

VALORACION COMPARATIVA DEL SEMEN DE LAS GALLINACEAS

CON EL METODO DE BURBANK Y EL DE LA CAMARA DE RECUENTO

Por ALBERTO M. GAMERO ¹

A. GENERALIDADES

No obstante la evolución cada vez más acentuada que se va produciendo en la explotación racional de las aves, el avicultor, especialmente aquel que se dedica a la práctica de cabaña, experimenta trastornos que se traducen en una pérdida de tiempo y dinero, como una consecuencia de la manifiesta infertilidad puesta en evidencia por los padres de planteles en el control que se efectúa a través de las distintas incubaciones.

La eliminación de dicho inconveniente es posible incorporando a las prácticas actualmente sustentadas en la selección de los machos que se destinan a la reproducción — ya se trate de la inseminación natural o artificial — la valoración cualitativa y cuantitativa del semen que ellos producen, lo cual además de invertir a dicha tría de un cierto carácter científico reportará innumerables beneficios desde el punto de vista práctico-económico.

Referente a la valoración cualitativa del semen no entraremos a su consideración por cuanto ha sido objeto de estudio en un trabajo anterior del autor (1945), dejando constancia de que su determinación, ya sea por los métodos macro o microscópicos más difundidos, se halla sujeta, como también lo sostienen otros autores, a un factor netamente subjetivo, propio de cada operador; no obstante lo cual, al detallar los resultados logrados en nuestro ensayo hemos consignado los datos obtenidos de dicha valoración, en cada una de las muestras de semen controladas.

¹ Ingeniero agrónomo. Profesor interino de Industrias de la Granja.

La determinación del valor cuantitativo reconoce, al igual que en el caso anterior, métodos macro y microscópicos, pero no cabe lugar a duda que los últimos reúnen una serie de condiciones que, si bien requieren minuciosidad y delicadeza en el desarrollo de su técnica, hacen posible la obtención de valoraciones que se aproximan a la exactitud ideal; sin embargo, presentan el inconveniente de requerir instrumentos que por su elevado costo de adquisición no se encuentran aún al alcance de los productores avícolas especializados, a lo cual se une la necesidad de haber reunido una serie de conocimientos y amplia capacidad de trabajo, en razón de lo fatigosa que resulta dicha tarea.

Las razones expuestas han sido las que indujeron a buscar entre los métodos macroscópicos uno que, aunque relativamente menos exacto, respondiera a los fines propuestos, es decir, un método de valoración que por su simplicidad, costo reducido y rapidez de trabajo, estuviera al alcance del avicultor.

De acuerdo a la consulta bibliográfica efectuada, relacionada con los métodos rápidos de standardización de la densidad del semen, solamente fueron encontrados dos: uno, basado en el empleo del colorímetro fotoeléctrico, y otro, en la determinación por nefelometría, cuyo principio se funda en la medición de la opacidad del semen. Entre los investigadores que realizaron estudios del primer método son dignos de destacar a Comstock y Green, debido a sus experiencias en carneros, mientras que en el segundo se distinguió Burbank por sus trabajos en semen de humanos y cerdos. Posteriormente Salisbury, Beck, Elliot, Willett, Mónaco, Kyaw, Parsutin y Rumjanцева se han distinguido por sus ensayos comparativos de ambos métodos, especialmente en la valoración rápida del semen de toro.

La imposibilidad de encontrar, durante la búsqueda bibliográfica realizada, algún trabajo que se relacionara con estos mismos métodos aplicados en las gallináceas, fué un mayor acicate para efectuar el intento de llenar el claro existente.

El estudio de los métodos indicados llevó a la conclusión de que si bien el colorímetro fotoeléctrico permite eliminar los errores debido al factor subjetivo a que se ha hecho referencia, su utilización requiere un instrumental costoso y mayores conocimientos técnicos, mientras que el método de Burbank no ofrece ninguno de dichos inconvenientes, pero en cambio proporciona resultados menos exactos.

