos con 60, 30 y 3% de primera, segunda y tercera inseminación respectivamente. En el mismo estable-

C U A D R O N° 1

RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR INSEMINACION ARTIFICIAL EN GANADO LECHERO (HOLANDES)

Total de vacas	Toro N°	N° de Inseminaciones fecundantes en:			Total	Porcentaje de las Inseminaciones positivas en:			Total	N° de Inseminaciones no fecundantes	Porcentaje de Inseminaciones no fecundantes
		1ª	2ª	3ª		1ª	2ª	3ª			
124	II	81	23	4	108	75	21,3	3,7	87	16	3
504	I	180	134	69	383	47	35	18	73,99	121	24
65	14	45	9	2	56	80,36	16,07	3,57	86,15	9	13,80
693	—	306	166	—	547	44,15	23,95	10,82	78,92	146	21,08
(1) 60	4	—	—	—	50	—	—	—	83,33	10	16,67
753	—	—	—	—	597	—	—	—	79,28	156	20,72

(1) No se discriminan las 1ras., 2das y 3ras. siembras por falta de identificación de las vacas expresándose los resultados en número de nacimientos.

C U A D R O N° 2

RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR INSEMINACION ARTIFICIAL EN GANADO DE CARNE (HEREFORD)

Total de vacas.	Toro N°	N° de Inseminaciones fecundantes en:			Total	Porcentaje de las Inseminaciones positivas en:			Total	N° de Inseminaciones no fecundantes	Porcentaje de Inseminaciones no fecundantes
		1ª	2ª	3ª		1ª	2ª	3ª			
(1) 100	20	60	30	3	93	60	30	3	93	7	7
(2) 35	21	—	—	—	33	—	—	—	94,29	2	5,71
135	—	—	—	—	126	—	—	—	93,33	9	6,67

(1) Los porcentajes expresan número de terneros nacidos

(2) No se discriminan las 1ras., 2das. y 3ras. siembra por falta de identificación de las vacas, expresándose el resultado en número de nacimientos.

R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

cimiento en años anteriores, con servicio de monta natural, empleando 3% de toros, obtuvieron 75% de terneros.

El porcentaje de resultados obtenidos en la raza Hereford frente a la Holandesa, debe atribuirse a las condiciones de explotación y no a características de menor fertilidad.

La crianza de Hereford, en vida pastoril y buena alimentación crea óptimas condiciones de normalidad vital que incluye lógicamente al aparato reproductor y traduce los resultados expuestos.

CONCLUSIONES.

1) En igualdad de condiciones respecto a normalidad genital los resultados de Inseminación Artificial en nuestro medio sobre vacas Holandesas son similares a los obtenidos en otros países.

2) En la raza Hereford, el resultado obtenido en Inseminación Artificial es netamente superior a los proporcionados por servicios de monta natural.

3) El mejoramiento zootécnico, lucha contra enfermedades genitales, y aumento del porcentaje de procreo, inducen a intensificar la aplicación de la Inseminación Artificial, en rodeos de razas productoras de carne o leche, adaptando la organización en forma compatible con los requisitos diferenciales de crianza.

4) Los resultados en 1ª, 2ª y 3ª Inseminación, reflejan como dominante, en el éxito aplicativo del método, las características de fertilidad del semen utilizado.

ABSTRACT.

Artificial Insemination was carried out in two lots of cows, one belonging to Holandesa breed and the other to Hereford breed. The technique used was the tubular vaginoscope and insemination syringe with glass canula.

The percentages obtained in holandesa cows do not differ with those included in the consulted bibliography of other countries. Compared with the Hereford breed — of greater diffusion in our country as meat producer — bred in free pasture during the whole year, we obtained the 93,33% of borned calves obtained with 60,30 and 3% of first, second and third insemination respectively. At the same farm with natural fecundation using 3% of bulls, the results were of 75% of calves.

The greater percentage of Hereford breed compared with Holandesa breed, could be attributed to the exploitation conditions and not to lesser fertility of the later.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

The Hereford breeding in free pasture with good feedings creates excellent conditions for vital normality that logically includes the genital apparatus.

CONCLUSIONS:

1)) In the same conditions in connection with genital normality, the results of artificial Insemination, in our country with Holandesas cows, is similar to those obtained in other countries.

2) In the Hereford breed, the results obtained with Artificial Insemination are superior with those with natural facundation.

3) The zootechnical selection, control and prevention of genital diseases, and increase in the percentage of procreation, indicates the convenience of using the Artificial Insemination in meat and milk producing animals, adopting the organization to the behaviour of each breed.

4) The results in first, second and third insemination, indicates as dominant in the success of the method, the characteristics of fertility of the semen used.

RESUME.

On a fait insémination artificielle dans deux lots de bovine de race Holandaise et Hereford, en employant la méthode de semence avec le vaginoscopie tubulaire et seringue d'insémination avec un tube de verre.

Les pourcentages obtenus dans les animaux hollandais sont égales à celui communiqué par les pays cités dans la bibliographie. Quant à les résultats dans la race Hereford de plus diffusion dans notre moyen par sa production de viande, nourris dans les prairies pendant toute l'année, nous marquons le 93,33% des veaux nés obtenus avec le 60,30 y 3% de première, seconde et troisième insémination respectivement.

Dans le même établissement dans des ans antérieurs avec un service naturel en employant 3% de taureaux, ont obtenu 75% de veaux.

Le pourcentage supérieur de résultats obtenus dans la race Hereford vis à vis de à la Holandaise on doit attribuer aux conditions d'exploitation et non à des caractéristiques de moindre fertilité de la race.

