



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN

Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

CAMBIO DE JAULA Y EXPOSICIÓN A MACHOS EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE CONEJAS INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE

TESIS

**Que como requisito parcial
para obtener el grado de:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

MARÍA CRISTINA REYES GUILLÉN

Bajo la supervisión de: RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA, Ph.D.



Junio de 2010

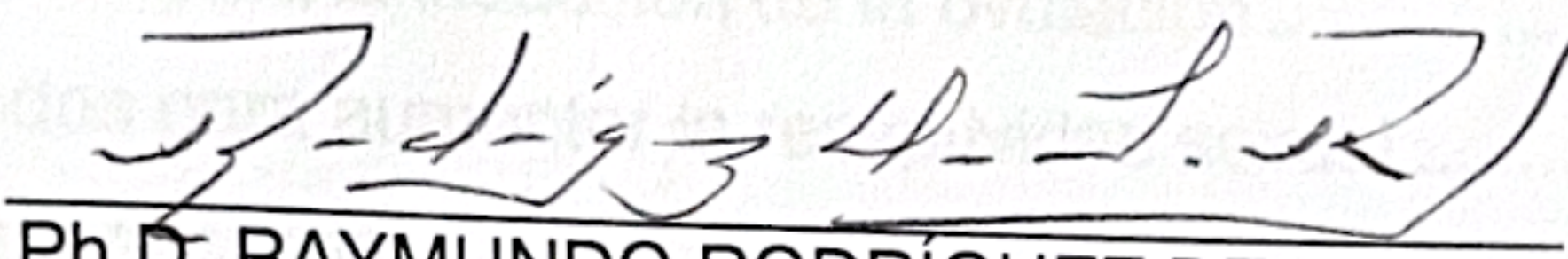
Chapingo, Estado de México

CAMBIO DE JAULA Y EXPOSICIÓN A MACHOS EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE CONEJAS INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE

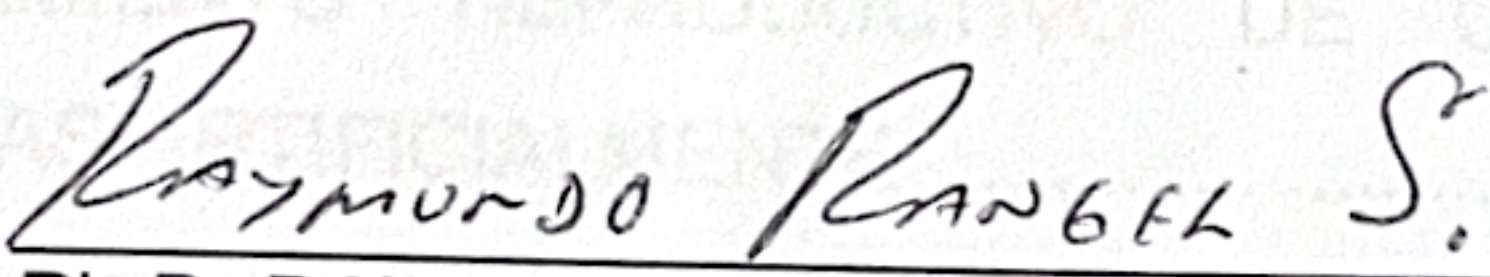
Tesis realizada por **MARÍA CRISTINA REYES GUILLÉN** bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

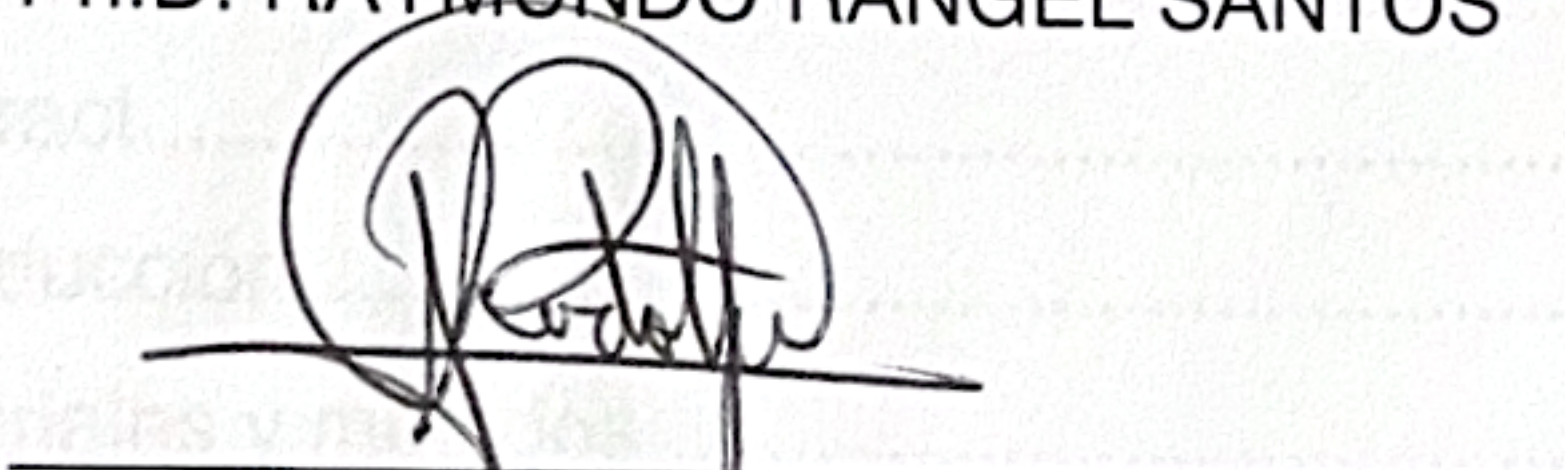
DIRECTOR:


Ph.D. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR:


Ph.D. RAYMUNDO RANGEL SANTOS

ASESOR:


Ph.D. RODOLFO RAMÍREZ VALVERDE

CONTENIDO

	<i>Página</i>
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	viii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 El ciclo estral y la ovulación en la coneja	3
2.2 Ventajas de la inseminación artificial (IA).....	4
2.3 Características relacionadas con la fertilidad de los conejos	5
2.4 Factores ambientales que afectan el comportamiento reproductivo ..	11
2.5 Métodos para la inducción de la ovulación.....	16
2.6 Métodos para aumentar la receptividad sexual	18
2.7 Literatura citada	21
3. CAMBIO DE JAULA Y EXPOSICIÓN A MACHOS EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE CONEJAS LACTANDO INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE	30
3.1 Resumen.....	30
3.2 Abstract	31
3.3 Introducción.....	32
3.4 Materiales y métodos	33
3.5 Resultados y discusión.....	37
3.6 Conclusiones	44
3.7 Literatura citada	44

LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) para el efecto del cambio de jaula y exposición a macho en la tasa de partos y tamaño de camada en conejas lactando.	39
Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) para la interacción del cambio de jaula y exposición al macho en la tasa de partos y tamaño de camada en conejas lactando.	40

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Esquema del mecanismo de ovulación en conejas (Adaptado de Alvariño, 1993).....	4
Figura 2. Distribución del número de inseminaciones y partos en relación con el intervalo del parto a la inseminación en conejas.	38
Figura 3. Efecto del cambio de jaula en la tasa de receptividad de conejas lactando en relación con la exposición al macho.	38

DEDICATORIA

A mis padres *María y Moisés* por su apoyo y consejos a cada momento, que me han permitido ser mejor persona (con valores, analítica, valiente y de retos) para enfrentarme a los diferentes episodios de la vida.

A mis hermanas: (*Rubí, Paty y Norma*) por su cariño y comprensión que me han dado cada momento.

A mis hermanos (*Juan, Cesar y Jesús*) por ser parte de mi familia.

Sinceramente Cristy

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de enfrentar nuevos retos en el camino del saber.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Producción Animal del Departamento de Zootecnia por darme la oportunidad de terminar una meta más en mi vida profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico recibido para realizar mis estudios de maestría.

Al Centro de Investigación Científica del Estado de México A.C. por la apoyo de infraestructura para llevar a cabo el experimento.

AL Ph.D. Raymundo Rodríguez De Lara por compartir conocimientos, entusiasmo, tiempo y apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

Al Ph.D. Raymundo Rangel Santos y Ph.D. Rodolfo Ramírez Valverde por su tiempo, apoyo y sugerencias en el desarrollo de esta investigación.

A todos los profesores del posgrado por su contribución en mi formación académica.

Con afecto Cristy

DATOS BIOGRÁFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: María Cristina Reyes Guillén
Fecha de nacimiento: 15 de enero 1982
Lugar de nacimiento: Tonalá, Jalisco
CURP: REGC820115MJCYL R04
Profesión: Ingeniería en Agronomía
Cédula profesional: 5619304



DESARROLLO ACADÉMICO

1999 - 2002 Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario 103
Cosío, Aguascalientes, México.

2002 - 2007 Ingeniería en Agronomía
Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes

2008 - 2009 Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera
Posgrado en Producción Animal
Departamento de Zootecnia
Universidad Autónoma Chapingo

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La inseminación artificial en conejos es una tecnología reproductiva comúnmente usada en los países europeos, debido a su fácil implementación y a su alta relación beneficio/costo (Mocé *et al.*, 2003). Además, el eyaculado de un macho puede utilizarse para inseminar un gran número de hembras, lo que ha permitido reducir los costos de mantenimiento de sementales en las empresas cunícolas (Vicente *et al.*, 2008).

El éxito del uso de la inseminación artificial en empresas cunícolas comerciales depende de la presencia de receptividad sexual y ovulación de las hembras (Gómez-Ramos *et al.*, 2005). Algunos estudios han mostrado mayores tasas de ovulación en conejas cuando se aplica GnRH (Uzcategui y Johnston, 1992). Según Vicente *et al.* (2008), en los años más recientes las granjas comerciales productoras de carne de conejo están aumentando la receptividad sexual de las hembras, a través de la aplicación de hormonas y bioestímulos en el momento del empadre.

Quintela *et al.* (2004) mostraron que se puede incrementar la receptividad sexual de conejas, mediante la aplicación de hormonas sintéticas, como la gonadotropina coriónica equina (eCG); sin embargo, su alto costo y la respuesta inmunológica de los animales tratados, hacen que esta tecnología tenga poca viabilidad técnica y financiera para su uso comercial rutinario en el largo plazo.

Algunos investigadores (Castellini *et al.*, 1998; Bonanno *et al.*, 1999; Gómez-Ramos *et al.*, 2005) recomiendan continuar con la evaluación de métodos naturales para aumentar la receptividad sexual de las hembras, como la separación de las conejas de sus crías, la presencia del macho de forma continua o por períodos cortos, y el control de la alimentación. En este Capítulo 1 se pretende justificar el estudio de métodos alternativos para incrementar la receptividad sexual de las conejas.

En el Capítulo 2 se presenta una revisión bibliográfica con los principales resultados de estudios para aumentar la receptividad sexual y tasa de ovulación de las conejas.

En el Capítulo 3 se incluye un artículo científico que tiene como propósito evaluar el comportamiento reproductivo de conejas cambiadas de jaula y expuestas a los machos durante cuatro horas antes de la inseminación artificial.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El ciclo estral y la ovulación en la coneja

Las conejas presentan algunas características reproductivas diferentes a las de otras especies zootécnicas, derivadas de la ausencia de un ciclo estral definido y regular, y de mecanismos reflejos que dan lugar a la ovulación (Alvariño, 1993). En otras especies, la ovulación ocurre espontáneamente al final de la fase folicular del ciclo sexual (Quintela *et al.*, 2004). Por lo anterior, las conejas pueden presentar una alta capacidad reproductiva, dada su capacidad para preñarse durante la lactancia y por ovular en respuesta al estímulo del coito.

En la Figura 1 se muestra esquemáticamente el mecanismo de la ovulación en conejas. Una vez que las hembras han desarrollado su aparato reproductivo, reciben un estímulo ante la presencia del macho, mismo que en función de las condiciones ambientales envía con mayor o menor intensidad vía neural hacia el hipotálamo. Como respuesta al estímulo coital; el hipotálamo envía factores liberadores de gonadotropinas (GnRH); lo que permite la producción de la hormona folículo estimulante (FSH), generando el crecimiento de folículos y posteriormente la liberación de la hormona luteinizante (LH), provocando un pico preovulatorio (18 h después del estímulo coital; Muelas *et al.*, 2008). Debido a la presencia de estas hormonas, el ovario en respuesta causa un incremento en la secreción de estrógenos, reflejándose en una mayor receptividad sexual de las hembras. Según Alvariño (1993) y Ubilla *et al.* (2000a), la progesterona producida por los cuerpos lúteos induce una retroalimentación negativa, lo que inhibe nuevas ovulaciones.