Los fines propuestos y el deseo de poder determinar las posibilidades aplicativas y el coeficiente de error del método Burbank en un

estudio comparativo de valoración del semen de *Gallus Domesticus* con la cámara de Thoma, han sido las causales de los ensayos realizados.

B. MATERIAL Y MÉTODOS

El material utilizado en estos ensayos ha provenído de 56 reproductores de distintas razas, que fueron puestos a disposición para ese efecto por las entidades avícolas: Asociación Argentina de Criadores de Aves, Conejos y Abejas, Asociación Avícola Platense y Cooperativa de Criadores de Aves y Conejos Ltda.

La obtención del semen se efectuó de acuerdo a la técnica de Burrows y Quinn modificada, según fuera descripta por el autor (1945, 1950).

a) *Método de Burbank*. — El fundamento de este método, como se ha expresado anteriormente, se basa en la determinación de la concentración de nemaspermas por nefelometría, es decir, en la medición de la opacidad de la muestra de semen en diluciones tipo.

La preparación de la escala «standard», según la técnica indicada por Comstock y Green (1939), consiste en preparar separadamente y en una dilución del 1 por ciento una suspensión de sulfato de bario y una solución de citrato de sodio; luego, cada una de dichas diluciones se proceden a mezclar, en tubos de igual calibre, en las proporciones que se indican en el cuadro I, obteniéndose una serie de opacidades patrones.

Según Mónaco (1943), es conveniente agregar en cada tubo unos cristales de timol para impedir el crecimiento micro-bacteriano, así como también dos o tres perlititas de vidrio de aproximadamente 3 milímetros para facilitar la homogeneización de la suspensión de sulfato de bario, en el acto de efectuarse las valoraciones, debido a la floculación que se produce lentamente, en razón de su insolubilidad en el medio empleado.

La valoración de los sémenes de animales mayores — bovinos y ovinos — se efectúa, según Mónaco (1943), diluyendo 0,1 cc de la muestra en 9,9 cc de solución fisiológica, empleándose tubos de igual material y calibre que el de los patrones, agregándosele dos o tres perlititas de vidrio. Sin embargo, en nuestro trabajo se ha procedido a ensayar el reemplazo de la solución fisiológica por la de citrato de sodio al 1 por ciento, desde el momento que ésta se encuentra en elevada proporción en todos los tubos patrones.

CUADRO I

Composición de la escala « Standard » (s Comstock y Green, 1939)

Tubo n°	Suspensión de Sulfato de Bario al 1 %	Solución de Citrato de Sodio al 1 %
1.....	0,50 cc	9,50 cc
» 2.....	0,75 »	9,25 »
» 3.....	1,00 »	9,00 »
» 4.....	1,25 »	8,75 »
» 5.....	1,50 »	8,50 »
» 6.....	1,75 »	8,25 »
» 7.....	2,00 »	8,00 »

Considerando que la comparación de las opacidades del tubo a valorarse y la escala es prácticamente imposible llevarla a efecto con la luz natural, se procedió a la construcción de un comparador (fig.1), provisto de una fuente luminosa intensa situada a distancia fija. Además, para hacer la valoración más rápida y exacta se procedió a colocar, como lo indica el autor antes mencionado, un tejido de alambre de malla fina (2 mm) entre los tubos y el foco, midiéndose el grado de opalescencia de la muestra por comparación con los tubos patrones, lográndose idéntica opacidad cuando la trama de dicho tejido se divide a través de los mismos con igual nitidez. Luego, para designar cuál es la opalescencia de la muestra en cuestión lo referimos al número del tubo de la escala con que más se asemeja, expresándose que un semen corresponde, por ejemplo, a un Burbank 1 cuando su dilución es de una transparencia prácticamente igual a la del tubo patrón n° 1 de la escala.

b) *Método de recuento en la cámara de Thoma.* — La técnica correspondiente a este método es la utilizada para el recuento globular, que permite establecer la cantidad de espermatozoides correspondientes a un volumen determinado de semen.