La production du Hereford, dans une vie pastorale et une bonne nourriture produit les meilleures conditions de vie normale qui enferme son appareil reproducteur traduit par les résultats exposés.

CONCLUSION:

1) Dans les mêmes conditions en relation à la normalité génitale les résultats de I. A. dans notre moyen sur des vaches Hollandaises est égale à celui obtenus dans les autres pays.

2) Dans le race Hereford que se cultive en vie pastoral et en bonnes conditions de nutrition le résultat obtenu en I. A. est supérieur au emploi de services natural.

3) L'amélioration zootechnique, lutte contre des maladies genitales et augmente le pourcentage de la procréation, fait une indication pour intensifier l'application de I. A. dans des races qui produient de la viande ou de la lait, en adaptant l'organisation en une forme compatible avec les conditions différentiels de la nourriture des races.

4) Les résultats dans la 1ere 2eme et 3eme Insemination, réfléchissent comme dominant le succès applicatif du méthode. caractéristiques de fertilité du sperme utilisé.

HAUPTINHALT.

Es wurde bei zwei Rindviehpartien, bestehend aus Hollaender- und Herefordrasse, kuenstliche Insemination veranstaltet, wobei die Befruchtungsmethode angewandt wurde, die sich mit einem tubularem Vaginoskop und einer Inseminationspritze mit Glasroehre behilft.

Die bei den Hollaendertieren erhaltenen Prozente, schweifen von denjenigen nicht ab die in anderen Laendern angekuendigt sind und die in der Literatur vermerkt sind. Betreffend der Herefordrasse, die als Fleischproduzent viel mehr in unserem Bezirk verbreitet ist, und das ganze Jahr hindurch auf freien Kaempfen gezuechtet wird, signieren wir 93.33% von geborenen Kaelbern, erhalten 60, 30 und 3% durch je erste, zweite und dritte betreffende Insemination. In dem selben Establisement in vorhergehenden Jahren hat man mittels natuerlicher Deckung und Anstellung von 3% Bullen, 75% Kaelber erhalten.

Der in der Herefordrasse erhaltenen hoehere Prozentsatz in Resultaten, gegenueber der Hollaenderrasse ist der verschiedenen Wirtschaftsmethode zuschulden kommen zu lassen und nicht einer minderwertigen Charakteristik der Fruchtbarkeit der Rasse.

Die Zucht des Hereford auf freiem Kamp mit gutem Futter, verursacht einen besten Zustand der normalen Vitalitaet, was selbstverstaendlich den Reproduktionsapparat mit einschliesst und die hier angegebenen Resultate bezeugt.

FOLGERUNGEN:

1) In gleichen Bedingungen, betreffend genitales Normalitaet, sind die Resultate, der in unserem Bezirk durchgefuehrten kuenstlichen Insemination auf Hollaenderkuehe, denen anderer Laender gleich.

2) Das erzielte Resultat durch kuenstliche Insemination bei Herefordrasse ist echt erhabener als das der natuerlichen Deckung.

3) Die zootechnische Verbesserung, Kampf gegen die Krankheiten der Geschlechtsteile und Erhoehung des Prozentos der Zeugung, weisen eine intensievere Anwendung der kuenstlichen Insemination zu machen, mit Beachtung der Fleisch- und Milchrassen, wofuer die Organistion in vertraeglicher Form mit den verschiedenen Anforderungen der Zucht der Rassen aneignen muss.

4) Die Resultate der ersten, zweiten und dritten Insemination spiegeln als Hauptsache in dem Erfolg der Anwandtsmethode die Fruchtbarkeitscharakteristik des angewandten Samens zurueck.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA. —

- 1) Bonadonna T. — Nozioni di tecnica della Fecondazione Artificiali degli animali. — Vol. I. Cap. I. 1948.
- 2) Bonadonna T. Fumagalli Z. 1941. Su un nuovo ottenuto col método di Gram holla testa dello spermatozoo di bos taurus durante il cosi dette período di maturazione delle vie genitali. La Fec. Artif. degli Animali. Año III. Nº 9. XIX.
- 3) Bonadonna T. — La Fecondazione Artificiale nei paesi zootecnicamente piu progrediti. Zootecnica e Veterinaria (Milano) Año VIII. Nº 8. Agosto 1953.
- 4) Bonadonna T. — Problemi Biologici e Tecnologici della Fecondazione Artificiale. Nº 7 Collana Tec. Scient. L. Spallanzani. 1953.
- 5) Lasley J. Easley G. y F. McKenzie. — A Staining method for the differentiation of live and dead spermatozoa. University of Missouri College of Agriculture. Circular Nº 292. May. 1944.
- 6) Massironi G. — Propietá tintoriali e capacítá fecondative del nemastermi bovini. La Fecon. Artif. degli animale. Año V. Nº 12 y Año VI Nº 1 de Enero 1943 y 44.
- 7) Riet J. Etchenique L. y Jaunsolo D. — Publicación del Campo Experimental de la Dirección de Ganadería del Uruguay. 1941.
- 8) Salisbury G. W. Fuller H. R. y Willelt E. Z. — Preservation of Bovine Spermatozoe in Yolk citrate diluent and Field Results from its use. J. Dairy Science 24:905.910. 1941.
- 9) Salisbury G. W. Elliott I. and N. van Demarck — Further studies of the effects of dilusion rate on the fertility of bull semen. used for Artificial Insemination. J. of Dairy Science. Vol 28 Nº 3. March. 1945.