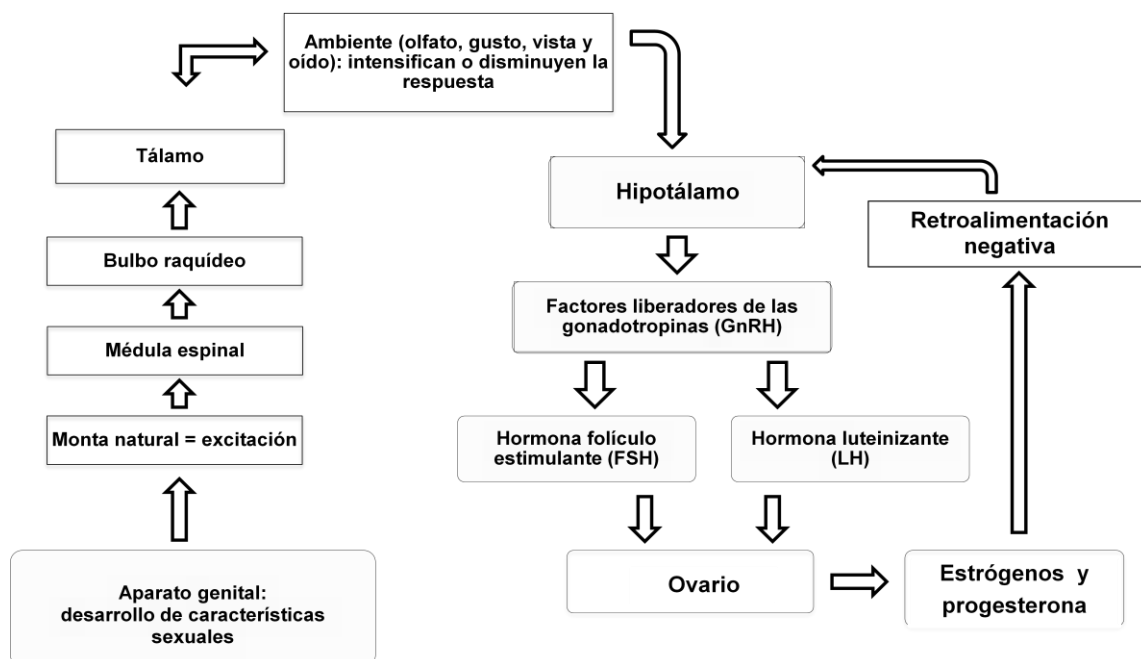


Figura 1. Esquema del mecanismo de ovulación en conejas (Adaptado de Alvariño, 1993).

2.2 Ventajas de la inseminación artificial (IA)

El uso de la IA reduce los riesgos de transmisión de enfermedades en conejos, además de que el semen de un macho mejorado genéticamente puede ser utilizado en un gran número de hembras, lo que permite una reducción del número de sementales en las explotaciones (Mocé *et al.*, 2003; Vicente *et al.*, 2008). La IA es una herramienta útil para incrementar la eficiencia reproductiva en empresas comerciales de conejos.

La IA en conejas comenzó a difundirse en los países europeos a partir de los años ochenta (Theau-Clément, 2008). Actualmente, la IA es una tecnología reproductiva comúnmente usada en las granjas comerciales de conejos, debido a su simplicidad para aplicarla y su alta relación beneficio/costo (Mocé *et al.*, 2003). En conejos, la IA permitió la creación de un nuevo sistema de manejo en bandas, mejorando la organización y planeación de las actividades en la granja. Sin embargo, un problema del uso de la IA en conejos, es que para aplicarla

exitosamente requiere de la presencia de receptividad sexual y ovulación en la coneja.

El comportamiento reproductivo de las conejas lactantes se caracteriza por celos irregulares y pequeños períodos de anestro, constituyendo una desventaja al implementar el uso de la inseminación artificial (Castellini *et al.*, 1998). Las tasas de concepción de conejas lactantes inseminadas son afectadas por la disminución de su receptividad sexual (Ubilla *et al.*, 2000a).

2.3 Características relacionadas con la fertilidad de los conejos

La fertilidad en las granjas cunícolas que usan IA depende parcialmente del funcionamiento fisiológico del macho, por lo que es importante revisar algunas de sus características reproductivas más importantes, como la espermatogénesis, la calidad seminal y las formas de conservar el semen.

Espermatogénesis

García-Tomás *et al.* (2010) mencionan que durante la maduración sexual de los conejos, para el inicio de la espermatogénesis se requiere de la producción de FSH y testosterona. Sin embargo, en algunos animales inmaduros, el incremento de FSH puede aumentar el número de células de Sertoli y causar hipertrofia testicular. Según estos autores la producción de hormonas y espermatozoides en los testículos está controlada por el sistema nervioso y las glándulas endocrinas, a través del eje hipotálamo-hipófisis. El hipotálamo secreta los factores de liberación para las hormonas FSH y LH; esta última actúa a nivel de hipófisis, la cual produce hormona FSH que estimula el crecimiento y la diferenciación de las células seminales formadoras de espermatozoides. La LH actúa en las células de Leydig provocando la secreción de testosterona, es la responsable del desarrollo de las características sexuales secundarias en los machos.

Según García-Tomás *et al.* (2009), el tiempo necesario para formar un espermatozoide a partir de una espermatogonia (espermatogénesis) en un conejo adulto oscila entre 38 y 41 días. Desde el comienzo de la formación del espermatozoide hasta su liberación en el epidídimo para su posterior salida en el eyaculado, transcurren alrededor de 41 días. Desde la cabeza del epidídimo hasta la cola del mismo, pasan entre 9 y 14 días, y es en este lugar donde el espermatozoide completa su maduración; durante este proceso el acrosoma sufre reducción y desaparición de la gota citoplasmática, donde las secreciones epididimarias juegan un papel primordial para que los espermatozoides adquieran motilidad y capacidad de fecundación (Alvariño, 1993).

La producción por día de espermatozoides en conejos se estima en 30 a 40 millones por gramo de testículo, lo que en promedio da 250 millones de espermatozoides por conejo por día (García-Tomás *et al.*, 2010). El número de células espermáticas depende principalmente de la raza, la edad del macho, la estación del año y el valor nutritivo de los alimentos consumidos (García-Tomás *et al.*, 2006).

Características físicas y químicas del semen de conejo

Según Alvariño (1993); Foote y Carney (2000), a diferencia de otras especies domésticas, el semen de conejo se caracteriza por un bajo volumen (0.4 a 1 mL/eyaculado) y una baja concentración espermática (150 a 500×10^6 espermatozoides mL^{-1}) dependiente de la raza. La concentración de espermatozoides puede calcularse por varios métodos, pero los más usados son la espectrofotometría y las cámaras de recuento celular “Bürker, Neubauer, Thoma” (Santa *et al.*, 1999). El método más usado con conejos es mediante la Cámara de Neubauer y un microscopio, observando una gota de semen utilizando un microscopio con 40 a 60 aumentos (Foote y Carney, 2000).

El color del semen del primer eyaculado de conejo normalmente es cremoso, y posteriormente el color del eyaculado tiene un aspecto más claro; esta

característica es provocada por la disminución en la concentración de espermatozoides (Alvariño, 1993). En ocasiones el semen presenta un líquido en forma de gel, el cual se recomienda retirar antes de ser valorado en el microscopio, para evitar la aglutinación de los espermatozoides (Watson, 2000).

La evaluación de la motilidad de los espermatozoides es importante para determinar la calidad del semen, ya que de esta motilidad dependerá la capacidad de fecundación del semen (Alvariño, 1993; Santa *et al.*, 1999). Los espermatozoides pueden presentar movimientos de rotación alrededor de su eje y movimientos continuos desplazándose en forma lineal o circular (Castellini y Lattaioli, 1999).

El semen posee características químicas especiales, como la presencia de una glicoproteína originada de la mucosa del epidídimo, la cual puede inhibir el proceso de capacitación espermática (Thomas *et al.*, 1986). Además, el semen presenta gotas citoplasmáticas que tienen tamaño similar al de los espermatozoides, lo que puede confundir la evaluación de la concentración y motilidad espermática. Castellini *et al.* (2006) mencionan que las gotas seminales contienen colesterol y es probable que actúen como donantes de esteroides, para proteger a los espermatozoides contra el choque por frío y la reacción acrosomal prematura.

Uso de dilutores para conservar semen de conejo

La dilución del eyaculado es importante para su conservación, debido a que el plasma seminal brinda una limitada protección a los espermatozoides, contra cambios de temperatura y acumulación de sustancias tóxicas (Salomon y Maxwell, 1995). El dilutor es un compuesto con capacidad amortiguadora que regula la presión osmótica, provee de fuentes de energía y brinda una adecuada protección al espermatozoide por períodos cortos o largos de tiempo.

Uno de los componentes básicos en los diluyentes de semen es el uso de “buffers” biológicos, que reducen al mínimo las fluctuaciones de pH, producto de los procesos metabólicos de los espermatozoides y bacterias contaminantes (Watson, 1995). Diferentes “buffers” han sido probados para evaluar su capacidad de mantener el semen de conejo refrigerado a través del tiempo. Castellini (1996) concluyó que los “buffers” inorgánicos tienen una capacidad de amortiguación limitada, mientras que los orgánicos, como el Tris, son más adecuados para el almacenamiento de semen de conejo a bajas temperaturas por períodos de 6 h.

En general, Tris, ácido cítrico y la fructosa o glucosa son la base de los diluyentes más utilizados frecuentemente para el almacenamiento de semen de conejo (Rohloff y Laiblin, 1976; Mocé y Vicente, 2009). Como en la mayoría de las especies, la yema de huevo se utiliza comúnmente en diluyentes para la congelación de semen de conejo; su concentración varía entre 10 y 20% (Fox, 1961; Stranzinger *et al.*, 1971). También se ha utilizado la leche descremada como dilutor en concentraciones entre 8 y 10% (Wales y O'Shea, 1968; O'Shea y Wales, 1969).

Tasa de dilución y concentración espermática

Alvariño (1993) menciona que la dilución permite aumentar el volumen total de la masa espermática, para ello se requiere adicionar una solución nutritiva que mejore la sobrevivencia de los espermatozoides y que con un solo eyaculado se pueda inseminar a varias hembras.

En los sistemas de manejo reproductivo donde se colecta semen una vez por semana, se obtiene normalmente una concentración espermática entre 300 y 500×10^6 mL por eyaculado; y en condiciones de campo la tasa de dilución usada es de 1:10, asegurando 75% de motilidad y 10 millones de espermatozoides móviles por dosis (Battaglini *et al.*, 1992). No obstante, Castellini y Lattaioli (1999) recomendaron incrementar la tasa de dilución a 1:30

con Tris-glucosa-citrato (300 mM g⁻¹, pH: 7.1 y 170,000 UI de penicilina y 75,000 UI estreptomicina), reportando que es necesario asegurar dosis con 11.1 millones para conejas no receptivas y ocho millones de espermatozoides para conejas receptivas. Viudes-de-Castro y Vicente (1997) utilizaron una tasa de dilución 1:50, usando Tris-citrato-glucosa (250 mM tris-hidroximethyl-amino methano, 83 mM de ácido cítrico, 50 mM de glucosa, un pH 6.8 a 7.0, 1,000 UI mL⁻¹ de penicilina); inseminando a las conejas con dosis de 0.5 mL de semen diluido en diferentes concentraciones (1, 2, 4 y 16 × 10⁶) espermatozoides por dosis, y no encontraron diferencias ($p > 0.05$) en fertilidad entre utilizar (4 y 16 × 10⁶) de espermatozoides por dosis.

Uso de semen fresco en la IA de conejas

Se ha usando semen fresco de conejo vs monta natural, mostrado resultados similares en la tasa de concepción de las conejas. Roca *et al.* (2000) mencionan que las granjas comerciales de conejos usan rutinariamente semen fresco diluido entre 6 y 12 h después de la colecta.

Uso de semen congelado en la IA de conejas

El método más utilizado para conservar el semen por períodos mayores a 24 h es mediante la reducción de la temperatura, disminuyendo la actividad metabólica y la motilidad, aumentando el período de vida media de los espermatozoides. La tasa de congelación del semen es entre 5 y -100 °C, reduciéndose la motilidad, sin embargo, puede restituirse si la temperatura se eleva a 35 °C, siempre y cuando no se haya producido daños de tipo estructural causados por el “shock” de frío (Mocé y Vicente, 2009). Cuando el semen es conservado a temperaturas cercanas a los cero grados centígrados, se debe considerar que los espermatozoides se someten a un “shock” por frío, lo cual puede causar cambios irreversibles en la célula espermática (Salomon y Maxwell, 1995).

El semen de conejo congelado es importante para reproducir machos de alto valor genético, así como en programas de conservación de razas de conejos en peligro de extinción (Vicente y Viudes-de-Castro, 1996).

El procesamiento y la criopreservación del semen de conejo

La inseminación artificial es utilizada en los sistemas de producción cunículas de los países europeos, sin embargo, una limitante importante para su uso es la dificultad para procesar y almacenar el semen durante períodos prolongados, sin disminuir la fertilidad del semen (López y Alvarino, 2000).

La criopreservación permite almacenar el semen por tiempos prolongados para su utilización en programas de inseminación (Mocé y Vicente, 2009). Durante el proceso de criopreservación, los espermatozoides sufren lesiones ocasionadas por la disminución de la temperatura, la adición de crioprotectores y la formación de hielo (Watson, 2000). Aun así, existen diferencias entre especies en su capacidad para soportar el proceso de criopreservación, debido a la composición de la membrana plasmática de los espermatozoides (Holt, 2000). Por lo tanto, es necesario ajustar en cada especie la composición del diluyente a concentraciones de crioprotectores y el protocolo de criopreservación de los espermatozoides. Los principales daños ocasionados con la criopreservación de semen de conejo, son la disminución del porcentaje de espermatozoides vivos y su motilidad, derivándose en una disminución en la capacidad fecundante (Rodriguez-Martinez y Barth, 2007).