Técnica empleada. — Según Fisher (1938) la técnica utilizada, ya empleada con anterioridad por el autor (1945), es la siguiente:

1° *Carga de la pipeta:* La pipeta comúnmente utilizada para glóbulos rojos, se lava primero con agua y después con alcohol etílico, secándola a la acción del calor. Luego se introduce su extremidad aguda en el tubo que contiene el material — previa homogeneización del mismo — aspirándolo hasta la marca 0,5 ó 1 de acuerdo a la dilu-

ción deseada — 1 en 200 ó 1 en 100, respectivamente — ; en los ensayos practicados se utilizó la primera de ellas.

Durante esta operación es conveniente mantener la pipeta en una posición tal que forme un ángulo recto con la línea de visión; además, su punta debe estar sumergida en el semen para evitar la aspiración de burbujas de aire. Si el esperma llega a pasar el nivel deseado, el excedente se puede eliminar apoyando la extremidad de la pipeta sobre una gasa previamente humedecida.

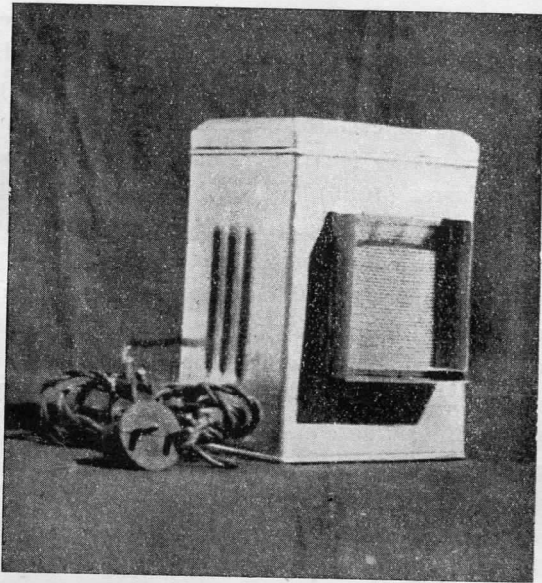


Fig. 1. — Comparador empleado, construido por el autor. (Foto original)

Una vez alcanzada dicha marca, se seca inmediatamente el exceso de material adherido en su punta, volviéndose a sumergir la pipeta en una solución de alcohol etílico al 1 por ciento — diluidora y fijadora de los espermatozoides —, aspirándose hasta llegar a la graduación 101. Luego, colocando la pipeta en posición horizontal se la somete durante 1 ó 2 minutos a un movimiento de rotación, para lograr una homogeneización lo más completa posible del medio.

2. *Carga de la Cámara:* Una vez homogeneizada la dilución y desechadas las primeras gotas, se aplica la punta de la pipeta en el borde de una cámara cuentaglobulos, completamente limpia, y se hace salir una pequeña gota que luego, al colocarse el cubreobjeto se extiende,

cubriendo perfectamente toda la superficie de la cámara, pues de ser mayor rebasa en los surcos laterales, produciéndose corrientes líquidas que, generalmente, modifican la uniformidad de la dilución.

Para lograr que la profundidad de la cámara sea lo más exacta posible es necesario ejercer una ligera presión a la vez que un muy pequeño desplazamiento del cubreobjeto, considerándose que recién se logra ese propósito cuando en su superficie de contacto con el cuentaglobulímetro se produce la formación de halos de contornos nítidos.

Preparada la cámara en la forma descripta, se la deja apoyada sobre una superficie horizontal, que bien puede ser la misma platina del microscopio, durante 5 ó 10 minutos, para que se produzca la sedimentación de los espermatozoides, con lo que se consigue observarlos en un mismo plano focal, evitándose así los inconvenientes que Sampson y Warren (1939) han atribuido a este método.

3. *Recuento* : Para efectuar el recuento se ha empleado el método indicado por el mismo autor, que consiste en contar — para la dilución 1 en 200 — los espermatozoides existentes en cinco cuadrados grandes, a su vez divididos cada uno de ellos en 16 más pequeños, situados en distintas zonas del retículo.

Con el fin de evitar posibles confusiones respecto a las gametas situadas sobre las líneas, se consideraron como pertenecientes a un mismo cuadro las que se encontraban sobre la superior e izquierda, descartándose las situadas en las otras dos — inferior y derecha.