Los protocolos utilizados en la congelación de semen de conejo son similares a los descritos en otras especies. El semen generalmente es diluido a temperatura ambiente con un dilutor (yema de huevo o leche descremada) en una tasa de dilución 1:1 ó 1:10 (Mocé *et al.*, 2003) o una concentración espermática de 2, 20, 60 ó 75×10^6 espermatozoides mL^{-1} (Vicente y Viudes-de-Castro, 1996).

Las sustancias que protegen a los espermatozoides durante la congelación se denominan sustancias crioprotectoras. Sin embargo, dichas sustancias pueden tener efectos negativos sobre las células espermáticas (Salamon y Maxwell, 1995). Considerando la viabilidad y fertilidad del semen, las sustancias crioprotectoras se pueden clasificar en dos grupos: las de rápida penetración al interior de la célula, como son: dimetil-sulfoxido (DMSO), etilenglicol (EG) y propilenglicol (PG); y las de lenta penetración celular, como el glicerol (Marco-Jiménez *et al.*, 2006).

2.4 Factores ambientales que afectan el comportamiento reproductivo

La consideración de factores ambientales que afectan el comportamiento reproductivo de las conejas es importante para diseñar trabajos de investigación o protocolos que involucren el uso de la IA. A continuación se presentan y discuten algunos de los principales factores asociados con la fertilidad de las hembras.

Clima

Los principales efectos climáticos del ambiente externo que afectan el comportamiento reproductivo de las conejas incluyen la estación del año, la temperatura ambiente y el fotoperíodo.

Los patrones de estacionalidad en el conejo doméstico son atribuidos generalmente a cambios en la estación del año (Szendro *et al.*, 1992). Los elementos más importantes de las estaciones del año son la temperatura y el fotoperíodo. En general algunos estudios sugieren que la estacionalidad reproductiva para climas templados y fríos depende más de los cambios en la temperatura que del fotoperíodo (Oloufa *et al.*, 1951; Sittman *et al.*, 1964; Harris *et al.*, 1982). Sin embargo, en climas tropicales la tasa de gestación de las conejas es afectada por las variaciones estacionales, disminuyendo considerablemente en verano y otoño (Marai *et al.*, 2001).

El efecto adverso de la alta temperatura ambiental puede causar una disminución en el consumo de alimento, deshidratación, bajo catabolismo tisular, y cuando la temperatura es alta, aumenta la frecuencia respiratoria y el consumo de energía (Habeeb *et al.*, 1993). Según García-Tomás *et al.* (2010), un incremento de 1 °C en la temperatura ambiental puede tener efectos drásticos fisiológicos en el animal, incluyendo la reproducción. La baja fertilidad ocasionada por las altas temperaturas se debe a factores climáticos que se expresan en una reducción significativa del total de gazapos nacidos y en un aumento en el porcentaje de gazapos nacidos muertos (Matassino *et al.*, 1970); estos fenómenos se deben a una disminución en la tasa de ovulación (Farrel *et al.*, 1968).

Marai *et al.* (2002) mencionaron que la exposición a temperaturas altas prolongadas suprime a los factores de liberación hormonal del hipotálamo; en consecuencia se afecta la secreción de las hormonas liberadas por la hipófisis. También se ha determinado que la alta temperatura altera la actividad metabólica y la multiplicación celular en los conejos (Habeeb *et al.*, 1993); en particular, la secreción de las hormonas encargadas de la termorregulación corporal, como la tiroxina, el cortisol, la insulina y la aldosterona (Habeeb *et al.*, 1997).

Existe una zona de termoneutralidad esto es cuando el animal no tiene que usar mecanismos reguladores químicos para ajustar su temperatura (21 °C). Según Marai *et al.* (2002), la zona de confort en los conejos es alrededor de 15 a 18 °C, aunque toleran más las bajas temperaturas; mientras que las temperaturas superiores a los 30 °C afectan la reproducción y el crecimiento de los animales, ya que no pueden mantener su temperatura corporal sin alterar su tasa metabólica basal. La disminución en el comportamiento reproductivo de los conejos en altas temperaturas ambientales (mayores de 27 °C), ha sido asociada con un aumento del pH en el semen, una disminución de la motilidad espermática, un mayor porcentaje de espermatozoides anormales y un

descenso en el libido (Alvariño, 1993). En un estudio utilizando conejos, Battaglini *et al.* (1992) estimaron un menor número de espermatozoides ($p<0.05$) en los meses cálidos comparativamente con los fríos.

Fotoperíodo

En los conejos, el fotoperíodo activa o disminuye la función reproductiva y de crecimiento (Rodríguez-De Lara y Fallas, 1999). El mantener 16 h luz y ocho de oscuridad al año ayuda a mejorar los niveles de receptividad y fertilidad de las conejas (Alvariño, 1993; Rodríguez-De Lara, 1995).

En los machos el fotoperíodo influye en la actividad reproductiva mediante mecanismos complejos que conectan el sistema visual con las gónadas. Según Malpaux y Chemineau (1997), la información luminosa es captada por vía nerviosa (nervio óptico-glándula pineal), endocrina (melatonina), y a través de la unión de melatonina-neuronas-hormona liberadora de la hormona luteinizante.

En Rusia, Marthur *et al.* (1989) estimó que la alta humedad de la estación de lluvias acompañada por una alta temperatura afectó la calidad del semen de la raza de conejos Soviet Angora, desde la mitad de invierno hasta la primera semana del verano la capacidad de fecundación fue mejor que el resto de las estaciones del año. En México, Mariscal (1990) no encontró diferencias importantes ($p<0.05$) en las características reproductivas de los eyaculados de conejos, en fotoperíodos de 8 y 16 h luz por día.

Estado fisiológico

Las conejas nulíparas se encuentran en un estado fisiológico favorable para obtener resultados positivos de receptividad y fertilidad, ya que en el momento de su inseminación no se encuentran realizando otras actividades fisiológicas que comprometan la partición de nutrientes de los alimentos ingeridos (Quintela *et al.*, 2004). Sin embargo, durante el primer parto la sobrevivencia de los gazapos, el tamaño y el peso de la camada al nacimiento son menores, debido

a la pérdida de energía por la movilización de grasa de las reservas corporales y la disminución en el consumo de alimento (Rebollar *et al.*, 2006a).

El estado de lactancia en las conejas tiene un efecto negativo sobre la receptividad sexual y fertilidad, mostrando niveles altos de prolactina y oxitocina en plasma, mientras que los niveles de progesterona son bajos (Fortun *et al.*, 1993; Rommers *et al.*, 2004; Brecchia *et al.*, 2006); lo que provoca un menor crecimiento folicular y en consecuencia la tasa de ovulación es reducida (Fortun-Lamothe, 2006). En conejas gestantes y lactantes al mismo tiempo, se lleva a cabo una competencia por la utilización de nutrientes entre la glándula mamaria y el útero reduciendo en el crecimiento fetal (Fortun-Lamothe y Prunier, 1999). Los niveles altos de prolactina crean un ambiente desfavorable en el útero, además en conejas lactando el útero es menor comparado con las no lactando, por lo tanto, la fertilización de ovocitos es bajo y la muerte embrionaria aumenta (Rebollar *et al.*, 2006a).

El efecto de bioestimar las conejas en lactancia antes de inseminar, ayuda a que las concentraciones de prolactina disminuyan y las de estradiol aumenten; y la aplicación intramuscular de GnRH permite la liberación de LH y FSH, lo que trae como consecuencia una mayor respuesta en la receptividad sexual, y en la maduración y liberación de ovocitos (Ubilla *et al.*, 2000b; Muelas *et al.*, 2008). El incremento en las concentraciones de FSH y LH estimula la actividad ovárica, provocando la ovulación, por lo tanto, el aumento en el número de embriones implantados y el tamaño de la camada al nacimiento (Quintela *et al.*, 2004; Cano *et al.*, 2005).

Alimentación

En conejas los ritmos de reproducción aplicados actualmente permiten la inseminación de hembras amamantando, lo que tiene efectos adversos en su comportamiento reproductivo, principalmente el déficit de energía que ocurre en el primer parto (Fortun-Lamothe, 2006). Esto afecta la calidad de los gametos

producidos, el ambiente uterino y la secreción de progesterona; por lo que el número de embriones implantados es menor (Rommers *et al.*, 2004). Por lo tanto, la cantidad de nutrientes disponibles que consumen las conejas, tiene una acción directa en el crecimiento fetal y en la producción de leche (Fortun-Lamothe *et al.*, 1999; Pascual *et al.*, 2000).

Según Fortun-Lamothe y Prunier (1999), durante la gestación el consumo de alimento de las conejas aumenta entre 25 y 50%, en comparación con el de una coneja no gestante. En las tres primeras semanas de gestación los requerimientos nutricionales son bajos y el balance energético de las hembras es positivo (Rommers *et al.*, 2004). Esto se traduce en un aumento en las reservas de grasa. Durante la última semana de gestación las necesidades energéticas y proteicas aumentan (para el desarrollo de la placenta), mientras que la ingestión de alimento disminuye, lo que resulta en un balance energético negativo y en la transferencia de la grasa corporal de la coneja a los fetos (Fortun-Lamothe y Prunier, 1999; Rommers *et al.*, 2004). Fortun-Lamothe *et al.* (1999) estimaron que alrededor de 80% de la energía utilizada en reproducción proviene del alimento consumido y 20% de la movilización de la grasa. El déficit de energía aumenta cuando las conejas están gestantes y lactantes al mismo tiempo (Fortun-Lamothe, 2006).

Según Fortun-Lamothe (2006), el balance de energía de los animales está influido tanto por factores intrínsecos (número de parto, tamaño de camada, genética) y factores extrínsecos relacionados con las condiciones de manejo (ritmo de reproducción y temperatura ambiental). El consumo de alimento es de 10 a 20% menos en las conejas primíparas que en las multíparas (Fortun-Lamothe *et al.*, 1999); lo que puede provocar un balance energético negativo y afectar la función reproductiva (Fortun-Lamothe, 2006).

Las interacciones entre la nutrición y la reproducción pueden actuar en el eje hipotálamo-pituitaria y a nivel de ovario (Butler, 2000). El papel clave de la

glucosa e insulina como factores de crecimiento (IGF) podrían actuar a nivel del ovario modificando el sistema endocrino, paracrina y la regulación autocrina que permite el crecimiento folicular, la ovulación y la maduración del cuerpo lúteo en conejas y ganado lechero (Roche *et al.*, 2000; Wathes *et al.*, 2007). Brecchia *et al.* (2006) encontraron que la leptina también influye en la función ovárica de las conejas.

2.5 Métodos para la inducción de la ovulación

El uso de hormonas sintéticas para la inducción de la ovulación está ampliamente difundido en empresas comerciales productoras de conejos, debido a su eficacia y sencillez. Algunos de los tratamientos hormonales más utilizados incluyen el uso de gonadotropina (eCG), GnRH y prostaglandinas (PGF₂α).

La gonadotropina coriónica equina (eCG) es la hormona sintética más ampliamente utilizada para sincronizar estros en las especies de interés zootécnico (Theau-Clément, 2008). Sin embargo, algunos investigadores (Baril *et al.*, 1992; Roy *et al.*, 1995) han reportado que el uso continuo de eCG, generalmente provoca una disminución de la fecundidad en ovejas y cabras, debido a la generación de anticuerpos.

La resistencia inmune de la eCG en conejas fue demostrada por primera vez (Canali *et al.*, 1991) al aplicar 40 UI de eCG en conejas nulíparas, 48 h antes de la IA; después de la tercera aplicación la fertilidad disminuyó ($p < 0.05$). Algunos estudios posteriores confirmaron esta respuesta inmune (Boiti *et al.*, 1995; Quintela *et al.*, 2001).

La eCG induce el estro al actuar directamente en el ovario, liberando FSH y LH. Por tanto, indirectamente puede aumentar la receptividad sexual, la fertilidad y la prolificidad de las conejas (Quintela *et al.*, 2001). La eCG es una glicoproteína de alto (68.00) peso molecular y sólo puede usarse con éxito para

cuatro ciclos de inseminación en conejas lactantes, debido a que atrofia los ovarios y provoca la formación de anticuerpos, reduciendo la fertilidad (Rebollar *et al.*, 2006b). Otros autores han reportado disfunción ovárica e inmunización de las conejas (Maertens *et al.*, 1995), incremento en el número de abortos (Castellini *et al.*, 2000) y la incidencia de folículos hemorrágicos (Boiti *et al.*, 1995).

El método más utilizado para inducir la ovulación en conejas es la aplicación intramuscular GnRH. Algunos estudios en conejos han mostrando que la ovulación es inducida por el apareamiento (Quintela *et al.*, 2004). Sin embargo, si no hay machos al realizar la inseminación artificial, la ovulación puede inducirse aplicando GnRH. Algunos investigadores argumentan que la aplicación de GnRH en conejas es el método más confiable para inducir ovulación, debido que permite su uso varias veces sin inducir la formación de anticuerpos (Ubilla *et al.*, 2000a; Quintela *et al.*, 2001; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2003). Sin embargo, existen reportes de disminución de la fertilidad de las conejas. Zapletal y Pavlik (2008) reportaron que dosis entre 0.3 a 1.0 µg (lecorelin) son suficientes para estimular la función reproductiva en conejas núlparas o lactantes; pero aplicaciones mayores que 1.5 µg provocan abortos.

Existe la opción de aplicar GnRH en la dosis de semen vía mucosa vaginal al momento de la IA; obteniendo tasas de fertilidad y prolificidad comparadas a las obtenidas por la aplicación de GnRH vía intramuscular (Quintela *et al.*, 2004). Algunos investigadores mostraron que el aplicar GnRH en la dosis del semen tiene varias ventajas, como un mejor bienestar de las conejas durante la IA, un aumento en el número de hembras inseminadas por operador y una reducción de los riesgos sanitarios derivados del uso incorrecto de los instrumentos al aplicar la hormona (Vicente *et al.*, 2008).

Las prostaglandinas se han utilizado para sincronizar el estro y la regresión de los cuerpos lúteos de conejas (Theau-Clément, 2008). Además, la aplicación de

PGF₂α se ha utilizado para sincronizar partos en el día 29 de gestación (Ubilla *et al.*, 1992; Rebollar *et al.*, 1997). Al producir la lisis del cuerpo lúteo, inicia un bloqueo en el hipotálamo disminuyendo las concentraciones plasmáticas de progesterona, desencadenando la producción de GnRH para iniciar un nuevo ciclo estral, lo que a su vez provoca un crecimiento de los folículos en el ovario (Maertens y Coudert, 2006). En conejas, la administración de PGF₂α 72 h antes de IA aumenta la respuesta del ovario para producir estrógenos, y en consecuencia aumenta la receptividad sexual y la fertilidad (Maertens y Coudert, 2006).

2.6 Métodos para aumentar la receptividad sexual

Las políticas de la Unión Europea promueven la reducción en la utilización de sustancias hormonales en conejos, debido a sus posibles efectos residuales en la carne para consumo humano y el detrimento del bienestar de los animales (Luzi y Crimella, 1998). Particularmente en la reproducción de conejas lactantes, debido a su baja receptividad sexual provocada por las altas concentraciones de prolactina, se requiere aplicar bioestímulos para mejorar su receptividad sexual (Castellini *et al.*, 1998; Bonnano *et al.*, 1999). Los bioestímulos más usados en la IA de conejas son: separación madre-gazapo, control de la luminosidad, presencia del macho y cambio de jaula.

Según Rodríguez-De Lara *et al.* (2007), una alimentación a libre acceso con respecto a una alimentación restringida, incrementa el porcentaje de conejas nulíparas y multíparas a ovular, debido a una mayor disponibilidad de energía y proteína, favoreciendo la actividad metabólica de las hormonas reproductivas. Aunque la cantidad y la calidad del alimento disponible para las conejas pueden mejorar su tasa de concepción, en muchas ocasiones esto no se manifiesta en un aumento del tamaño de la camada al nacimiento.

Un bioestímulo para incrementar la receptividad de las conejas es la separación madre-gazapo, que consiste en separar las hembras de sus camadas durante

períodos cortos antes de la IA (García-García *et al.*, 2009). Esta práctica mejora la tasa de partos y el tamaño de la camada al nacer en las empresas cunícolas. Rebollar *et al.* (2008) obtuvieron resultados similares en fertilidad, al comparar en un grupo de conejas la aplicación de eCG y conejas con 48 h de bioestímulo.

Ubilla *et al.* (2000a) evaluaron el uso de la separación de las conejas de sus crías durante 48 h, observando un aumento en los signos de receptividad sexual de las conejas y un incremento en su fertilidad. Estos efectos fueron explicados por un aumento de estradiol en plasma y una disminución en las concentraciones prolactina (Alvariño *et al.*, 1998; Maertens, 1998). Rodríguez-De Lara *et al.* (2003) mencionaron que un cambio súbito de ambiente facilita la aparición del estro en conejas nulíparas, ya que se estimula el sistema nervioso central y provoca una descarga de corticosteroides y prolactina al torrente sanguíneo, estimulando la liberación de GnRH, que a su vez estimula la síntesis de FSH y LH, y estas hormonas modifican la condición fisiológica del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

Algunos estudios confirman que el separar las hembras de sus gazapos induce cambios endocrinos a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Castellini *et al.*, 1998; Ubilla *et al.*, 2000b). Sin embargo, Bonanno *et al.* (2002) mencionaron que también se puede afectar el eje hipotálamo-hipófisis-glándula suprarrenal, como consecuencia del estrés generado por la separación de los gazapos, o tal vez inducir un estado de comportamiento psicológico y adaptación fisiológica, que pudieran reducir la fertilidad.

Moura *et al.* (2003) evaluaron la separación de las conejas y sus crías entre el séptimo y noveno día posparto, por un período de 40 h antes de la inseminación, y encontraron que la receptividad sexual y el tamaño de camada al parto aumentaron. Según Alvariño *et al.* (1998), en conejas en el cuarto día de lactancia, la separación de los gazapos durante 24 h fueron suficientes para

aumentar su fertilidad, mientras que para el noveno día de lactancia se requirieron 36 h.

El control lumínico es otro bioestímulo implementado en los sistemas de producción cunícolas, para mejorar la receptividad sexual de las conejas en un programa de IA. La actividad sexual de los conejos en condiciones naturales es máxima en estaciones de días largos; en México los días largos ocurren normalmente en el verano, un aumento artificial en la longitud de la luz del día puede mejorar la receptividad sexual de las conejas y su comportamiento reproductivo (Quintela *et al.*, 2001). En algunas granjas de conejos se ha implementado el control del fotoperíodo a 14 ó 16 h luz por día durante todo el año (Uzcategui *et al.*, 1992). Esto tiene un efecto positivo en la reproducción, ya que se ha reportado que un aumento entre 6 y 8 h luz durante 5 u 8 días antes de la IA mejoró ($p<0.05$) la receptividad sexual de las hembras, comparado con los programas de luz constante; estos aumentos de luz producen un incremento de los niveles de GnRH, permitiendo el crecimiento y maduración de los folículos (Quintela *et al.*, 2001).

Un programa de presencia de machos en empresas cunícolas considera la colocación de las hembras en jaulas vecinas a las de los machos, para estimular la receptividad sexual en las hembras. Rodríguez-De Lara *et al.* (2003) observaron un incremento en la receptividad sexual de las conejas, debido al cambio de jaula y la exposición de los machos a las hembras en períodos de 8 y 10 h. En ovinos también se ha utilizado la presencia del macho para sincronizar el estro o adelantar la entrada de las ovejas al empadre y acortar el período de anestro provocado por el fotoperíodo; sin embargo, la presencia del macho sólo funcionó cuando las hembras no habían tenido contacto previo con los machos (Martínez *et al.*, 1998; Godfrey *et al.*, 2001; Ramón y Sanginés, 2001).

En ovejas inmediatamente después de la introducción de los machos al rebaño, los pulsos de (LH) aumentan y siguen elevados si el macho sigue presente en el rebaño con las hembras. La estimulación de los folículos ováricos provocó un aumento en los niveles plasmáticos de estradiol iniciándose un pico preovulatorio 20 h después de la introducción de los machos al rebaño, y la ovulación se llevó a cabo tres días después (Chemineau *et al.*, 2006; Hawken *et al.*, 2009).

El cambio de jaula es un método de bioestímulo para sincronizar estros e incrementar la receptividad sexual en conejas. Un programa de cambio de jaula consiste en mover las hembras en jaulas donde no viven habitualmente separándolas de sus gazapos durante el tiempo de bioestímulo. Luzi y Crimella (1998) compararon el cambio de jaula durante 48 h y tratamientos con hormonas sintéticas, y estimaron que las conejas en el tratamiento con bioestímulo tuvieron aproximadamente 9.8% mayor fertilidad que las conejas bajo tratamientos hormonales. Bonanno *et al.* (1999) evaluaron diferentes formas de bioestímulos (cambio de jaula y separación de las conejas de sus gazapos, durante 44 h); estos autores estimaron que la combinación de los dos bioestímulos fue 15% más alta en fertilidad que en los bioestímulos en forma separada.

Rodríguez-De Lara *et al.* (2003) evaluaron el cambio de jaula y la presencia de macho durante un período de 8 y 10 h, observando que la tasa de receptividad sexual fue 20% mayor ($p < 0.05$) en los tratamientos con bioestímulos. Además, estos autores encontraron que el cambio de jaula y la presencia de macho provocaron un aumento de 1.8 gazapos al nacimiento por camada.

2.7 Literatura citada

Alvariño M. R. 1993. Control de la Reproducción en el Conejo. Mundiprensa Libros, S.A. España. 137 p.

- Alvariño J. M. R., J. A. Del Arco, and A. Bueno. 1998. Effect of mother-litter separation on reproductive performance of lactating rabbit females inseminated on day 4 or 11 post partum. *World Rabbit Science* 6(1): 191-194.
- Baril, G., B. Remy, J. C. Vallet, and J. F. Beckers. 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for oestrus control in dairy goats out of breeding season. *Reproduction in Domestic Animals* 27: 161-168.
- Battaglini, M., C. Castellini, and P. Lattaioli. 1992. Variability of the main characteristics of rabbit semen. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 439-446.
- Boiti, C., C. Castellini, C. Canali, D. Zampini, and M. Monaci. 1995. Long term effect of PMSG on rabbit does reproductive performance. *World Rabbit Science* 3(2): 51-56.
- Bonanno, A., M. Alabiso, A. Di Grioli, and M. L. Alicata. 1999. Effect of change of cage and/or 44 h mother-litter separation on productivity of non-receptive lactating rabbit does: preliminary investigations. *World Rabbit Science* 7(2): 107-111.
- Bonanno, A., A. Di Grigoli, M. Alabiso, and C. Boiti. 2002. Parity and number of repeated doe-litter separation treatments affect differently the reproductive performances of lactating does. *World Rabbit Science* 10(2): 63-70.
- Brecchia, G., A. Bonanno, G. Galeati, C. Federici, M. Maranesi, A. Gobetti, M. Zerani, and C. Boiti. 2006. Hormonal and metabolic adaption to fasting: effects on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and reproductive performance of rabbit does. *Domestic Animal Endocrinology* 31: 105-122.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 60: 449-457.
- Canali, C., C. Boiti, D. Ampini, C. Castellini, and M. Battaglini. 1991. Correlation between fertility and antibodies anti-PMSG in does repeatedly treated with PMSG during their reproductive life. *In: IX Congresso Nazionale ASPA. 3-7 de junio. Roma, Italia. pp: 671-678.*
- Cano, P., V. Jiménez, M. P. Álvarez, M. Alvariño, D. P. Cardinali, and A. I. Esquifino. 2005. Effect of litter separation on 24-hour rhythmicity of plasma prolactin, follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels in lactating rabbit does. *Journal of Circadian Rhythms* 3(9): 1-5.
- Castellini, C. 1996. Recent advances in rabbit artificial insemination. *Proceedings 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France pp: 13-28.*
- Castellini, C., C. Canali, and C. Boiti. 1998. Effect of mother-litter separation for 24 hours, by closing the nestbox or change of cage, on rabbit doe reproduction performance. *World Rabbit Science* 6(1): 199-203.

- Castellini, C., and P. Lattaioli. 1999. Effect of number of motile sperm inseminated on reproductive performance of rabbits does. *Animal Reproduction Science* 57: 111-120.
- Castellini, C., P. Lattaioli, M. Moroni, and A. Minelli. 2000. Effect of seminal plasma on the characteristics and fertility of rabbit spermatozoa. *Animal Reproduction Science* 63: 275-282.
- Castellini, C., F. Pizzi, M. Thuau-Clément, and P. Lattaioli. 2006. Effect of different number spermatozoa inseminated on the reproductive performance of rabbit does. *Theriogenology* 66: 2182-2187.
- Chemineau, P., M. T. Pellicer-Rubio, N. Lassoued, G. Khaldi, and D. Monniaux. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction Nutrition Development* 46: 417-429.
- Farrel, G., D. Powers, and T. Otani. 1968. Inhibition of ovulation in the rabbit, seasonal variation and the effects of indoles. *Endocrinology* 83(3): 599-603.
- Foote, R. H., and E. W. Carney. 2000. The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies. *Reproduction Toxicology* 14: 477-493.
- Fortun, L., F. Prunier, and F. Lebas. 1993. Effects of lactation on fetal survival and development in rabbit does mated shortly after parturition. *Journal of Animal Science* 71: 1882-1886.
- Fortun-Lamothe, L., and A. Prunier. 1999. Effects of lactation, energetic deficit and remating interval on reproductive performance of primiparous rabbit does. *Animal Reproduction Science* 55: 289-298.
- Fortun-Lamothe, L., A. Prunier, G. Bolet, and F. Lebas. 1999. Physiological mechanisms involved in the effects of concurrent pregnancy and lactation on foetal growth and mortality in the rabbit. *Livestock Production Science* 60: 229-241.
- Fortun-Lamothe, L. 2006. Energy balance and reproductive performance in rabbit does: a review. *Animal Reproduction Science* 93: 1-15.
- Fox, R. R., 1961. Preservation of rabbit spermatozoa: fertility results from frozen semen. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 108: 663-665.
- Garcia-Garcia, R. M., M. Arias-Alvarez, P. G. Rebollar, L. Revuelta, and P. L. Lorenzo. 2009. Influence of different reproductive rhythms on serum estradiol and testosterone levels, features of follicular population and atresia rate, and oocyte maturation in controlled suckling rabbits. *Animal Reproduction Science* 114: 423-433.