Efectuado el recuento de los espermatozoides contenidos en los 80 cuadrados pequeños, se multiplicó la cifra obtenida por 10.000, lográndose el número de nemaspermas que existe en un milímetro cúbico de semen.

La constante 10.000, a que se ha hecho referencia, proviene del desarrollo de la fórmula siguiente :

$$C = \frac{n \cdot d \cdot 400}{N \cdot 0,1}$$

donde :

C, es el número de espermatozoides por milímetro cúbico ;

n, es el número de espermatozoides obtenidos en el recuento ;

d, es el grado de dilución ;

400, es una constante, indicada en la cámara, que expresa que la superficie de cada cuadradito es de $\frac{1}{400}$ de milímetro cuadrado ;

N , es el número de cuadraditos sobre los que se efectuó el recuento ;

$0,1$, es una constante, que corresponde a la altura de la cámara.

Procediendo a reemplazar en la fórmula a los símbolos por sus valores respectivos, tenemos :

$$C = \frac{n \cdot 200 \cdot 400}{80 \cdot 0,1} = \frac{n \cdot 80.000}{8} = n \cdot 10.000$$

C. ENSAYOS Y RESULTADOS

Los ensayos se realizaron siguiendo un orden cronológico dividido en dos etapas: una, macroscópica, relacionada con el estudio del volumen, color, densidad y determinación de la concentración por nefelometría, y otra, microscópica, consistente en el examen en gota pendiente de la densidad, movilidad — según la escala Rusa —, tipo de movimiento y recuento de nemaspermas en la cámara de Thoma, evitándose con ello incurrir en el error de apreciación en que se podría caer si se efectuara en primer lugar la valoración en el cuentaglobulímetro.

Los primeros ensayos comparativos entre el método de Burbank y la cámara de Thoma, han demostrado que no es posible efectuar la valoración de un semen en la dilución indicada, ya sea con solución fisiológica o citrato de sodio al 1 por ciento, debido a la opalescencia tan reducida que presentan; tal es así que muestras que revelaron en el recuento una concentración de 4 a 5 millones de espermatozoides por milímetro cúbico, al ser llevadas al nefelómetro estaban por debajo del Burbank n° 1.

CUADRO II

Composición de la escala « Standard A »

Tubo n°		Suspensión de Sulfato de Bario al 1 %	Solución de Citrato de Sodio al 1 %
1/A	0,20 cc	9,80 cc
»	2/A	0,40 »	9,60 »
»	3/A	0,60 »	9,40 »
»	4/A	0,80 »	9,20 »
»	5/A	1,00 »	9,00 »
»	6/A	1,20 »	8,80 »
»	7/A	1,40 »	8,60 »
»	8/A	1,60 »	8,40 »
»	9/A	1,80 »	8,20 »
»	10/A	2,00 »	8,00 »

Las razones expuestas determinó que se introdujera una modificación en el tipo de dilución de la muestra, empleándose 0,2 cc de semen y 9,8 cc de cualquiera de los líquidos diluyentes.

Observaciones subsiguientes demostraron que aún con las variaciones introducidas, las diluciones de sémenes con concentraciones superiores a 2 millones de espermatozoides por milímetro cúbico eran inferior al mismo Burbank.

Considerando que las recolecciones promedio de semen oscilan entre 0,5 y 0,6 cc, el aumento de su volumen en la dilución determinaría, en muchos casos, la imposibilidad de efectuar el control nefelométrico, por las cantidades menores obtenidas. Esto, unido al hecho observado de que entre un tubo patrón y el que le antecedió o seguía en la escala existía, para el semen de gallináceas, zonas intermedias amplias que correspondían a una diferencia promedio, entre sus extremos, de 1.200.000 espermatozoides por milímetro cúbico, indujo a la modificación del comparador, de acuerdo a la composición que se indica en el cuadro II.

El análisis de los resultados logrados con este nuevo Burbank demostró que entre los tubos patrones preparados persistían zonas intermedias que, aunque menores, involucraban concentraciones comprendidas entre los límites teóricos de 500.000 espermatozoides por milímetro cúbico, indicando, en consecuencia, que a cada una de dichas zonas correspondía un nuevo tubo en la escala.

CUADRO III
Composición de la escala < Standard B >

Tubo n°		Suspensión de Sulfato de Bario al 1 %	Solución de Citrato de Sodio al 1 %
1/B	0,20 cc	9,80 cc
»	2/B	0,30 »	9,70 »
»	3/B	0,40 »	9,60 »
»	4/B	0,50 »	9,50 »
»	5/B	0,60 »	9,40 »
»	6/B	0,70 »	9,30 »
»	7/B	0,80 »	9,20 »
»	8/B	0,90 »	9,10 »
»	9/B	1,00 »	9,00 »
»	10/B	1,10 »	8,90 »
»	11/B	1,20 »	8,80 »
»	12/B	1,30 »	8,70 »
»	13/B	1,40 »	8,60 »
»	14/B	1,50 »	8,50 »
»	15/B	1,60 »	8,40 »

Por otra parte, se comprobó que la posibilidad de efectuar valoraciones nefelométricas superiores al Burbank 8/A era muy difícil, debido a que la observación de la trama del alambre tejido a través de los tubos resultaba prácticamente nula, lo cual no constituyó un inconveniente en la aplicación del método, en razón de que ya son excepcionales los reproductores que llegan a alcanzar la producción de un semen con 7 u 8 millones de espermatozoides por milímetro cúbico.

Las razones expuestas determinaron la preparación de un nuevo Burbank, en el que se suprimieron los tubos 9/A y 10/A, cuya composición se detalla en el cuadro III.

Sobre cada una de las sesenta muestras de semen que posteriormente se controlaron, se realizó la valoración con los tres tipos de Burbank, según se indica en el cuadro IV, siendo el Burbank «B» el que proporcionó resultados más exactos. Además, el análisis de las cifras obtenidas demostró que el error de apreciación — factor subjetivo — por nefelometría, ha sido de ± 50.000 espermatozoides por milímetro cúbico, comparado con los resultados proporcionados por el recuento de la cámara de Thoma.

CUADRO IV
Resultados correspondientes a distintas valoraciones de sémenes

Número de Orden	Cantidad de semen recolectada cc	Aspecto y Color	Densidad al microscopio	Movilidad en quintos (-)	Burbank original	Burbank « A »	Burbank « B »	Cantidad de espermatozoides por mm ³
1.....	0,3	lig. opalescente	0	—	—	—	—	Azoospermia
2.....	0,6	opalescente	1	1/5	menor de 1	menor de 1/A	menor de 1/B	290.000
3.....	0,4	»	1	1/5	»	1/A	1/B	1.040.000
4.....	0,5	»	1	2/5	»	lig. mayor de 1/A	»	1.130.000
5.....	0,4	»	1	2/5	»	entre 1/A y 2/A	»	1.280.000
6.....	0,8	lig. blanco-lechoso	2	2/5	»	»	2/B	1.460.000
7.....	0,3	»	2	3/5	lig. menor de 1	2/A	3/B	1.855.000
8.....	0,5	blanco-lechoso	3	3/5	»	lig. mayor de 2/A	»	2.290.000
9.....	0,4	»	3	3/5	1	entre 2/A y 3/A	4/B	2.310.000
10.....	0,7	»	3	3/5	1	»	»	2.420.000
11.....	0,5	»	3	3/5	1	»	»	2.560.000
12.....	0,6	»	3	3/5	lig. mayor de 1	»	»	2.560.000
13.....	0,5	»	3	3/5	»	»	»	2.665.000
14.....	0,4	»	3	3/5	mayor de 1	lig. menor de 3/A	5/B	2.815.000
15.....	0,4	»	4	4/5	entre 1 y 2	3/A	»	2.985.000
16.....	1,0	»	4	4/5	»	»	»	3.080.000
17.....	0,3	»	4	4/5	»	»	»	3.080.000
18.....	0,6	»	4	5/5	lig. menor de 2	entre 3/A y 4/A	6/B	3.460.000
19.....	0,5	»	4	4/5	»	»	»	3.530.000
20.....	0,3	»	4	5/5	»	»	»	3.540.000
21.....	0,7	»	4	5/5	»	»	»	3.630.000
22.....	0,6	»	4	5/5	»	»	»	3.710.000
23.....	0,5	»	4	4/5	2	»	»	3.780.000
24.....	0,3	»	4	5/5	lig. mayor de 2	4/A	7/B	4.000.000
25.....	0,3	»	4	5/5	»	»	»	4.000.000
26.....	0,3	»	4	5/5	»	»	»	4.000.000