- García-Tomás, M., J. Sánchez, O. Rafel, J. Ramon, and M. Piles. 2006. Variability, repeatability and phenotypic relationships of several characteristics of production and semen quality in rabbit. *Animal Reproduction Science* 93: 88-100.
- García-Tomás, M., J. Sánchez, and M. Piles. 2009. Post-natal sexual development of testis and epididymis in the rabbit: growth and maturity patterns of macroscopic and microscopic markers. *Theriogenology* 71: 292-301.
- García-Tomás, M., J. Sánchez, M. Piles, and M. T. Mitjavila. 2010. Line and birth season effects on plasma testosterone and oxidative stress parameters in testis of maturing rabbits. *Animal Reproduction Science* 117: 314-321.
- Godfrey, R. W., J. R. Collins, and E. L. Hensley. 2001. Behavioral and endocrine responses of hair sheep ewes exposed to different mating stimuli around estrus. *Theriogenology* 55: 877-884.
- Gómez-Ramos, B., C. M. Becerril-Pérez, G. Torres-Hernández, A. Pro-Martínez, y R. Rodríguez-De Lara. 2005. Relación del nivel de alimentación, cambio de jaula y ayuno con el comportamiento reproductivo de conejas núlíparas Nueva Zelanda Blanco y California. *Agrociencia* 39: 491-499.
- Habeeb, A. A., A. I. Aboul-Naga, and H. M. Yousef. 1993. Influence of exposure to high temperature on daily gain, feed efficiency and blood components of growing male Californian rabbits. *Egyptian Journal of Rabbit Science* 3: 73-80.
- Habeeb A., A. M., F. M. Marai I., A. M. El-Maghawry, and A. E. Gad. 1997. Growing rabbits as affected by salinity in drinking water under winter and hot summer conditions of Egypt. *Egyptian Journal of Rabbit Science* 7: 81-94.
- Harris, D. J., P. R. Cheeke, and M. N. Patton. 1982. Effect of diet, light breeding schedule on rabbit. *Journal of Applied Rabbit Research* 28: 785-788.
- Hawken, P. A. R., T. Esmaili, V. Scanlan, D. Blache, and G. B. Martin. 2009. Can audio-visual or stimuli from a prospective mate stimulate a reproductive neuroendocrine response in sheep? *International Journal of Animal Bioscience* 3: 690-696.
- Holt, W. V. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology* 53: 47-58.
- López, F. J., and J. M. R. Alvariño. 2000. Effects of added caffeine on results following artificial insemination with fresh and refrigerated rabbit semen. *Animal Reproduction Science* 58: 147-154.

- Luzi, F., and C. Crimella. 1998. Effect of change of cage 2 days before artificial insemination on reproductive performance of rabbit does. *World Rabbit Science* 6(1): 195-198.
- Maertens, L., F. Luzi, and G. Grilli. 1995. Effects of PMSG induced oestrus on the performance of rabbit does: a review. *World Rabbit Science* 3(4): 191-199.
- Maertens, L. 1998. Effect of flushing, mother/litter separation and PMSG on fertility of lactation does and the performance of their litters. *World Rabbit Science* 6(1): 185-190.
- Maertens, L., and P. Coudert. 2006. Recent Advances in Rabbit Sciences. COST and ILVO publication. Nouzilly, Francia. 291 p.
- Malpaux, B., y P. Chimineau. 1997. Neuroendocrinología del fotoperíodo en el control de la actividad reproductiva. *In: Seminario Internacional: Tópicos Avanzados en Reproducción Animal. Colegio de Postgraduados. Montesillo, Estado de México. pp: 23-41.*
- Marai, I. F. M., M. S. Ayyat, and U. M. El-Monem. 2001. Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbits as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian conditions. *Journal Tropical Animal Health and Production* 33: 1-12.
- Marai, I. F. M., A. A. M. Habeeb, and A. E. Gad. 2002. Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science* 78: 71-90.
- Marco-Jiménez, F., R. Lavara, J. S. Vicente, and M. O. Viudes-de-Castro. 2006. Cryopreservation of rabbit spermatozoa with freezing media supplemented with reduced and oxidised glutathione. *CryoLetters* 27: 261-268.
- Mariscal A., D. V. 1990. Efecto del fotoperíodo sobre el comportamiento reproductivo en conejos machos Nueva Zelanda Blanco y California. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 93 p.
- Martínez R., R. D., C. Cruz L., y L. A. Zarco Q. 1998. Influencia del carnero sobre la ocurrencia de estros en la oveja Pelibuey. *Veterinaria México* 29: 111-115.
- Marthur, A. K., R. S. Srivastava, P. S. Rawat, and D. B. Kalra. 1989. Season variation in the semen characters of Soviet Angora rabbit bucks. *Animal Reproduction Science* 19: 293-298.
- Matassino, D., A. Bordi, and A. Nardone. 1970. Some vital statistics of the native improved breed of rabbit. *Produzione Animale* 9: 21.
- Mocé, E., R. Lavara, and J. S. Vicente. 2003. Effect of an asynchrony between ovulation and insemination on the results obtained after insemination with

- fresh or frozen sperm in rabbits. *Animal Reproduction Science* 75: 107-118.
- Mocé, E., and J. Vicente S. 2009. Rabbit sperm cryopreservation: a review. *Animal Reproduction Science* 110: 1-24.
- Moura T., A. S., S. J. Fernandes J., L. Moraes V., and E. Bianospino. 2003. Bioestimulation of the reproductive activity of lactating rabbit does in a natural mating system. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32: 315-324.
- Muelas, R., P. Cano, M. L. García, A. Esquifino, and M. J. Argente. 2008. Influence of FSH, LH and prolactin on the components of litter size in rabbit does. *In*: 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy, June: 10-13.
- O'Shea, T., and R. G. Wales. 1969. Further studies of the deep freezing of rabbit spermatozoa in reconstituted skim milk powder. *Australian Journal of Biological Sciences* 22: 709-719.
- Oloufa, M. M., R. Bogart, and F. Mckenzeie. 1951. Effect of environmental temperature and the thyroid gland on fertility in rabbit. *Fertility and Sterility* 2: 223-228.
- Pascual, J. J., C. Cervera, and J. Fernandez-Carmona. 2000. The effect of dietary fat on the performance and body composition of rabbits in their second lactation. *Animal Feed Science and Technology* 86: 191-203.
- Quintela, L., A. Peña, M. Barrio, M. D. Vega, R. Diaz, F. Maseda, and P. Garcia. 2001. Reproductive performance of multiparous rabbit lactating does: effect of lighting programs and PMSG use. *Reproduction Nutrition Development* 41: 247-257.
- Quintela, L., A. Peña, M. D. Vega, J. Gullón, M. C. Prieto, M. Barrio, J. J. Becerra, F. Maseda, and P. G. Herradón. 2004. Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. *Reproduction Nutrition Development* 44: 79-88.
- Ramón U., J. P., and J. R. Sanginés G. 2001. Response to ram effect in Pelibuey yearling ewes and grazing and supplement conditions in a tropical environment. *Técnica Pecuaria en México* 40(3): 309-317.
- Rebollar, P. G., J. M. R. Alvariño, R. J. Illera, C. G. Silvan, and P. L. Lorenzo. 1997. Changes in plasma progesterone and estradiol during natural prostaglandin F_{2α}-induced parturition in the rabbit. *World Rabbit Science* 5(1): 13-16.
- Rebollar, P. G., A. Milanés, N. Pereda, P. Millán, P. Cano, A. Esquifino, M. Villarroel, G. Silván, and P. L. Lorenzo. 2006a. Oestrus synchronisation of rabbit does at early post-partum by doe-litter separation or eCG injection: reproductive parameters and endocrine profiles. *Animal Reproduction Science* 93: 218-230.

- Rebollar, P. G., N. Pereda, M. Villarroel, P. Millán, and P. L. Lorenzo. 2006b. Oestrus synchronization of rabbit does at early post-partum by dam-litter separation or eCG injection: effect on kit mortality and growth. *Livestock Science* 103: 13-22.
- Rebollar, P. G., A. Bonanno, A. Di Grigoli, G. Tornambé, and P. L. Lorenzo. 2008. Endocrine and ovarian response after a 2-day controlled suckling and eCG treatment in lactating rabbit does. *Animal Reproduction Science* 104: 316-328.
- Roca, J., S. Martínez, J. M. Vázquez, X. Lucas, I. Parrilla, and E. A. Martínez. 2000. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15 °C. *Animal Reproduction Science* 64: 103-112.
- Roche, J. F., D. Mackey, and M. D. Diskin. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science* 60: 703-712.
- Rodríguez-De Lara, R. 1995. Efecto del programa de reproducción sobre el comportamiento reproductivo y productividad anual en ritmos pre-intensivos de reproducción e influencia de la luz sobre los machos. *Boletín de Cunicultura* 18(77): 16-30.
- Rodríguez-De Lara, R., and L. M. Fallas. 1999. Environmental and physiological factors influencing kindling rates and litter size at birth in artificially inseminated doe rabbits. *World Rabbit Science* 7(4): 191-196.
- Rodríguez-De Lara, R., M. Fallas-López, R. Rangel-Santos, and V. Mariscal-Aguayo. 2003. Influence of short-term relocation and male exposure on sexual receptivity and reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Animal Reproduction Science* 78: 111-121.
- Rodríguez-De Lara, R., C. A. Herrera-Corredor, M. Fallas-López, R. Rangel-Santos, V. Mariscal-Aguayo, P. A. Martínez-Hernández, and J. G. García-Muñiz. 2007. Influence of supplemental dietary sprouted wheat on reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Animal Reproduction Science* 99: 145-155.
- Rodriguez-Martinez, H., and A. D. Barth. 2007. In vitro evaluation of sperm quality related to in vivo function and fertility. *Society for Reproduction and Fertility* 64: 39-54.
- Rohloff, D., and C. Laiblin. 1976. Deep-freezing of rabbit spermatozoa. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* 89: 181-183.
- Rommers, J. M., R. Meijerhof, J. P. T. Noordhuizen, M., and B. Kemp. 2004. The effect of level of feeding in early gestation on reproductive success in young rabbit does. *Animal Reproduction Science* 81: 151-158.
- Roy, F., M. C Maurel, Y. Combarous, J. P. Briois, T. Pobel, and F. Deletang. 1995. Etude de la réponse immunitaire observée chez les ovins et les

- caprins traités avec PMSG dans le cadre de l'insemination artificielle. *Rencontres Recherches Ruminants* 3: 395-398.
- Salomon, S., and W. M. C. Maxwell. 1995. Frozen storage of semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science* 37: 185-249.
- Santa, M. A., E. Gutiérrez, and M. J. López. 1999. Cooling effect of diluents additives and fertility of Angora rabbit semen. *Agrociencia* 5: 43-48.
- Sittman, D. B., W. C. Rollins, K. Sittman, and R. B. Casandy. 1964. Seasonal variation in reproductive traits of New Zeland White rabbit. *Journal of Reproduction and Fertility* 8: 29-37.
- Stranzinger, G. F., R. R. Maurer, and S. K. Paufler. 1971. Fertility of frozen rabbit semen. *Journal of Reproduction and Fertility* 24: 111-113.
- Szendro, Z., E. Biro-Nemeth, and I. Radnai. 1992. Investigation on the results of artificial insemination. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 545-552.
- Thomas, T. S., W. L. Wilson, A. B. Reynolds, and G. Oliphant. 1986. Chemical and physical characterization of rabbit sperm acrosome stabilizing factor. *Biology of Reproduction* 35: 691-703.
- Theau-Clément, M. 2008. Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'oestrus. *INRA Producción Animal* 3: 221-230.
- Ubilla, E., J. M. R. Alvariño, A. I. Esquifino, and C. Agrasal. 1992. Effects of induction of parturition by administration of a prostaglandin $F_{2\alpha}$ analogue in rabbits: possible modification of prolactin, LH and FSH secretion patterns. *Animal Reproduction Science* 27: 13-20.
- Ubilla, E., P. G. Rebollar, D. Pazo, A. I. Esquifino, and J. M. R. Alvariño. 2000a. Effects of doe-litter separation on endocrinological and productivity variables in lactating rabbits. *Animal Reproduction Science* 67: 67-74.
- Ubilla, E., P. G. Rebollar, D. Pazo, A. I. Esquifino, and J. M. R. Alvariño. 2000b. Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits. *Journal of Reproduction and Fertility* 118: 361-366.
- Uzcategui, M. E., and N. P. Johnston. 1992. The effect of 10, 12 and 14 hour continuous and intermittent photoperiods on the reproductive performance of female rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 553-559.
- Vicente, J. S., and M. P. Viudes-de-Castro. 1996. A sucrose-DMSO extender for freezing rabbit semen. *Reproduction Nutrition Development* 36: 485-492.
- Vicente, J. S., R. Lavara, F. Lavara, F. Marco-Jiménez, and M. P. Viudes-de-Castro. 2008. Rabbit reproductive performance after insemination with buserelin acetate extender. *Livestock Science* 115: 153-157.

- Viudes-de-Castro, M. P., and J. S. Vicente. 1997. Effect of sperm count on the fertility and prolificity rates of meat rabbits. *Animal Reproduction Science* 46: 313-319.
- Wales, R. G., and T. O'Shea. 1968. The deep freezing of rabbit spermatozoa. *Australian Journal of Biological Sciences* 21: 831-833.
- Wathes, D. C., M. Fenwick, Z. Cheng, N. Bourne, S. Llewellyn, D. G. Morris, D. Kenny, J. Murphy, and R. Fitzpatrick. 2007. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology* 68S: S232-S241.
- Watson, P. F. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reproduction Fertility and Development* 7: 871-891.
- Watson, P. F. 2000. The causes of reduced fertility with criopreserved semen. *Animal Reproduction Science* 60-61: 481-492.
- Zapletal, D., and A. Pavlik. 2008. The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. *Animal Reproduction Science* 104: 306-315.

3. CAMBIO DE JAULA Y EXPOSICIÓN A MACHOS EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE CONEJAS LACTANDO INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE

3.1 Resumen

El objetivo fue evaluar el efecto de cambios de jaula y exposición al macho durante cuatro horas en la tasa de receptividad sexual (TR), tasa de partos (TP) y tamaño de camada (TC) de conejas lactando en un programa de inseminación artificial. Conejas Nueva Zelanda Blanco de 75 días de edad ($n=48$) fueron asignadas completamente al azar a uno de cuatro tratamientos: (1) cambio de jaula y exposición a macho; (2) cambio de jaula sin macho; (3) sin cambio de jaula con macho; y (4) sin cambio de jaula sin macho o testigo. El peso promedio a la primera inseminación fue (3396 ± 160.1 g). Las conejas primíparas y múltiparas fueron inseminadas entre los 4 y 12 días después del parto durante un periodo reproductivo de ocho meses. De todos los registros reproductivos, 126 inseminaciones y 79 partos fueron de conejas lactando. Se encontró una tendencia ($p=0.09$) para TR a disminuir en conejas lactando cambiadas de lugar vs las no cambiadas (58.9 y 73.4%). Aunque no se encontraron diferencias ($p>0.05$), las conejas expuestas a machos presentaron mayor (71.1%) TR que aquellas conejas sin machos (61.2%). No se encontraron efectos ($p>0.05$) de cambio de lugar y exposición en la TP y TC. Sin embargo, las conejas expuestas a machos mejoraron la TP (+21.1%) y el TC (+8.6%; +0.7 gazapos) comparadas con conejas sin machos. La interacción cambio de jaula por exposición a macho en las características reproductivas no fue significativa ($p>0.05$). Sin embargo, conejas con cambio de jaula y expuestas a machos mostraron una tendencia ($p=0.18$) a presentar tasas de partos mayores (+23.3%) comparadas con las conejas del grupo testigo. Los cambios de jaula y la exposición a machos durante cuatro horas en conejas lactando no mejoraron el comportamiento reproductivo. Sin embargo, la tasa de partos y el tamaño de camada en conejas lactando fueron afectadas por la receptividad sexual.

Palabras clave: bioestímulos, sincronización de estros, reproducción, conejos.

CHANGE OF CAGE AND MALE EXPOSURE ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN ARTIFICIALLY INSEMINATED LACTATING DOE RABBITS

3.2 Abstract

The aim of the study was to evaluate the effect of change of cage and male exposure during a four-hour period on receptivity rate (RR), kindling rate (KR) and litter size (LS) at birth in lactating doe rabbits under an artificial insemination program. Seventy-five-day-old New Zealand White doe rabbits ($n=48$) were assigned randomly to one of four treatments: (1) change of cage and male exposure; (2) change of cage without male exposure; (3) no change of cage and male exposure and (4) no change of cage without male exposure or control. The average body weight of does at first insemination was 3396 ± 160.1 g. Primiparous and multiparous does were inseminated between 4 and 12 days after parturition schedule during the eight-month reproduction period. Of all breeding records, 126 inseminations and 79 kindlings were from nursing does. There was a tendency ($p=0.09$) for RR to decrease in relocated vs non-relocated does (58.9 and 73.4%). Although there was no significant ($p>0.05$) difference, does exposed to males tended to have a higher RR (71.1%) than does without males (61.2%). There was no effect of change of cage and male exposure on KR and LS. However, male exposure improved KR (+21.1%) and LS (+8.6%; +0.7 young) as compared with does without male exposure. The interaction change of cage x male exposure was not significant ($p>0.05$) for reproductive traits. However, the change of cage and male exposure of does tended ($p=0.18$) to present a higher kindling rate compared with the control group. The change of cage and male exposure during four hours in lactating does did not improve the reproductive performance. However, kindling rate and litter size at birth in lactating does were influenced by sexual receptivity.

Keywords: bioestimulation, estrus synchronization, reproduction, rabbits.

3.3 Introducción

La inseminación artificial (IA) es una herramienta útil en la cunicultura comercial ya que permite mejorar la producción y disminuir los costos de operación (Mocé *et al.*, 2003). En granjas comerciales de conejos para carne, las conejas son inseminadas dentro de los primeros 11 días después del parto. La receptividad sexual de las conejas lactando es baja lo que influye en la fertilidad y prolificidad en programas de IA (Rebollar *et al.*, 2006; Rebollar *et al.*, 2009). El comportamiento reproductivo de las conejas lactando, depende en gran medida del porcentaje de conejas receptivas y no receptivas al momento de la inseminación (Theau-Clément y Roustan, 1992; Rodríguez-De Lara y Fallas, 1999). Una alta proporción de conejas lactando receptivas al momento de la IA es importante para mejorar la eficiencia reproductiva de una granja cunícola.

El mejoramiento del crecimiento folicular y receptividad sexual en conejas lactando ha sido logrado al aplicar gonadotropina equina dos días antes del servicio (Theau-Clément *et al.*, 2008). Sin embargo, otros métodos alternativos al control hormonal como programas de iluminación intermitente y continua (Uzcategui y Johnston, 1992) y la separación temporal de la coneja de sus crías (Alvariño *et al.*, 1998; Castellini *et al.*, 1998) han sido utilizados exitosamente para sincronizar estros.

El cambio súbito de conejas a diferentes jaulas antes de la IA ha mostrado mejorar la reproducción en conejas lactando (Luzi y Crimella, 1998; Bonanno *et al.*, 1999; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2003). Pero la eficacia de este método aún debe ser confirmada, particularmente en la respuesta reproductiva a diferentes periodos de aplicación.

La exposición de hembras a machos sexualmente maduros permite inducir la actividad sexual y reducir el anestro estacional en ovejas y cabras (Rivas-Muñoz *et al.*, 2006; Véliz *et al.*, 2006; Ungerfeld *et al.*, 2008), cerdas (Rowlinson

y Bryant, 1974) y vacas (Signoret, 1980); y adelanta el momento de la ovulación relativa a la aparición del estro en ovejas (Hawken *et al.*, 2008). Sin embargo, poco se conoce del efecto de la exposición de machos en la tasa de receptividad sexual y reproducción en conejas lactando. Kustos *et al.* (2000) observaron que la tasa de partos y el tamaño de camada al parto en conejas lactando no fueron influenciados por la presencia de machos antes de la IA o al mantener diferentes distancias entre machos y hembras.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento reproductivo de conejas lactando cambiadas de jaula y expuestas a machos durante cuatro horas antes de la inseminación artificial.

3.4 Materiales y métodos

Localización

El experimento fue realizado en el Centro de Investigación Científica del Estado de México, A. C. El Centro está localizado en el Valle de México a una latitud de 19° 27' N y una longitud de 98° 53' O, a 2,240 msnm. La temperatura media anual es de 15 °C y la precipitación media anual de 645 mm. El experimento fue iniciado en octubre del 2008 y finalizado en junio del 2009.

Animales y diseño experimental

Conejas Nueva Zelanda Blanco de 75 días de edad fueron asignadas completamente al azar a uno de cuatro tratamientos: (1) cambio de jaula y exposición a machos; (2) cambio de jaula sin macho; (3) sin cambio de jaula con macho; y (4) sin cambio de jaula y sin macho o testigo. Los cambios fueron efectuados a las 9:00 AM y la inseminación artificial se realizó cuatro horas después del bioestímulo. Las conejas del T1 fueron trasladadas a jaulas diferentes dentro de la misma unidad y expuestas a machos maduros activos de frente pero separadas por las mallas de las jaulas, las hembras del T2 fueron cambiadas de jaula sin exposición a machos, al final del proceso las conejas se

regresaron a sus jaulas originales. En el T3 las conejas permanecieron en sus jaulas y fueron expuestas a machos de frente, separadas por las mallas de las jaulas, y en el T4 las conejas permanecieron en sus jaulas sin exposición a machos. Las conejas fueron inseminadas entre los 4 y 12 días después del parto durante un periodo reproductivo de ocho meses. El diseño experimental fue completamente al azar con 12 repeticiones por tratamiento, en donde la unidad experimental fue una coneja.

Instalaciones y ambiente

Las conejas fueron alojadas en una unidad con ventilación natural y provista de aislamiento térmico. Se mantuvieron individualmente en jaulas metálicas galvanizadas de 90 × 60 × 40 cm dispuestas en un sistema “flat-deck”. Las jaulas estaban provistas de bebederos automáticos de tetina y comederos de tolva tipo Inglés. Las conejas fueron mantenidas en un régimen lumínico constante de 16 h luz a lo largo del experimento.

Manejo alimenticio

Se utilizó un alimento comercial peletizado con un contenido nutricional de 17.4% de proteína cruda, 5.3% de grasa, 15.2% de fibra cruda, y 2600 kcal de energía digestible por kg. Las conejas jóvenes fueron alimentadas *ad libitum* antes de la primera inseminación y después se restringieron a 120 g día⁻¹ hasta el diagnóstico de gestación positivo. Las conejas gestantes y lactantes recibieron alimentación *ad libitum*. Las conejas repetidoras no confirmadas gestantes al destete fueron restringidas a 120 g día⁻¹. Las conejas que se cambiaban de lugar no recibieron alimento antes del servicio.

Manejo reproductivo e inseminación artificial

Se inseminaron en promedio ocho conejas por semana los lunes o los viernes dependiendo del intervalo del parto a la inseminación. El día de la IA se colectaron dos eyaculados de dos a seis machos, obtenidos con una vagina

artificial tipo Inglés y con la ayuda de una coneja, de acuerdo con la metodología descrita por Rodríguez-De Lara *et al.* (2003). Los eyaculados se mantuvieron en baño María a 31 °C, utilizándose dentro de una hora después de la colección. Las muestras con apariencia lechosa o cremosa y una motilidad por arriba de 75% se seleccionaron para diluirse en una solución buffer salina fosfatada (Dulbecco A, Oxoid Inc, UK), a la que se le adicionaron 1000 UI de penicilina mL⁻¹. La inseminación artificial fue heterospermática al mezclar semen de dos o más machos.

La tasa de dilución fue entre 1:4 ó 1:12, dependiendo del número de conejas a inseminar en un día. Las conejas se sujetaron individualmente en posición supina, introduciendo la pipeta tipo Inglés de pyrex a 6 cm de profundidad de la vagina, aplicando una dosis seminal con 10×10^6 de espermatozoides. La ovulación fue inducida con la aplicación intramuscular de 20 µg de una hormona análoga liberadora de gonadotropinas (GnRH; Fertagyl Intervet), después de la inseminación artificial.

Las conejas después de la inseminación fueron colocadas en una jaula circular con un macho vigoroso provisto de un mandil, para determinar la receptividad sexual. Las conejas que manifestaron lordosis después de tres intentos de monta fueron consideradas como receptivas. El diagnóstico de gestación fue realizado 10 a 14 días después del servicio y las conejas no gestantes fueron reinseminadas lo más pronto posible. Se utilizaron nidos de madera de 55 × 30 × 25 cm y fueron provistos cuatro días antes del parto. El destete se realizó a los 28 días después del parto.

Variables de respuesta

Se midió la receptividad sexual: considerada como la proporción de conejas que mostraron lordosis; la tasa de partos: proporción de hembras inseminadas que parieron, y el tamaño de camada: definida como el número de gazapos al nacimiento.

Análisis estadístico

Del total de 48 conejas que iniciaron el experimento, sólo 33 lo finalizaron. El número de conejas que completaron el estudio para cada uno de los tratamientos fueron T1=8, T2=7, T3=8 y T4=10. Las causas por las cuales las conejas no completaron el experimento fueron por muerte, eliminaciones técnicas y patológicas. La información de conejas muertas o desechadas fue excluida del análisis estadístico. La tasa de receptividad sexual y la tasa de partos fueron consideradas como variables de Bernoulli (variable 0-1). La tasa de receptividad sexual fue sometida a un análisis de varianza con el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + M_j + (C*M)_{ij} + b_1 (X_{ijk} - \bar{X}_{ijk}) + e_{ijkl}.$$

Donde: Y_{ijkl} es la variable respuesta; μ es la media general; C_i es el efecto fijo del i -ésimo cambio de jaula (i =con cambio, sin cambio); M_j es el efecto de la j -ésima exposición a macho (j =con macho, sin macho); $(C*M)_{ij}$ es el efecto fijo de la interacción de primer orden; X_{ijk} es el efecto del intervalo parto a inseminación como covariable; b_1 es el coeficiente de regresión lineal asociada a X_{ijk} ; y e_{ijkl} es el efecto residual $\sim NI(0, \sigma_e^2)$. La tasa de partos y el tamaño de camada al parto fueron evaluados de acuerdo con un modelo que incluyó los efectos fijos de cambio de jaula, exposición a macho y su interacción, y las covariables intervalo parto a inseminación y receptividad sexual. El orden de parto fue adicionado en el modelo como covariable para el tamaño de camada. Las covariables sin efectos significativos ($p > 0.05$) fueron eliminadas del modelo final. La tasa de receptividad, tasa de partos, y el tamaño de camada fueron comparadas mediante cuadrados medios utilizando el procedimiento de GLM SAS (SAS, 2004). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey.