30.....	0,3	»	4	4/5	entre 2 y 3	entre 4/A y 5/A	8/B	4.375.000
31.....	0,6	»	4	5/5	»	»	»	4.395.000
32.....	0,6	»	5	5/5	»	»	»	4.550.000
33.....	0,5	»	5	5/5	3	5/A	9/B	4.700.000
34.....	0,8	»	5	5/5	3	»	»	4.840.000
35.....	0,4	»	5	5/5	3	»	»	4.950.000
36.....	1,0	»	5	5/5	3	»	»	4.960.000
37.....	1,0	»	5	5/5	3	»	»	4.980.000
38.....	0,95	»	5	5/5	3	»	»	5.080.000
39.....	0,5	»	5	5/5	lig. mayor de 3	lig. mayor de 5/A	»	5.125.000
40.....	1,0	»	5	5/5	»	»	»	5.185.000
41.....	0,8	»	5	5/5	»	entre 5/A y 6/A	10/B	5.320.000
42.....	0,5	»	5	5/5	»	»	»	5.516.600
43.....	0,5	»	5	5/5	»	»	»	5.560.000
44.....	0,5	»	5	5/5	»	»	»	5.625.000
45.....	0,8	»	5	5/5	entre 3 y 4	»	»	5.710.000
46.....	0,6	»	5	5/5	»	»	»	5.735.000
47.....	0,3	»	5	5/5	»	lig. menor de 6/A	11/B	5.750.000
48.....	0,5	»	5	5/5	»	6/A	»	5.800.000
49.....	0,5	»	5	5/5	lig. menor de 4	»	»	5.940.000
50.....	0,6	»	5	5/5	»	»	»	5.950.000
51.....	0,6	»	5	5/5	»	»	»	6.040.000
52.....	0,9	»	5	5/5	»	»	»	6.110.000
53.....	0,9	»	5	5/5	4	lig. mayor de 6/A	»	6.300.000
54.....	0,6	»	5	5/5	lig. mayor de 4	entre 6/A y 7/A	12/B	6.375.000
55.....	0,8	»	5	5/5	lig. menor de 5	7/A	13/B	6.800.000
56.....	0,8	»	5	5/5	»	»	»	6.810.000
57.....	0,8	»	5	5/5	»	»	»	6.900.000
58.....	0,7	»	5	5/5	»	»	»	6.940.000
59.....	0,5	»	5	5/5	»	»	»	7.190.000
60.....	0,4	»	5	5/5	lig. mayor de 5	8/A	15/B	8.000.000

(.) Según la Escala Russa.