3.5 Resultados y discusión

Se realizaron un total de 187 inseminaciones provenientes de 33 conejas que completaron el experimento. El peso promedio a la primera fue de 3396 ± 160 g y el número promedio de partos por coneja durante el período experimental fue de 3.4. La frecuencia del número de partos ordenados del 1 al 4 fue 36.7, 30.4, 26.6 y 6.3%, respectivamente.

De todas las inseminaciones, 37, 126 y 24 correspondieron a conejas nulíparas, lactando y no lactando, y el número de partos según el estado fisiológico fue 32, 79 y 15, respectivamente. La distribución del número de inseminaciones y partos por intervalo parto a inseminación se presenta en la Figura 2. Durante el período de lactancia, el 80.2% ($n=101$) de las inseminaciones fueron realizadas entre los días 4 y 12 después del parto, mientras que el 19.8% ($n=25$) se llevó a cabo entre los días 14 y 25; estas últimas correspondieron a conejas repetidoras.

Ajustando cada registro individual a un intervalo estándar parto a inseminación de 11 días no disminuyó la variabilidad de la tasa de receptividad, por lo que esta covariable fue eliminada del modelo final. Se encontró una tendencia ($p=0.09$) a disminuir la receptividad sexual en conejas lactando cambiadas de lugar comparativamente con las que no fueron cambiadas (58.9 y 73.4%). Aunque no se encontraron diferencias ($p>0.05$), las conejas expuestas a machos tendieron a presentar una tasa de receptividad sexual mayor (71.1%) que aquellas conejas sin machos (61.2%). La influencia del cambio de jaula en la receptividad sexual en relación con la exposición de machos se presenta en la Figura 3. No se encontró efecto ($p>0.05$) de la interacción cambio de jaula por exposición a macho para esta variable. El porcentaje de conejas receptivas al momento de la IA en conejas cambiadas de jaula con y sin machos fueron 63.6 y 54.2%, mientras que los valores para conejas sin cambio de jaula con presencia o ausencia de machos fueron 78.6 y 68.3%.

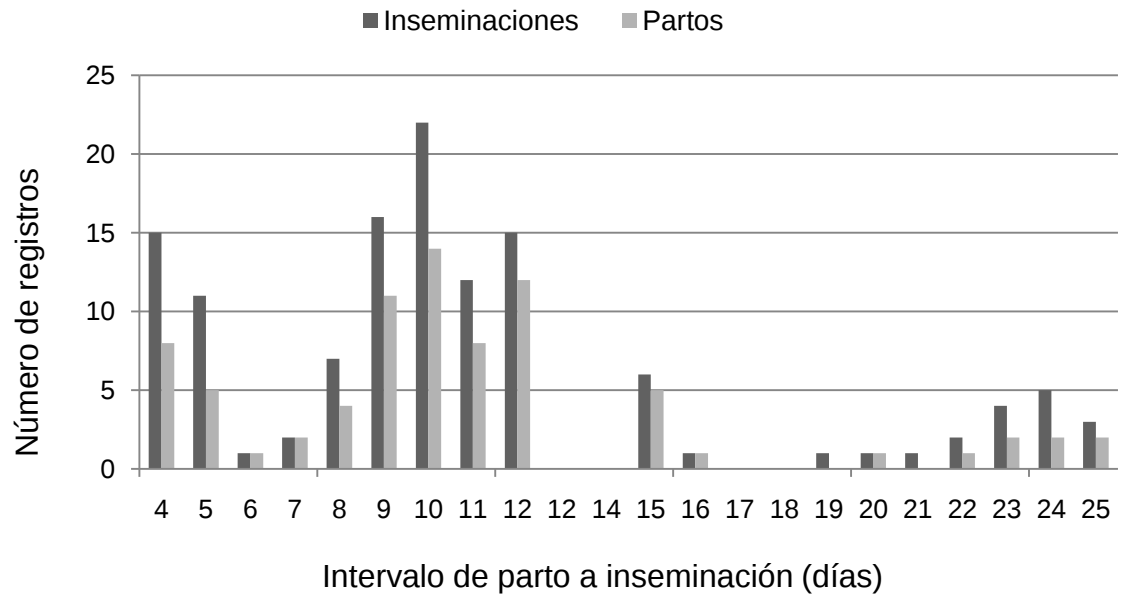


Figura 2. Distribución del número de inseminaciones y partos en relación con el intervalo del parto a la inseminación en conejas.

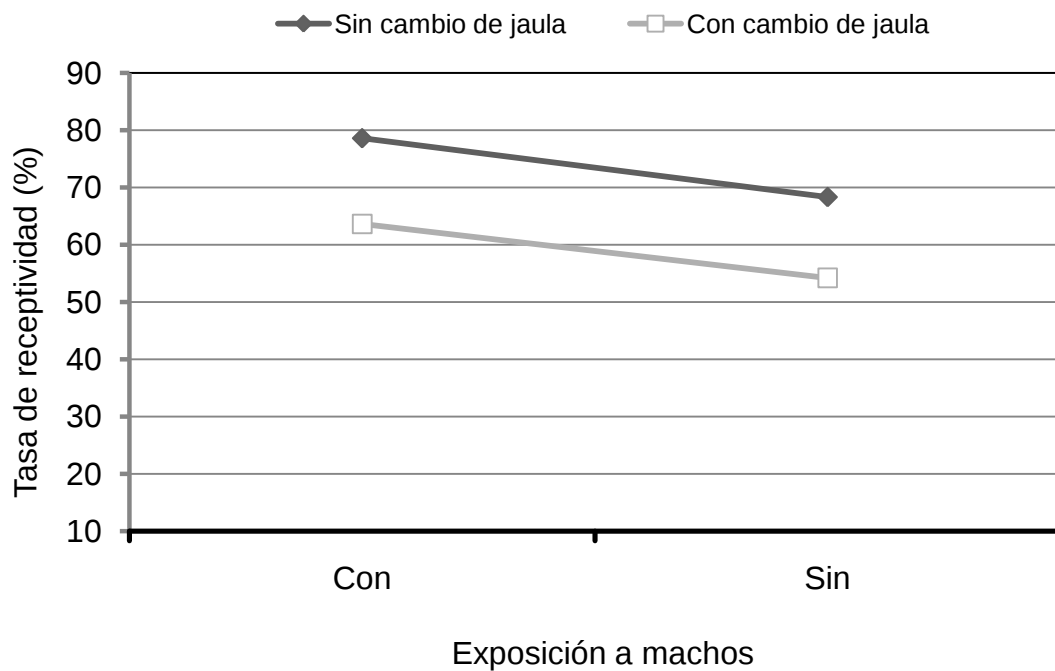


Figura 3. Efecto del cambio de jaula en la tasa de receptividad de conejas lactando en relación con la exposición al macho.

La covariable parto a inseminación no fue significativa ($p>0.05$) para la tasa de partos, por lo que fue eliminada del modelo final. Para esta variable, se observó

un efecto lineal $[(Y=0.29 + 0.51 (\pm 0.08) X; p<0.01)]$ de la receptividad sexual de las conejas al momento de la inseminación. La tasa de partos fue ajustada a una receptividad de 0.66. La covariable orden de parto para el tamaño de camada no influyó en los resultados, por lo que fue eliminada del modelo. Para el tamaño de camada al parto, la covariable receptividad sexual fue significativa $[(Y=7.08 + 1.60 (\pm 0.77) X; p<0.05)]$. Los datos para tamaño de camada fueron ajustados a 0.84.

La información en el Cuadro 1 presenta los efectos de cambio de jaula y exposición de machos en la tasa de partos y tamaño de camada en conejas lactando. No se encontraron efectos ($p>0.05$) de cambio de jaula y exposición a macho para estas características reproductivas. Sin embargo, conejas expuestas a machos mostraron mejoras en la tasa de partos (+21.1%) y en el tamaño de la camada (+8.6%) comparados con conejas que no fueron expuestas a machos, lo que puede representar beneficios económicos a nivel de granja.

Cuadro 1. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) para el efecto del cambio de jaula y exposición a macho en la tasa de partos y tamaño de camada en conejas lactando.

Factor	N	Tasa de partos (%) ^z	N	Tamaño de camada/parto ^y
Cambio de jaula				
Con	57	63.1	36	8.4 $\pm$ 0.43
Sin	69	62.3	43	8.5 $\pm$ 0.38
Exposición de machos				
Con	61	68.9	42	8.8 $\pm$ 0.38
Sin	65	56.9	37	8.1 $\pm$ 0.42

^{zy}Receptividad sexual utilizada como covariable.

No se encontró efecto ($p>0.05$) de la interacción cambio de jaula por exposición a macho en la tasa de parto y tamaño de camada (Cuadro 2). Sin embargo, conejas con cambio de jaula y expuestas a machos (T1) mostraron una

tendencia ($p=0.18$) a presentar tasas de partos mayores (+23.3 %) comparadas con las conejas del grupo testigo (T4). Las conejas cambiadas de jaula sin macho (T2) y las no cambiadas con macho (T3) mostraron mejoras del 17.2 y 18.1% con respecto al grupo testigo (T4), pero las diferencias no fueron significativas ($p>0.05$). Aunque, a nivel productivo estas diferencias son importantes.

En el tamaño de camada al parto conejas cambiadas de lugar y expuestas a machos (T1) parieron en promedio 11.3% más gazapos (+0.9) que las conejas cambiadas de jaula sin machos (T2). En el caso de conejas sin cambios de jaula y expuestas a machos (T3) los tamaños de camada mejoraron en un 7.3% (+0.6 gazapos/parto) comparadas con conejas sin cambio de jaula y sin macho (T4). Las hembras del tratamiento uno produjeron en promedio 8.5% más gazapos (+0.7) que el grupo testigo (T4). Las mejoras en el tamaño de camada en conejas lactando en el presente estudio pueden repercutir favorablemente en la rentabilidad de una granja cunícola.

Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos ($\pm$ error estándar) para la interacción del cambio de jaula y exposición al macho en la tasa de partos y tamaño de camada en conejas lactando.

Parámetro	Con cambio de jaula				Sin cambio de jaula			
	N	Con macho	N	Sin macho	N	Con macho	N	Sin macho
Tasa de parto (%)	23	68.2	33	64.8	28	65.3	40	55.3
Tamaño de camada	13	8.9 $\pm$ 0.5	22	8.0 $\pm$ 0.7	20	8.8 $\pm$ 0.6	22	8.2 $\pm$ 0.5

El comportamiento reproductivo más bajo se observó en las conejas del grupo testigo (T4). Estas conejas presentaron niveles de receptividad sexual de 68.3%, el cual está por arriba del 55% reportado como normal para conejas lactando sin algún tipo de bioestímulo (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2003). Algunos

estudios han mostrado que el porcentaje de conejas receptivas al momento de la IA es mayor que el de las no receptivas, además la fertilidad y prolificidad se mejoran en dicho programa (Theau-Clément y Roustan, 1992; Rodríguez-De Lara y Fallas, 1999; Ubilla *et al.*, 2000a; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2007).

Las conejas receptivas lactando en general presentan tasas de partos y tamaños de camadas mayores que las conejas no receptivas. La inclusión de la receptividad sexual como covariable para la tasa de partos y tamaño de camada explica la variación ($p < 0.05$) total asociada a estas variables.

En el presente estudio la tasa de partos en conejas receptivas y no receptivas fue de 79.8 y 28.6% ($p < 0.01$), y los tamaños de camada para estas mismas conejas fueron de 8.8 ± 2.5 y 7.1 ± 2.4 ($p < 0.01$). Las conejas receptivas presentan un mayor número de folículos grandes (Kernabon *et al.*, 1994) y concentraciones altas de estrógenos en plasma, comparadas con conejas no receptivas. Las causas de las respuestas más bajas en conejas lactando no receptivas, han sido atribuidas al efecto antagónico entre prolactina (PRL) y hormonas gonadotrópicas (Rebollar *et al.*, 1992; Fortun *et al.*, 1993; Ubilla *et al.*, 2000b; Muelas *et al.*, 2008; Rebollar *et al.*, 2008). En estas conejas, las bajas concentraciones de la hormona luteinizante, la hormona folículo estimulante (FSH) y de estrógenos provoca una disminución en la tasa ovulatoria y en el número de ovocitos fertilizados (Ubilla *et al.*, 2000b; Quintela *et al.*, 2004; Cano *et al.*, 2005). En el presente estudio la baja fertilidad de las conejas no receptivas en el grupo testigo fueron determinantes para que las tasas promedios de partos y los tamaños de camadas fueran los más bajos.

Las bajas tasas de receptividad sexual en conejas cambiadas de jaula comparadas con las conejas sin cambio no son claras y son contradictorias, sobre todo si se considera cierta mejoría en la tasa de partos y en el tamaño de camada en las conejas cambiadas de jaula. La respuesta positiva en fertilidad y prolificidad alcanzadas en estas últimas conejas, sugiere que suficientes

concentraciones de FSH y folículos preovulatorios estuvieron presentes; sin embargo, por razones desconocidas no todas las conejas manifestaron comportamiento de lordosis al momento de la prueba de receptividad sexual. Es posible que el cambio de jaula por cuatro horas pudiera haber actuado como una condición estresante, que de algún modo bloqueara a las conejas a presentar comportamiento de lordosis, por lo que los mecanismos involucrados en esta respuesta requieren ser investigados. En el presente estudio, el cambio de jaula con macho (T1) representó el tratamiento con la mejor respuesta reproductiva. Estos resultados son diferentes a los reportados por Rodríguez-De Lara *et al.* (2003), quienes encontraron que la aplicación de cambios de jaula y exposición a machos durante 8 a 10 horas disminuyeron el comportamiento reproductivo de las conejas lactando. Es posible que la aplicación de estos bioestímulos provoque efectos positivos o negativos en la reproducción dependiendo de su duración, lo que sugieren una nueva línea de investigación.

Las mejoras en el comportamiento reproductivo de conejas como respuesta a la separación de sus camadas han sido relacionadas a acciones estimuladoras y cambios endocrinos actuando en el ovario (Castellini *et al.*, 1998; Ubilla *et al.*, 2000b). En cerdas, la separación de los lechones de la madre por periodos de cuatro horas o más, desencadena una rápida disminución en las concentraciones plasmáticas de PRL, lo que incrementa las secreciones basales de LH (Van Landeghem y Van de Wiel, 1978). En vacas, la remoción del becerro ha sido asociada con patrones similares de PRL y LH (Wright *et al.*, 1981). Ubilla *et al.* (2000b) reportaron que la separación de las conejas lactando de sus crías antes de la IA reduce las concentraciones plasmáticas de PRL, promoviendo ondas de desarrollo folicular y un aumento en la esteriodogénesis, incrementando las concentraciones de estradiol y una mayor sensibilidad de la glándula pituitaria a la aplicación de GnRH exógena. De acuerdo con estos

estudios, la estimulación endocrina asociada con la ausencia de períodos de amamantamiento incrementa la secreción de LH.

En el presente estudio se encontraron ciertas ventajas en el comportamiento reproductivo cuando las conejas fueron expuestas a machos. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Rodríguez-De Lara *et al.* (2003), quienes encontraron que el tamaño de la camada al parto se incrementó ($p=0.02$) cuando las conejas lactando fueron expuestas al macho durante 8 a 10 h. Esto sugiere que cuatro horas de presencia de machos puede ser suficiente para desencadenar una respuesta hormonal reproductiva favorable. Las mejoras en la reproducción por la presencia de machos en el presente estudio, sugieren que estímulos visuales en los periodos cercanos a la IA, pudiera haber inducido una mayor sensibilidad de la glándula pituitaria al GnRH endógeno, mejorando el desarrollo folicular y el proceso ovulatorio.

En ovejas lactando, la frecuencia de pulsos de LH se incrementan significativamente a las cinco horas después de haber introducido el macho (Poidron *et al.*, 1980); sin embargo, otros estudios indican que el inicio de un pico preovulatorio ocurre alrededor de 20 h después de la introducción del macho (Lucidi *et al.*, 2001). Es posible que estímulos visuales y olfatorios (estimulación por feromonas) hayan actuado durante el contacto físico con el macho en el momento en que se determinó la receptividad sexual, esto pudiera haber actuado acumuladamente incrementando la intensidad estimuladora.

Estudios en diferentes especies han establecido la importancia de las feromonas y el impacto de los machos en las hembras durante la actividad reproductiva (Rowlinson y Bryant, 1974; Lindsay *et al.*, 1975; Signoret, 1980; Boehm *et al.*, 2005; Ungerfeld *et al.*, 2008). En ovejas, algunos estudios han mostrado que otros estímulos sensoriales como la vista, el sonido y el contacto son capaces de desencadenar secreciones hormonales por sí mismos, pero el contacto directo y una interacción sostenida con el macho siempre induce una

mejor respuesta que el contacto o estimulación visual por sí solos (Hawken *et al.*, 2009). Es posible que el mantenimiento de condiciones ambientales óptimas particularmente en instalaciones y nutrición, pudieran haber actuado sinérgicamente con la presencia de los machos para mejorar la receptividad y reproducción de las conejas lactando.

Las mejorías en el tamaño de la camada observadas en conejas expuestas a machos sugieren que la proximidad de machos y el contacto físico en los momentos próximos a la inseminación pudieran haber favorecido el transporte espermático. Docke y Worch (1963) observaron que la presencia del macho incrementa las contracciones uterinas de la cerda y favorece el transporte de los espermatozoides a lo largo de los cuernos uterinos cuando se utiliza IA.

3.6 Conclusiones

Los cambios de jaula y la presencia de macho por cuatro horas en conejas lactando no mejoraron el comportamiento reproductivo. Sin embargo, la tasa de partos y el tamaño de camada en conejas lactando fueron afectadas por la receptividad sexual.

3.7 Literatura citada

- Alvariño J. M. R., J. A. Del Arco, and A. Bueno. 1998. Effect of mother-litter separation on reproductive performance of lactating rabbit females inseminated on day 4 or 11 post partum. *World Rabbit Science* 6(1): 191-194.
- Boehm, U., Z. Zou, and B. Buck. 2005. Feedback loops link odor and pheromone signaling with reproduction. *Cell* 123: 683-695.
- Bonanno, A., M. Alabiso, A. Di Grioli, and M. L. Alicata. 1999. Effect of change of cage and/or 44 h mother-litter separation on productivity of non-receptive lactating rabbit does: preliminary investigations. *World Rabbit Science* 7(2): 107-111.
- Cano, P., V. Jiménez, M. P. Álvarez, M. Alvariño, D. P. Cardinali, and A. I. Esquifino. 2005. Effect of litter separation on 24-hour rhythmicity of plasma prolactin, follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels in lactating rabbit does. *Journal of Circadian Rhythms* 3(9): 1-5.

- Castellini, C., C. Canali, and C. Boiti. 1998. Effect of mother-litter separation for 24 hours, by closing the nestbox or change of cage, on rabbit doe reproduction performance. *World Rabbit Science* 6(1): 199-203.
- Docke, V. F., and H. Worch. 1963. Investigations into uterine motility and mating reactions of sows. *Zuchthygiene* 7: 169-178.
- Fortun, L., F. Prunier, and F. Lebas. 1993. Effects of lactation on fetal survival and development in rabbit does mated shortly after parturition. *Journal of Animal Science* 71: 1882-1886.
- Hawken, P. A. R., A. C. O. Evans, and A. P. Beard. 2008. Prior exposure of maiden ewes to rams enhances their behavioural interactions with rams but is not a pre-requisite to their endocrine response to the ram effect. *Animal Reproduction Science* 108: 13-21.
- Hawken, P. A. R., T. Esmaili, V. Scanlan, D. Blache, and G. B. Martin. 2009. Can audio-visual or stimuli from a prospective mate stimulate a reproductive neuroendocrine response in sheep? *International Journal of Animal Bioscience* 3: 690-696.
- Kernabon, A. Y., L. Belair, M. Theau-Clément, R. Salesse, and J. Djiane. 1994. Effect of anoestrus and bromocryptine treatment on the expression of prolactin and LH receptors in the rabbit ovary during lactation. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 131-138.
- Kustos, K., C. Eiben, Z. Szendro, M. Theau-Clément, S-Né. Gódor, and Z. Jovánczai. 2000. Effect on reproductive traits of male presence among rabbit does before artificial insemination. *In: 7th World Rabbit Congress*. 4-7 July. Valencia, Spain. pp: 161-166.
- Lindsay, D. R., Y. Cognié, J. Pelletier, and J. P. Signoret. 1975. Influence of the presence of rams on the timing of ovulation and discharge of LH in ewes. *Physiology & Behavior* 15: 423-426.
- Lucidi, P., B. Barboni, and M. Mattiali. 2001. Ram-induced ovulation to improve artificial insemination efficiency with frozen semen in sheep. *Theriogenology* 55: 1797-1808.
- Luzi, F., and C. Crimella. 1998. Effect of change of cage 2 days before artificial insemination on reproductive performance of rabbit does. *World Rabbit Science* 6(1): 195-198.
- Mocé, E., R. Lavara, and J. S. Vicente. 2003. Effect of an asynchrony between ovulation and insemination on the results obtained after insemination with fresh or frozen sperm in rabbits. *Animal Reproduction Science* 75: 107-118.
- Muelas, R., P. Cano, M. L. García, A. Esquifino, and M. J. Argente. 2008. Influence of FSH, LH and prolactin on the components of litter size in rabbit does. *In: 9th World Rabbit Congress*. Verona, Italy, June: 10-13.

- Poindron, P., Y. Cognié, F. Gayerie, P. Orgeur, C. M. Oldham, and J. P. Ravault. 1980. Changes in gonadotrophin and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiology & Behavior* 25: 227-236.
- Quintela, L., A. Peña, M. D. Vega, J. Gullón, M. C. Prieto, M. Barrio, J. J. Becerra, F. Maseda, and P. G. Herradón. 2004. Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. *Reproduction Nutrition Development* 44: 79-88.
- Rebollar, P. G., E. Ubilla, and J. M. Rodríguez. 1992. Influence of the parturition-insemination interval on the conception rate in rabbits artificially inseminated with fresh semen. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 407-411.
- Rebollar, P. G., A. Milanés, N. Pereda, P. Millán, P. Cano, A. Esquifino, M. Villarroel, G. Silván, and P. L. Lorenzo. 2006. Oestrus synchronisation of rabbit does at early post-partum by doe-litter separation or eCG injection: reproductive parameters and endocrine profiles. *Animal Reproduction Science* 93: 218-230.
- Rebollar, P. G., A. Bonanno, A. Di Grigoli, G. Tornambé, and P. L. Lorenzo. 2008. Endocrine and ovarian response after a 2-day controlled suckling and eCG treatment in lactating rabbit does. *Animal Reproduction Science* 104: 316-328.
- Rebollar, P. G., M. A. Pérez-Cabal, N. Pereda, P. L. Lorenzo, M. Arias-Álvarez, and P. García-Rebollar. 2009. Effects of parity order and reproductive management on the efficiency of rabbit productive systems. *Livestock Science* 121: 227-233.
- Rivas-Muñoz, R., G. Fitz-Rodríguez, P. Poindron, B. Malpoux, and J. A. Delgadillo. 2006. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. *Journal of Animal Science* 85: 1257-1263.
- Rodríguez-De Lara, R., and M. L. Fallas. 1999. Environmental and physiological factors influencing kindling rates and litter size at birth in artificially inseminated doe rabbits. *World Rabbit Science* 7(4): 191-196.
- Rodríguez-De Lara, R., M. Fallas-López, R. Rangel-Santos, and V. Mariscal-Aguayo. 2003. Influence of short-term relocation and male exposure on sexual receptivity and reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Animal Reproduction Science* 78: 111-121.
- Rodríguez-De Lara, R., C. A. Herrera-Corredor, M. Fallas-López, R. Rangel-Santos, V. Mariscal-Aguayo, P. A. Martínez-Hernández, and J. G. García-Muñiz. 2007. Influence of supplemental dietary sprouted wheat on reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Animal Reproduction Science* 99: 145-155.

- Rowlinson, R., and M. J. Bryant. 1974. Un système permettant de maîtriser l'anoestrus de lactation. Effet du mâle. *In: Proceedings of International Congress on Medical Veterinary of Lyons Communication.* p. 5.
- SAS. 2004. SAS/STAT User's Guide (Release 9.1). SAS Publishing. Cary, NC, USA. SAS. Inst. Inc.
- Signoret, J. P. 1980. Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction chez la femelle des mammifères. *Reproduction Nutrition Development* 20: 457-468.
- Theau-Clément, M., and A. Roustan. 1992. A study on relationships between receptivity and lactation in the doe, and their influence on reproductive performance. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 412-421.
- Theau-Clément, M., F. Lebas, C. Boitl, G. G. Brecchia, and P. Mercier. 2008. Influence of different eCG doses on sexual receptivity and productivity of rabbit does. *World Rabbit Science* 16: 65-72.
- Ubilla, E., P. G. Rebollar, D. Pazo, A. I. Esquifino, and J. M. R. Alvariño. 2000a. Effects of doe-litter separation on endocrinological and productivity variables in lactating rabbits. *Animal Reproduction Science* 67: 67-74.
- Ubilla, E., P. G. Rebollar, D. Pazo, A. I. Esquifino, and J. M. R. Alvariño. 2000b. Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits. *Journal of Reproduction and Fertility* 118: 361-366.
- Ungerfeld, R., M. A. Ramos, and S. P. González-Pensado. 2008. Ram effect: adult rams induce a greater reproductive response in anestrus ewes than yearling rams. *Animal Reproduction Science* 103: 271-277.
- Uzcategui, M. E., and N. P. Johnston. 1992. The effect of 10, 12 and 14 hour continuous and intermittent photoperiods on the reproductive performance of female rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research* 15: 553-559.
- Van Landeghem, A. A. J., and D. F. M. Van de Wiel. 1978. Radioimmunoassay for porcine prolactin plasma levels during lactation, suckling and weaning and after TRH administration. *Acta Endocrinologica* 88: 653-667.
- Véliz, F. G., P. Poindron, B. Malpoux, and J. A. Delgadillo. 2006. Maintaining contact with bucks does not induce refractoriness to the male effect in seasonally anestrous female goats. *Animal Reproduction Science* 92: 300-309.
- Wright, P. J., G. Jenkin, and R. B. Heap. 1981. Prolactin and LH release in response to LH-RH and TRH in ewes during dioestrus, pregnancy and post partum. *Journal of Reproduction and Fertility* 62: 447-453.