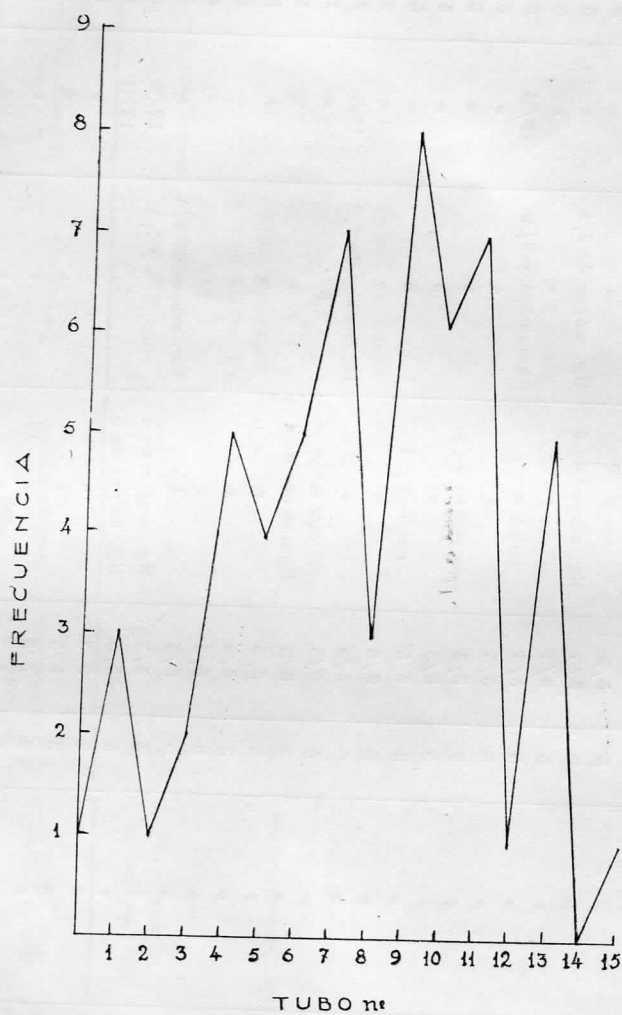


Gráfico I. — Frecuencia nefelométrica

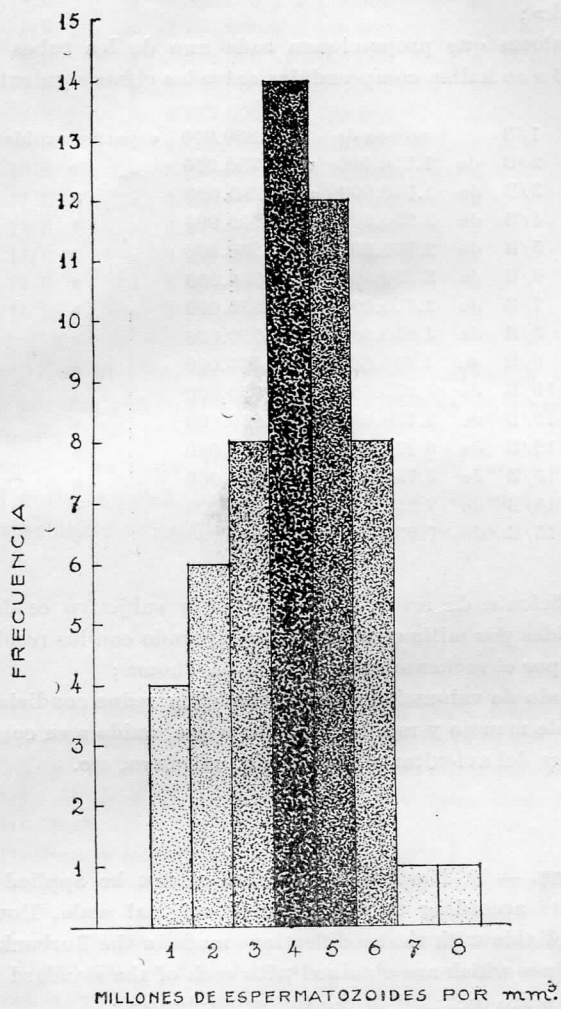


Gráfico II. — Frecuencia de las distintas concentraciones de espermatozoides

Conclusiones. — 1º El método de Burbank no puede ser utilizado con resultados satisfactorios de acuerdo a la escala «Standad» original, siendo en cambio perfectamente aplicable con las modificaciones efectuadas en el Burbank «B»;

2º Los valores que proporcionan cada uno de los tubos patrones del Burbank «B» se hallan comprendidos entre las cifras siguientes :

Tubo nº	1/B	menos de	1.250.000	espermatozoides por mm ³
»	2/B	de 1.250.000 a	1.750.000	»
»	3/B	de 1.750.000 a	2.250.000	»
»	4/B	de 2.250.000 a	2.750.000	»
»	5/B	de 2.750.000 a	3.250.000	»
»	6/B	de 3.250.000 a	3.750.000	»
»	7/B	de 3.750.000 a	4.250.000	»
»	8/B	de 4.250.000 a	4.750.000	»
»	9/B	de 4.750.000 a	5.250.000	»
»	10/B	de 5.250.000 a	5.750.000	»
»	11/B	de 5.750.000 a	6.250.000	»
»	12/B	de 6.250.000 a	6.750.000	»
»	13/B	de 6.750.000 a	7.250.000	»
»	14/B	de 7.250.000 a	7.750.000	»
»	15/B	de 7.750.000 a	8.250.000	»

3º El coeficiente de error debido al factor subjetivo es de ± 50.000 espermatozoides por milímetro cúbico, comparado con los resultados suministrados por el recuento en la cámara de Thoma ;

4º El método de valoración por nefelometría reúne condiciones tales de simplicidad de manejo y rapidez de trabajo que, unido a su costo reducido, está al alcance del avicultor especializado, cabañero, etc.

Conclusions. — 1º The Burbank method cannot be applied with satisfactory results according to the standard original scale. However, it is perfectly applicable with the modifications made in the Burbank «B» ;

2º The values which are obtained with each of the standard tubes of the Burbank «B» are included in the following figures :

Tube n°	1/B	less than 1.250.000	spermatoon	per mm ³		
»	2/B	from 1.250.000	to 1.750.000	spermatozoon	per m ³	
»	3/B	»	1.750.000	»	2.250.000	»
»	4/B	»	2.5000.00	»	2.750.000	»
»	5/B	»	2.750.000	»	3.250.000	»
»	6/B	»	3.250.000	»	3.750.000	»
»	7/B	»	3.750.000	»	4.250.000	»
»	8/B	»	4.250.000	»	4.750.000	»
»	9/B	»	4.750.000	»	5.250.000	»
»	10/B	»	5.250.000	»	5.750.000	»
»	11/B	»	5.750.000	»	6.250.000	»
»	12/B	»	6.250.000	»	6.750.000	»
»	13/B	»	6.750.000	»	7.250.000	»
»	14/B	»	7.250.000	»	7.750.000	»
»	15/B	»	7.750.000	»	8.250.000	»

3° The coefficient of error due to the personal equation is ± 50.000 spermatozoon per mm³, as compared with the results obtained by counts in the Thomacell;

4° The method of valuation by nephelometry offers such a simplicity of handling and working speed that, together with its low cost, is within the reach of the specialized aviculturist, poultry breeders, etc.

BIBLIOGRAFIA

- BURBANK, R. C., *The quantitative standardization of sperm suspensions by means of opacity*. — *Quart. Journ. Expt. Physiology*. 25 : 393-397. 1935.
- COMSTOCK, R. E. y W. W. GREEN, *Methods for semen evaluation. I. Density, respiration, glycolysis of semen*. — *Amer. Soc. Anim. Prod. Proc.*, 1939 : 213-216.
- FISHER, A., *Prácticas de laboratorio*. Buenos Aires, 1938.
- GAMERO, A. M., *La Fecundación Artificial en las Gallináceas*. — *Ingeniería Agronómica*, T. 7, n° 1-2. 1945.
- MÓNACO, W. G. H., *Estudio comparativo entre el método de Burbank y el de la cámara Thoma para el recuento de nemaspermas*. — *Fac. de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires*, 1943 (no publicado).
- PARSUTIN, G. y E. RUMJANCEVA, *Standards for determining density of stallion sperm*. — *Konesvodstov.*, 12 : 44-45. 1938.
- SALISBURY, G. W.; G. H. BECK; I. ELLIOT; E. L. WILLET, *Rapid methods for estimating the number of spermatozoa in bull semen*. — *Journ. Dairy Sci.*, 26 : 69-78. 1943.
- SAMPSON, F. R. y D. C. WARREN, *Density of suspension and morphology of sperm in relation to fertility on the fowl*. — *Poultry Sc.* 18 (4) : 301. 1939.